



TESIS DOCTORAL

M^a Julia Bellver Soto

2013



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

[Q*] Facultat de Farmàcia

EVALUACIÓN DEL RIESGO DE EXPOSICIÓN A OCRATOXINA A



Doctorado en Ciencias de la Alimentación

Tesis doctoral

Presentada por:

M^a Julia Bellver Soto

Burjassot, 2013



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA [Q*] Facultat de Farmàcia



VNIVERSITATĪ DE VALÈNCIA

Facultat de Farmàcia

Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de
l' Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal

Doctorado en Ciencias de la Alimentación

**EVALUACIÓN DEL RIESGO DE EXPOSICIÓN A
OCRATOXINA A**

Tesis doctoral

Presentada por:

M^a Julia Bellver Soto

Dirigida por:

Dra. M^aJose Ruiz Leal

Dra. Mónica Fernández Franzón



La Dra. *M^a José Ruiz Leal* y la Dra. *Mónica Fernández Franzón*, Profesoras Titulares de Toxicología, del Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de l' Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal de la Universitat de València.

INFORMAN QUE:

La licenciada en Farmacia por la Universitat de València *D^a M^a Julia Bellver Soto* ha realizado bajo la nuestra dirección y tutela el trabajo de investigación: "***Evaluación del riesgo de exposición a ocratoxina A***" durante los años académicos de 2010 a 2013.

Y autorizamos a la presentación para optar al Título de Doctora.

Burjassot, 7 de mayo de 2013

Dra. M^a José Ruiz Leal

Dra. Mónica Fernández Franzón

Quisiera agradecer a la Dra M^a José Ruiz y la Dra. Mónica Fernández, Profesoras Titulares del Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de l' Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal de la Universitat de València, el tiempo que me han dedicado, sus consejos y el aporte de su conocimientos en todo mi trabajo.

Agradecer a la Dra. Guillermina Font, Catedrática de Toxicología, su apoyo y su disponibilidad en todo momento. Porque ha conseguido que lo difícil fuese fácil y porque ha sido el motor sin el cual no habría llevado a término este proyecto.

Agradecer a toda mi familia, en especial a mi madre, el ejemplo que ha sido para mí durante toda mi vida.

Y por último, agradecer a Fernando su apoyo incondicional, su infinita paciencia, y que siempre ha estado a mi lado.

Gracias a todos.

ÍNDICE

ÍNDICE

	<i>Página</i>
1. Introducción	1
1.1. Preámbulo	3
1.2. Tipos de micotoxinas	8
1.3. Especies productoras de micotoxinas	8
1.4. Condiciones que favorecen la presencia de hongos toxigénicos y la producción de micotoxinas	10
1.5. Principales micotoxinas presentes en alimentos	12
1.5.1. Aflatoxinas	12
1.5.2. Ocratoxinas	15
1.5.3. Micotoxinas Fusarium	16
1.5.3.1. Zearolenona	16
1.5.3.2. Tricotecenos	17
1.5.3.3. Fumonisinias	19
1.5.3.4. Patulina	20
1.6. Toxicidad	21
1.7. Factores que influyen en el establecimiento de la normativa de micotoxinas	24
1.7.1. Evaluación del riesgo	25
1.7.2. Disponibilidad de datos de distribución de las mico- toxinas en los alimentos y métodos de muestreo	33

	<i>Página</i>
1.7.3. Análisis de micotoxinas	39
1.7.3.1. Análisis de muestras	39
1.7.3.2. Técnicas de exploración o screening	51
1.7.3.2.1. Inmunoensayos	52
1.7.3.2.2. Biosensores	53
1.8. Legislación actual	57
1.8.1. Legislación relativa a los niveles máximos de micotoxinas en productos alimenticios	57
1.8.1.1. Niveles de aflatoxinas en alimentación humana	58
1.8.1.2. Niveles de ocratoxinas en alimentación humana	62
1.8.1.3. Niveles de patulina en alimentación humana	63
1.8.1.4. Niveles de toxinas Fusarium en alimentación humana	64
1.8.2. Legislación sobre condiciones específicas para importación	67
1.9. Estrategias para la prevención y control de micotoxinas	68
1.9.1. Control pre-cosecha	68
1.9.2. Control durante la cosecha	69
1.9.3. Control post-cosecha y descontaminación	69
1.9.3.1. Descontaminación física	70
1.9.3.2. Descontaminación biológica	72

	<i>Página</i>
1.9.3.3. Descontaminación química	73
1.10. Alertas relacionadas con micotoxinas	73
2. Objetivos	77
3. Resultados y discusión	81
3.1. Presencia de OTA en alimentos	83
3.1.1. Presencia de OTA en cereales y derivados	84
3.1.1.1. Presencia de OTA en arroz	86
3.1.1.2. Presencia de OTA en otros cereales diferentes al arroz y productos derivados	94
3.1.1.3. Presencia de OTA en cereales para el desayuno y alimentos infantiles a base de cereales	100
3.1.1.4. Presencia de OTA en pan	107
3.1.2. Presencia de OTA en bebidas alcohólicas	113
3.1.2.1. Presencia de OTA en cerveza	113
3.1.2.2. Presencia de OTA en Vino	119
3.1.3. Presencia de OTA en condimentos y especias	134
3.1.4. Presencia de OTA en plantas medicinales y aromáticas	142
3.1.5. Presencia de OTA en café	143
3.1.6. Presencia de OTA en cacao y chocolate	152
3.1.7. Presencia de OTA en frutos secos y frutas desecadas	160

	<i>Página</i>
3.1.7.1. Presencia de OTA en higos desecados	160
3.1.7.2. Presencia de OTA en uvas pasas	164
3.1.7.3. Presencia de OTA en pistachos	168
3.1.7.4. Presencia de OTA en otros frutos secos y frutas desecadas	169
3.1.8. Presencia de OTA en uva y zumo de uva	173
3.1.8.1. Presencia de OTA en uvas	173
3.1.8.2. Presencia de OTA en zumo de uva	175
3.1.9. Presencia de OTA en otros alimentos	177
3.1.9.1. Presencia de OTA en salsa de soja	177
3.1.9.2. Presencia de OTA en horchata	177
3.1.9.3. Presencia de OTA en el regaliz y sus derivados	178
3.1.9.4. Presencia de OTA en aceitunas	182
3.1.9.5. Presencia de OTA en aceite de oliva	183
3.1.10. Presencia de OTA en productos alimentarios de origen animal	186
3.1.10.1. Presencia de OTA en leche vaca	186
3.1.10.2. Presencia de OTA en quesos	189
3.1.10.3. Presencia de OTA en huevos	190
3.1.10.4. Presencia de OTA en derivados cárnicos	190

	<i>Página</i>
3.2. Presencia de OTA en piensos	194
3.2.1. Presencia de OTA en pienso para aves	195
3.2.2. Presencia de OTA en pienso para cerdos	197
3.2.3. Presencia de OTA en pienso para ganado vacuno	199
3.2.4. Presencia de OTA en otros estudios de piensos para animales	200
3.3. Contenido de OTA en muestras biológicas de seres humanos	201
3.3.1. Contenido de OTA en muestras de orina	201
3.3.2. Contenido de OTA en muestras de sangre	204
3.3.3. Contenido de OTA en leche materna	213
3.4. Estimación de la ingesta diaria de OTA en la población española	214
4. Conclusiones	219
5. Bibliografía	223

ÍNDICE DE TABLAS

	<i>Página</i>
Tabla 1. Principales micotoxinas, especies productoras y alimentos contaminados	9
Tabla 2. Condiciones favorables de producción de micotoxinas	12
Tabla 3. Estructuras de las ocratoxinas	15
Tabla 4. Estructuras de algunos tricotecenos	18
Tabla 5. Efectos tóxicos producidos por las micotoxinas	22
Tabla 6. Clasificación de las micotoxinas según la IARC (2010)	24
Tabla 7. Subdivisión de los lotes en sublotos en función del producto y del peso del lote (Reglamento 401/2006)	35
Tabla 8. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote de cereales (lotes < 50T) (Reglamento 401/2006)	36
Tabla 9. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote en frutos secos, café tostado en grano, molido, soluble, raíz de regaliz y extracto de regaliz (lotes < 15 T) (Reglamento 401/2006)	37
Tabla 10. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote en higos secos (lotes < 15 T) (Reglamento 401/2006)	37
Tabla 11. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote en cacahuetes, semilla oleaginosas, huesos de albaricoque y frutos de cáscara arbóreos (lotes < 15 T) (Reglamento 401/2006)	38

	<i>Página</i>
Tabla 12. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso de lote en especias (lotes < 15 T) (Reglamento 401/2006)	38
Tabla 13. Contenidos máximos de aflatoxinas en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	59
Tabla 14. Contenidos máximos de OTA en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	63
Tabla 15. Contenidos máximos de patulina en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	64
Tabla 16. Contenidos máximos de DON en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	65
Tabla 17. Contenidos máximos de ZEA en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	66
Tabla 18. Contenidos máximos de Fumonisinias en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	67
Tabla 19. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en arroz	87
Tabla 20. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en arroz orgánico y convencional	91
Tabla 21. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de arroz	93
Tabla 22. Incidencia (%) de OTA en cereales distintos del arroz	95

	<i>Página</i>
Tabla 23. Niveles medios y máximos de concentración de OTA (ng/g) en cereales distintos al arroz	97
Tabla 24. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cereales distintos al arroz	100
Tabla 25. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en cereales para desayuno y alimentación infantil a base de cereales	101
Tabla 26. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cereales para desayuno y alimentos infantiles a base de cereales	106
Tabla 27. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en pan	108
Tabla 28. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de pan	112
Tabla 29. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/ml) en cerveza	115
Tabla 30. Estimación de ingesta de OTA por consumo de cerveza	118
Tabla 31. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/ml) en vinos españoles	122
Tabla 32. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de vinos españoles	126
Tabla 33. Incidencia (Inc. %), concentración media y máxima de OTA (ng/ml) en vinos italianos	129
Tabla 34. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de vinos italianos	130

	<i>Página</i>
Tabla 35. Incidencia (Inc. %), concentración media y rango de OTA (ng/ml) en vinos de otros países	131
Tabla 36. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) de OTA en especias	136
Tabla 37. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de condimentos y especias	142
Tabla 38. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) de OTA en café verde	146
Tabla 39. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA en café procesado	149
Tabla 40. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de café	151
Tabla 41. Incidencia (%), concentración media y máxima de OTA (ng/g) en granos de cacao	154
Tabla 42. Incidencia (%), rango y concentración media de OTA (ng/g) de OTA en cacao y derivados	158
Tabla 43. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cacao y derivados	160
Tabla 44. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en higos desecados	162
Tabla 45. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en uvas pasas	165
Tabla 46. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en pistachos	168

	<i>Página</i>
Tabla 47. Valores máximos de OTA (ng/g) detectados en frutos secos y frutas desecadas	171
Tabla 48. Estimación de ingesta de OTA por consumo de frutos secos y frutas desecadas	172
Tabla 49. Incidencia (%), rango y concentración media de OTA (ng/g) en uvas	174
Tabla 50. Estimación de ingesta de OTA por consumo de uva	175
Tabla 51. Incidencia (%), rango y concentración media de OTA (ng/g) en zumo de uva	176
Tabla 52. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de zumo de uva	176
Tabla 53. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de horchata	178
Tabla 54. Evaluación de la ingesta de OTA por consumo de regaliz	181
Tabla 55. Evaluación de la ingesta de OTA por consumo de regaliz productos a base de regaliz	182
Tabla 56. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de aceitunas	183
Tabla 57. Evaluación de ingesta de OTA por consumo de aceite	185
Tabla 58. Valores más altos de OTA (ng/g) encontrados en distintos alimentos	185

	<i>Página</i>
Tabla 59. Incidencia (%), media y rango (ng/ml) de OTA en leche de vaca	187
Tabla 60. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de derivados cárnicos	194
Tabla 61. Incidencia (%), valor medio y máximo de OTA ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) en piensos para aves	197
Tabla 62. Incidencia (%), valor medio y máximo de OTA ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) en piensos para cerdos	198
Tabla 63. Incidencia (%), concentración media, valor máximo de OTA (ng/ml) y LOD (ng/ml) en muestras de sangre	205
Tabla 64. Ingesta de OTA a partir de datos de ocratoxina en sangre	212
Tabla 65. Incidencia (%), concentración media y rango de OTA (ng/ml) en leche materna	214
Tabla 66. Estimación de la IDE de OTA por consumo de diferente alimentos	216

ÍNDICE DE FIGURAS:

	<i>Página</i>
Figura 1. Estructuras de las principales aflatoxinas	13
Figura 2. Estructura de la aflatoxina AFB ₁ y de su epóxido	14
Figura 3. Estructura de zearalenona y sus metabolitos	17
Figura 4. Estructura de la Fumonisina B1 (FB1)	19
Figura 5. Estructura de la patulina	21
Figura 6. Número de notificaciones por OTA en el periodo 2002-2010	74
Figura 7. Porcentaje de notificaciones de OTA por producto año 2010	75
Figura 8. Producción de cereales Toneladas/año en: a) España, b) Marruecos, c) Tunez	85
Figura 9. Número total de muestras analizadas según origen/número de muestras positivas OTA en arroz	88
Figura 10. Grafico de la presencia OTA (incidencia: %) en vinos españoles	125
Figura 11. Incidencia de OTA en frutos secos	170
Figura 12. Incidencia (%) de OTA en orina	202
Figura 13. Porcentajes de contribución de cada grupo de alimentos a la exposición global de OTA	218

1. INTRODUCCIÓN

1.1. PREÁMBULO

Las micotoxinas son metabolitos secundarios, tóxicos, producidos por algunas especies fúngicas en determinadas condiciones, las cuales pueden contaminar alimentos y cultivos a través de la cadena alimentaria (Prandini *et al.*, 2009).

El termino micotoxinas es la combinación de la palabra griega “mykes”: hongo y la palabra latina “toxicum”: veneno. Se trata, en general, de moléculas relativamente pequeñas (PM < 700 Da) con estructura química y actividad biológica muy diversa, capaces de desencadenar diversas alteraciones y cuadros patológicos en el hombre y en los animales, denominadas *micotoxicosis* (Turner *et al.*, 2009).

El conocimiento de la existencia de enfermedades, en el hombre y en los animales, asociadas al crecimiento de hongos en los alimentos, data de siglos atrás. Tal es el caso del “*ergotismo*” enfermedad relacionada con el consumo de alimentos contaminados con el cornezuelo del centeno, llamado por los asirios “*pústula nociva en la espiga del centeno*” que hacía que la embarazada abortara y muriera en el lecho del parto. Este hongo, productor de alcaloides vasoconstrictores y alucinógenos, ya era utilizado hace 3000 años en la época del imperio chino en obstetricia (Soriano *et al.*, 2007).

En la Edad Media aparecieron por primera vez descripciones del envenenamiento por el cornezuelo. En el año 943 en diferentes regiones de Europa se registraron epidemias por este hongo. La enfermedad se manifestaba de formas diferentes, en unos casos afectaba a las vísceras abdominales, originando un cuadro muy doloroso, pero de muy corta duración, que conducía a los enfermos a una muerte casi súbita y en otros, más frecuente, el proceso comprometía a los miembros debido a la gangrena desarrollada en pies, piernas, manos y brazos. La inmensa mayoría sobrevivía, pero queda-

ban mutilados y deformados, por la pérdida incluso de los cuatro miembros (Laval, 2004). Un cronista del siglo X describió con estas palabras la enfermedad:

“Había en la calle hombres que se desplomaban, entre alaridos y contorsiones; otros caían y echaban espuma por la boca, afectados por crisis epilépticas, y algunos vomitaban y daban signos de locura. Muchos gritaban: “¡Fuego! ¡Me abraso!”. Se trataba de un fuego invisible que desprendía la carne de los huesos y la consumía. Hombres, mujeres y niños agonizaban con dolores insoportables.”

La enfermedad se denominó “*Fuego Sagrado o Fuego de San Antonio*”, debido a la sensación abrasadora experimentada por las víctimas, muchas de las cuales visitaban la abadía de San Antonio al sureste de Francia con la esperanza de curarse (FAO, 2003). Es probable que el alivio encontrado al viajar al santuario fuera real, pues los peregrinos no consumían centeno contaminado durante el viaje.

Pero, no fue hasta el siglo XVI, cuando se estableció la relación causal entre el consumo de centeno contaminado por el hongo *Claviceps purpurea* o *cornezuelo de centeno* y esta micotoxicosis (Laval, 2004).

Se ha sugerido que la intensa reducción demográfica experimentada en Europa occidental en el siglo XIII se debió a la sustitución del trigo por centeno y al consumo de este cereal contaminado con cornezuelo. La frecuencia de ergotismo fue disminuyendo con el progreso de la agricultura y la diversificación de la alimentación. No obstante, se han ido produciendo episodios de ergotismo en las poblaciones humanas del norte y este de Europa hasta el siglo XIX y de la antigua Unión Soviética en 1926. El brote más reciente de ergotismo gangrenoso fue en Etiopía en el año 1978 (Bryden, 2007).

El ergotismo también se ha asociado con las brujas de Salem en Massa-

chusetts en 1692. A lo largo de los últimos años se ha intentado explicar las causas que originaron los sucesos acaecidos en Salem y se han propuesto distintas hipótesis, entre ellas la ingestión de cornezuelo de centeno. La mayoría de los síntomas que se describen en estos episodios podrían asimilarse, pero menos marcados, a los que se experimenta tras el consumo de LSD, derivado sintético del ácido lisérgico, uno de los alcaloides del cornezuelo de centeno, lo que sí está claro es que se produjo un consumo de pan centeno (Bennet & Klich, 2003).

En 1940 el distrito de Orenburg (URSS) se vio afectado por una epidemia de aleucia (leucopenia) tóxica alimentaria (ATA), enfermedad que producía fiebre, vómitos, inflamación aguda del aparato digestivo, anemia, insuficiencia circulatoria y convulsiones, debido al consumo de mijo contaminado con tricotecenos. Se produjeron numerosas muertes, llegando hasta el 60% de la población en algunas comarcas. Se identificó como responsable la toxina T-2 (tricotecenos) producida por el hongo del género *Fusarium* (Zinedine & Mañes, 2009).

No obstante, el término micotoxina no se estableció hasta 1960, cuando se produjo una enfermedad en los pavos en Inglaterra, que llevó a la muerte a 100.000 aves, denominada la enfermedad X: "*Turkey X disease*". Al poco tiempo hubo brotes similares que afectaron a otras aves de corral. El origen de la enfermedad se encontró en el consumo de tortas prensadas de cacahuetes, mezcladas en el alimento, contaminadas por *Aspergillus Flavus* (Sherif *et al.*, 2009).

A partir de 1961, con el aislamiento de las aflatoxinas producidas por el *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, se evidenció la importancia de los hongos saprofitos en el desarrollo de procesos patológicos en animales y la posible conexión con la patología humana.

La ocratoxina A (OTA) fue por primera vez estudiada en la República de Sudáfrica como metabolito secundario producido por una variedad de *Aspergillus ochraceus* (Van der Merwe *et al.*, 1965). Ha sido asociada con la nefropatía endémica de los Balcanes y el desarrollo de tumores en el tracto urinario (Zinedine, 2010b).

Las micotoxicosis son un problema crónico causado fundamentalmente por la contaminación de cultivos, principalmente cereales, por hongos tóxicos. La Organización Mundial de la Alimentación y Agricultura (FAO) ha estimado que más de un 25% de los cultivos del mundo están significativamente contaminados por micotoxinas (FAO, 1996). Las micotoxinas suponen pérdidas económicas asociadas con el impacto en la salud humana, la productividad animal y el comercio (FAO, 2003).

Expertos en la evaluación del riesgo de contaminantes consideraran que las micotoxinas son uno de los más importantes factores de riesgo alimentario crónico, por encima de los contaminantes sintéticos, plantas tóxicas, aditivos alimentarios o residuos de plaguicidas (Prieto-Simón *et al.*, 2007).

Por ello, existe una amplia literatura y son numerosas las monografías que se han publicado relativas a las micotoxinas. Hay cientos de artículos de revisión y miles de trabajos en la literatura primaria. Todo ello evidencia la preocupación y el interés que despiertan las micotoxinas.

Las revisiones publicadas en los últimos años recogen, en gran medida, la toxicidad de las micotoxinas, las manifestaciones clínicas en diferentes especies animales; compendios de diferentes toxinas que se encuentran en distintos productos alimenticios, comparaciones de protocolos y técnicas de análisis, y comparativas de normas internacionales que regulan los niveles de micotoxinas.

Un gran número de las revisiones efectuadas en los últimos años se centran en técnicas de detección de la micotoxinas, en la contaminación de los alimentos así como en el control y la prevención de estos contaminantes.

El análisis de las micotoxinas en los alimentos sigue representando un reto. En los últimos años, la aplicación de normas más restrictivas en materia de contaminantes en la UE, ha hecho necesario el desarrollo de métodos con mayor capacidad de detección y validados por organizaciones internacionales. Existen muchos métodos de análisis de micotoxinas; entre ellos, los cromatográficos, que son especialmente útiles para multi-determinaciones y con fines de confirmación de micotoxinas, pero que en general requieren de mucho más tiempo, son más caros y precisan de personal formado. Este hecho ha potenciado el desarrollo y comercialización de otros métodos de análisis rápidos, como los biosensores, basados en los principios inmunológicos, que permiten su uso para fines de control y en aquellas situaciones en las se requiere decisiones rápidas. Por tanto, a la hora de seleccionar el método para el análisis de micotoxinas, es necesario considerar el propósito para el cual se necesitan los resultados, la matriz que se va analizar, el límite de detección requerido, la experiencia y la infraestructura personal disponible (Shephard, 2008).

No obstante, debido a las graves implicaciones humanas que conlleva la detección de las micotoxinas en la cadena alimentaria, son numerosos los autores que coinciden en señalar que la principal estrategia para evitar la presencia de las micotoxinas en los alimentos es la prevención (Amezqueta *et al.*, 2009). Por ello, es necesario implantar un sistema integrado basado en el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) y establecer una gestión basada en buenas prácticas agrícolas (BPAs), buenas prácticas de procesado o manufacturación (BPM) y en el control de todas las fases de

producción desde el campo hasta el consumidor final, con el uso de fungicidas, descontaminación y la utilización de especies resistentes (Murphy *et al.*, 2006; Wagacha & Muthomi, 2008).

1.2. TIPOS DE MICOTOXINAS

El número de micotoxinas conocido, que producen un efecto tóxico en la salud de humanos y animales, está en constante crecimiento, de modo que, la legislación debe prever el control de su presencia en alimentos y piensos (Zinedine *et al.*, 2006). Actualmente han sido identificadas en el mundo más de 400 micotoxinas.

Debido a este creciente número de micotoxinas, la gran variedad de estructuras, orígenes biosintéticos, efectos tóxicos y fuentes, son difíciles de clasificar. Se pueden diferenciar en función de su estructura: cumarinas, lactonas, aminopolihidroxiladas, sesquiterpénicas, etc.; en función de su origen biosintético: derivados de aminoácidos, polipéptidos, etc.; según los efectos tóxicos que causan: hepatotóxicas, nefrotóxicas, neurotóxicas etc., y según los hongos que las producen.

Los grupos de micotoxinas que más frecuentemente encontramos en los alimentos son: aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos (deoxinivalenol, nivale-nol), zearalenona, fumonisinas (Kumar *et al.*, 2008), probablemente porque son las más analizadas.

1.3. ESPECIES PRODUCTORAS DE MICOTOXINAS

La mayoría de micotoxinas de importancia agrícola son producidas por tres géneros de hongos: *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicilium*. En la Tabla 1 se recogen las más importantes toxinas de cada grupo, los hongos productores y los principales productos contaminados (Shephard, 2008).

Tabla 1. Principales micotoxinas, especies productoras y alimentos contaminados

Micotoxinas	Hongos productores	Alimentos
Aflatoxinas B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	<i>Aspergillus Flavus</i> , <i>Aspergillus parasiticus</i>	Maíz, arroz, frutos secos
Aflatoxinas M ₁	Metabolito de aflatoxinas, B ₁ en mamíferos	Leche, productos lácteos
Ocratoxina A	<i>Aspergillus ochraceus</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus carbonarius</i>	Cereales, pasas, vino y café
Deoxinivalenol	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium culmorum</i>	Cereales Productos a base cereales
Toxina T-2	<i>Fusarium sporotrichioides</i> , <i>Fusarium poae</i>	Cereales Productos a base cereales
Zearalenona	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i>	Cereales Productos a base cereales
Fumonisinias B ₁ , B ₂ , B ₃	<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>Fusarium proliferatum</i>	Maíz, productos del maíz, sorgo
Patulina	<i>Penicillium expansum</i>	Manzana, zumo de manzana

Es necesario tener en cuenta que una misma micotoxina puede ser producida por hongos diferentes, como en el caso de las aflatoxinas que pueden ser producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticum* y en el caso de OTA por *Aspergillus* y *Penicillium*.

Por otro lado, una misma especie de hongo puede producir más de una micotoxina, como *Fusarium graminearum* que puede producir zearalenona y deoxinivalenol.

Además hay que considerar que en un mismo sustrato suelen encontrarse una población heterogénea de microorganismos que interactúan afectando a su desarrollo y también pudiendo producir efecto en la síntesis de micotoxinas.

1.4. CONDICIONES QUE FAVORECEN LA PRESENCIA DE HONGOS TOXIGÉNICOS Y LA PRODUCCIÓN DE MICOTOXINAS

Los factores que influyen en la selección de la flora fúngica contaminante de alimentos se pueden agrupar en:

- Factores intrínsecos relacionados con el alimento, tales como: actividad del agua, pH e integridad del alimento.
- Factores extrínsecos o propios del medio ambiente donde se conserva el alimento: humedad ambiental y luz.
- Factores relacionados con tratamientos tecnológicos a los que se ha sometido el producto.
- Factores implícitos: las relaciones de competencia y dependencia entre diferentes microorganismos presentes en alimentos.

Atendiendo a estos factores se establecen tres tipos de flora fúngica: de campo, intermedia y de almacenamiento (Soriano *et al.*, 2007).

- La *flora de campo* actúa en condiciones aerobias sobre plantas vivas (fitopatógenos) y la constituyen especies del género *Fusarium*, *Cladosporium* y *Alternaria*. Estos hongos requieren para desarrollarse contenidos de humedad (20-22%).
- La *flora intermedia* actúa en condiciones aeróbicas sobre producto recién recolectado y húmedo y está constituida por algunas especies de *Fusarium*.

- La *flora de almacenamiento*, anaerobia facultativa, actúa sobre material fisiológicamente inactivo y la integran especies de *Penicillium* y *Aspergillus*.

Existe otra clasificación para hongos en la que se distinguen dos tipos de flora: “de campo y de almacén”. La primera consiste en hongos que invaden su sustrato y producen micotoxinas durante el crecimiento de las plantas, antes de la cosecha, se trata de toxinas de la categoría de campo. Las aflatoxinas y las toxinas de *Fusarium* se incluyen en este grupo. El otro grupo contiene hongos que producen toxinas después de la cosecha y durante el almacenamiento de los cultivos y el transporte. Estas toxinas se denominan de almacenamiento o post-cosecha. La ocratoxina pertenece a este grupo (EFSA, 2009).

La producción de micotoxinas está asociada a las condiciones que favorecen el desarrollo del hongo que las produce. Si bien existen diferencias entre las distintas especies, los hongos productores de micotoxinas pueden crecer, de forma general, en rangos de temperatura entre 3° C y 40 °C, a pH entre 2 -10 y por encima de 0,77-0,99 de actividad de agua.

Sin embargo cada género presenta unas condiciones óptimas de producción de micotoxinas tal como se reflejan en la Tabla 2.

La incidencia y la concentración de las micotoxinas en los productos son variables y esporádicas en diferentes años y localizaciones geográficas, en parte debido a las condiciones climáticas. *Aspergillus flavus* y *A. ochraceus* crecen preferentemente bajo condiciones de humedad y calor (regiones tropicales y cálidas), mientras *Penicillium verrucosum* se desarrolla en clima templado, siendo las especies de *Fusarium* más ubicuas. Por ello, en Europa y América del norte las micotoxinas predominantes son: Ocratoxina, Deoxinivalenol o vomitina y Zearalenona, y África, Asia y Australia presentan

principalmente Aflatoxinas y Fumonisinas (Lacey, 1991). No obstante, los cultivos en las regiones tropicales y subtropicales son más susceptibles de contaminación que en las regiones templadas, debido a que la alta humedad y las altas temperaturas de esas áreas proporcionan unas condiciones óptimas para la formación de micotoxinas (Thomson & Henke, 2000).

Tabla 2. Condiciones favorables de producción de micotoxinas

Especie	Temperatura ° C	Actividad de agua (aw)	Referencia
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> (aflatoxina)	20-30 28-30	0,99 0,87	Sanchis & Magan (2004)
<i>Aspergillus ochraceus</i> (ocratoxina)	12-37	0,90	Weidenböner (2001)
<i>Penicillium verrucosum</i> (ocratoxina)	25	0,90-0,98	Cairns <i>et al.</i> (2003)
<i>Aspergillus carbonarius</i> (ocratoxina)	15-20	0,85-0,90	Mitchell <i>et al.</i> (2003)
<i>Fusarium graminearum</i> (zearelenona)	25-30	0,98	Sanchis & Magan (2004)
<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> (deoxinivalenol)	11	0,90	Hope & Magan (2003)
<i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i> (fumonisina)	10-30	0,93	Marin <i>et al.</i> (1999)
<i>Penicillium expansum</i> (patulina)	0-25	0,95-0,99	Sanchis & Magan (2004)

1.5. PRINCIPALES MICOTOXINAS PRESENTES EN ALIMENTOS

1.5.1. Aflatoxinas

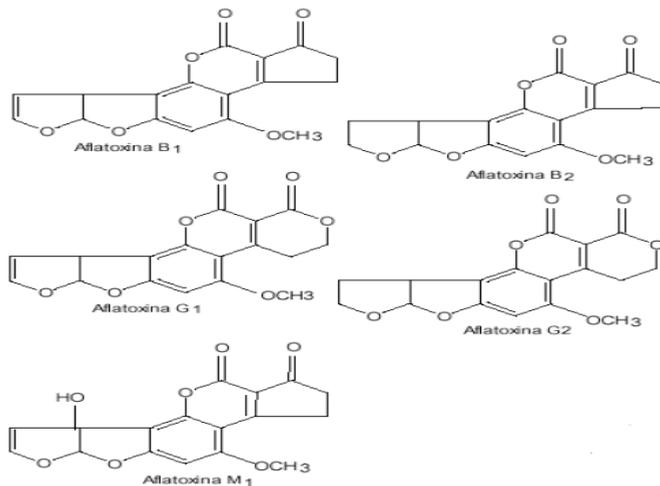
Son las micotoxinas más importantes. Se trata de un conjunto de metabolitos secundarios del grupo difuranocumarina, producidos principalmente por tres especies de *Aspergillus* (*flavus*, *parasiticus* y *nominus*) bajo condiciones

de humedad y calor; sin embargo, se ha demostrado que la especie *A. flavus* es la cepa contaminante más común en la producción agrícola (Turner *et al.*, 2009).

Hasta ahora han sido identificadas dieciocho aflatoxinas, pero solo cuatro de ellas se han encontrado en alimentos y piensos: B₁, B₂, G₁ y G₂ (Heshmati & Milani, 2010). *Aspergillus flavus* produce solo aflatoxinas B, mientras las otras dos especies producen ambas aflatoxinas B y G. (Zinedine *et al.*, 2006). Las demás aflatoxinas conocidas resultan del metabolismo de alguna de estas. Las aflatoxinas M₁ y M₂ son metabolitos hidroxilados derivados de las aflatoxinas B₁ que se excretan en leche de hembras de mamíferos que consumen AFB₁ en la dieta.

Las toxinas tipo B se caracterizan por la fusión de un anillo ciclopentanona a un anillo lactona de la estructura cumarina, mientras las toxinas G contienen un anillo lactona fusionado, en lugar del anillo ciclopentanona (Figura 1).

Figura 1. Estructuras de las principales aflatoxinas



La nomenclatura B y G hace referencia a sus propiedades físico-químicas, ya que las de tipo B presentan fluorescencia azul (blue) y las de tipo G fluorescencia verde (green) cuando se las observa bajo luz ultravioleta a 365 nm (Murphy *et al.*, 2006).

Estas micotoxinas son conocidas por los efectos perjudiciales que provocan en la salud humana y animal tales como: carcinogénesis, mutagénesis, teratogénesis e inmunosupresión.

De todas ellas, la aflatoxina B₁ es la más potente carcinohéptica conocida en mamíferos (Villa & Markaki, 2009).

El enzima citocromo P-450 convierte la AFB₁ en un 8,9-epóxido (Figura 2) muy reactivo capaz de unirse covalentemente al ADN, al ARN y a las proteínas, produciendo la inhibición de la síntesis de proteínas y del metabolismo de carbohidratos y de lípidos (Murphy *et al.*, 2006).

Figura 2. Estructura de la aflatoxina AFB₁ y de su epóxido



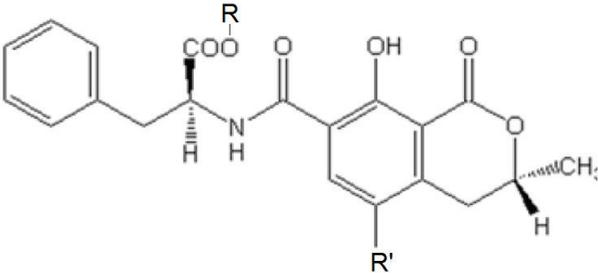
Se han detectado como contaminantes naturales de gran número de productos agrícolas: frutos de cáscara arbóreas (almendras, avellanas, pistacho, nueces del Brasil, anacardos, nueces), cacahuets, higos, especias, granos de cacao, semillas oleaginosas, frutas desecadas, cereales: maíz y arroz y en productos lácteos como el queso y el yogurt (Prieto-Simón *et al.*, 2007).

1.5.2. Ocratoxinas

Las ocratoxinas son metabolitos secundarios producidos por varias especies de hongos *Aspergillus* y *Penicilium*.

Químicamente se trata de derivados de 3-4-dihidrocumarina unidos con un enlace amida a un grupo amino de la L-β-fenil alanina (estructura fenilalanina-cumarina) (Tabla 3).

Tabla 3. Estructuras de las ocratoxinas

		
Ocratoxinas	R	R'
Ocratoxina A	H	Cl
Ocratoxina B	H	H
Ocratoxina C	C ₂ H ₅	Cl
Ester metílico de Ocratoxina A	CH ₃	Cl
Ester metílico de Ocratoxina B	CH ₃	H

La más frecuente es la Ocratoxina A (OTA) y también la más tóxica. En Italia se registró un caso de insuficiencia renal aguda por inhalación de OTA en un granero que había permanecido cerrado durante dos años y, debido a la similitud de las lesiones funcionales y morfológicas con las nefropáticas porcinas provocadas por la OTA, se sugirió que esta micotoxina fue el agen-

te causal (Peraica *et al.*, 1999).

En los seres humanos se ha relacionado con la etiología de la nefropatía endémica de los Balcanes (BEN), una enfermedad renal crónica degenerativa asociada con una alta incidencia de tumores del tracto urinario (Kuiper-Goodman *et al.*, 2010). En animales tiene efectos nefrotóxicos, inmunotóxicos y cancerígenos, siendo los principales órganos diana para su toxicidad los riñones y el hígado (Coronel *et al.*, 2009).

La OTA se encuentra presente principalmente en cereales, uva, café, especias y cacao. En cereales es producida principalmente por *P. verrucosum* y en la uva, café y cacao se asocia con la presencia de *A. carbonarius* (Amezqueta *et al.*, 2009). En las bebidas alcohólicas, generalmente el vino tinto presenta un mayor contenido de OTA que el vino rosado y blanco (Battilani *et al.*, 2006). También se detecta OTA en todo tipo de productos de origen animal alimentados con piensos contaminados con esta micotoxina: queso, carne, etc. Aunque está ampliamente distribuida en productos de todo el mundo, las principales regiones afectadas son las europeas y, para algunos alimentos, las africanas (Murphy *et al.*, 2006).

1.5.3. Micotoxinas *Fusarium*

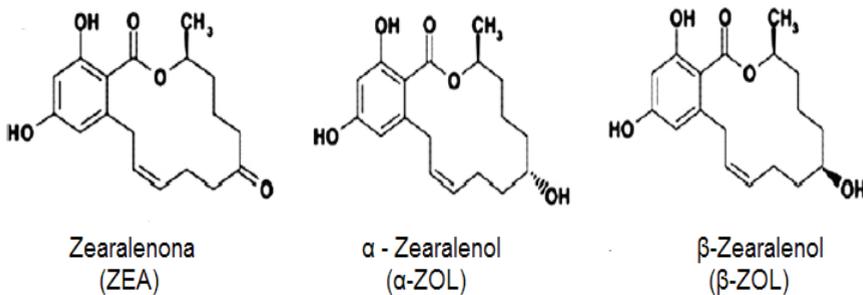
1.5.3.1. Zearalenona: ZEA

Micotoxina estrogénica no esteroidea biosintetizada a través de una vía polipéptica por una variedad de hongos del género *Fusarium* en zonas templadas y en países cálidos (Zinedine, *et al.*, 2007a). Es una lactona derivada del ácido β -resorcílico (Figura 3). En los mamíferos es metabolizada a nivel hepático a α y β zearalenol. Afecta a una amplia variedad de cereales: trigo, maíz, sorgo, cebada (Kumar *et al.*, 2008) simultáneamente con otras micotoxinas como los tricotecenos.

La zearalenona se produce normalmente en la pre-cosecha, pero puede originarse bajo condiciones inadecuadas de almacenamiento como en el caso de ambientes con alto contenido de humedad.

Esta micotoxina y sus derivados tiene efectos estrogénicos y anabólicos en mamíferos, es disruptora endocrina y causa problemas reproductivos en animales (Panini *et al*, 2010).

Figura 3. Estructura de zearalenona y sus metabolitos



1.5.3.2. Tricotecenos

Los tricotecenos constituyen una familia de más de sesenta metabolitos de estructura sesquiterpénica producidas por hongos del género *Fusarium*. Todas las micotoxinas de este grupo tienen pequeños pesos moleculares, la misma estructura base de anillo, y un grupo típico 12,13-epóxido (He *et al.*, 2010) (Tabla 4).

Los tricotecenos se dividen en cuatro grupos (A-D) de acuerdo con los sustituyentes funcionales de sus estructuras (Tabla 4), siendo los grupos A y B los más importantes por estar presentes de manera natural en cantidades significativas en los piensos.

Tabla 4. Estructuras de algunos tricotecenos

TIPOS	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
T-2	OH	OAc	OAc	H	-OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
HT-2	OH	OH	OAc	H	-OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
DON	OH	H	OH	OH	=O
NIV	OH	OH	OH	OH	=O

Dentro del grupo A los tricotecenos más comunes son: toxina T-2, toxina HT-2 y dentro del tipo B se encuentran el deoxinivalenol (DON) conocida como vomitoxina y el nivalenol (NIV). En general, las micotoxinas del grupo A son más tóxicas que las del grupo B (EFSA, 2010b).

Se encuentran ampliamente distribuidos en el mundo, afectando principalmente a los cereales y sus subproductos. DON es uno de los más comunes contaminantes del trigo y el maíz (Lattanzio *et al.*, 2009). Mientras que en la avena no procesada se aprecia un alta incidencia y concentración de T-2 y HT-2, seguida de la cebada (EFSA, 2010b).

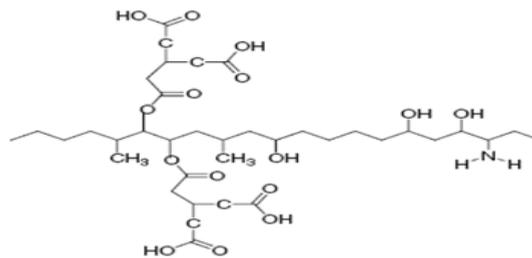
Los tricotecenos pueden afectar a la salud animal y humana debido a sus múltiples efectos en la célula eucariota, incluyendo inhibición de la síntesis de proteínas (Murphy *et al.*, 2006), de la síntesis de ADN, ARN, inhibición

de la función mitocondrial y efectos en la división celular y funciones de las membranas (Rocha *et al.*, 2005).

1.5.3.3. Fumonisin

Las fumonisinas fueron descubiertas y caracterizadas en 1988. Hasta la fecha se han identificado 28 tipos de fumonisinas. Estas micotoxinas son producidas por especies de *Fusarium* entre otras por *F. verticillioides*. Dentro de este grupo las más abundantes son las Fumonisin B1 (FB1) (Burger *et al.*, 2010). La FB1 presenta una estructura de diéster de ácido propano -1, 2, 3- tricarbónico (Figura 4).

Figura 4. Estructura de la Fumonisin B1 (FB1)



Las FB1 constituyen alrededor del 70-80% del contenido total de las fumonisinas, las fumonisinas B2 representan el 15 a 25% de las fumonisinas totales, mientras que la fumonisina B3 representa el 3.8% (Karbancioglu-Güler & Heperkan, 2009).

Es el patógeno más conocido de los cereales. Crecen fundamentalmente en el maíz, pero las fumonisinas también se han encontrado en trigo, cebada, arroz, sorgo, cerveza, espárragos, té negro y plantas medicinales (Karbancioglu-Güler & Heperkan, 2009).

Las fumonisinas interfieren en el metabolismo de los esfingolípidos y se

sospecha que están implicadas en el cáncer esofágico en humanos, informándose de efectos carcinógenos en roedores (JECFA, 2001a). En los animales de granja la FB1 causa leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcina, observándose toxicidad hepática y renal en varias especies, incluyendo ovejas, ratas, pollos, pavos y patos (Tardieu *et al.*, 2008).

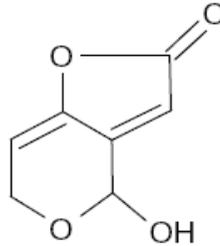
1.5.3.4. Patulina

La patulina (PAT) es un metabolito tóxico producido por varias especies de *Penicillium*, *Aspergillus* y *Byssochlamys*. *Penicillium* y *Aspergillus* son consideradas como las principales especies responsables de la producción de la micotoxina en etapas del pre-procesamiento de la fruta (pre-cosecha y post-cosecha). Algunas especies de *Byssochlamys* pueden ser aceptadas como productoras potenciales de las micotoxinas en las etapas posteriores a la pasteurización, debido a su capacidad para sobrevivir al tratamiento térmico aplicado comúnmente a los zumos de fruta (Sant'Ana *et al.*, 2008).

El *Penicillium expansum* es el contaminante más importante de frutos dañados, comúnmente identificado como el “hongo azul de la putrefacción”, causa la podredumbre de almacenamiento más común de las manzanas e invaden no sólo fruta, sino también otros alimentos como las verduras, bayas, pan y productos cárnicos.

Para humanos la mayor fuente potencial de PAT son las manzanas y el zumo de manzana obtenido de fruta afectada. La PAT tiene una potente actividad antibiótica contra bacterias, puede causar hemorragias y edema. También puede dañar el sistema inmune y producir neurotoxicidad (Muriillo-Arbizu *et al.*, 2009).

La estructura de la PAT se aprecia en la Figura 5.

Figura 5. Estructura de la patulina

1.6. TOXICIDAD

Los efectos tóxicos de micotoxinas son variables dependiendo del tipo de micotoxinas (estructura química, biodisponibilidad), de la concentración en el alimento, del sinergismo entre las micotoxinas presentes, de la cantidad de alimento consumido y del tiempo de exposición: continuidad o intermitencia en la ingestión, de la especie, edad, sexo y de la vulnerabilidad del individuo afectado (Ruiz *et al.* 2011a, 2011b).

Las micotoxinas pueden tener efectos agudos y crónicos sobre la salud animal y de los seres humanos. Pueden afectar a numerosos órganos y sistemas, en particular al hígado, los riñones, al sistema nervioso, al sistema endocrino y al sistema inmunitario.

La exposición aguda está relacionada con el consumo de altos niveles de micotoxinas en periodos relativamente cortos. La ingestión elevada de micotoxinas puede provocar en deterioro de la salud, pero el riesgo a sufrir una intoxicación aguda por micotoxinas en el hombre suele ser bajo o moderado en relación con otro tipo de intoxicaciones.

En la Tabla 5 se presentan los efectos tóxicos agudos y crónicos producidos por las micotoxinas.

Tabla 5. Efectos tóxicos producidos por las micotoxinas

Micotoxinas	Toxicidad aguda	Toxicidad crónica
Aflatoxinas	Pérdida de peso, hepatitis tóxica, ictericia, fotosensibilidad, diarrea e incluso muerte (Peraica <i>et al.</i> , 1999)	<u>En humanos/animales:</u> Carcinoma hepatocelular (HCC), mutagénica, teratogénica e inmunosupresión (Villa & Markaki, 2009)
Ocratoxinas	<u>En animales:</u> Nefrotoxicidad <u>En humanos:</u> Anorexia, pérdida de peso, poliuria, polidipsia, hemorragias digestivas, deshidratación (López de Cerain, 2000)	<u>En animales:</u> Teratogénica, nefrotóxica, genotóxicas, inmunosupresión, mutagénica (Prieto-Simón <i>et al.</i> , 2007) <u>En humanos:</u> Nefropatía endémica en los Balcanes (BEN), carcinogénica e inmunosupresión (Kumar <i>et al.</i> , 2008)
Zearalenona	Estrogenicos y anabolicos (Pani <i>et al.</i> , 2010)	<u>En animales:</u> Vaginitis, esterilidad, infertilidad, abortos, hiperestrogénica, genotóxica (Prieto-Simón <i>et al.</i> , 2007) <u>En humanos:</u> cáncer cervical (Zinedine & Mañes, 2009).
Deoxivalenol	Anorexia, émesis (Pestka, 2010)	<u>En animales:</u> Necrosis, teratogénica, inmunosupresión (Prieto-Simón <i>et al.</i> , 2007) <u>En humanos:</u> Alteración del sistema inmunológico, síndrome anoréxico (Castillo <i>et al.</i> , 2008)
Toxina T-2	Nauseas, vómitos, irritación faríngea, dolor abdominal, diarreas. (Zinedine & Mañes, 2009)	<u>En animales:</u> Necrosis, inmunosupresión, inhibición síntesis del ADN y proteínas (Ruiz <i>et al.</i> , 2001b) <u>En humanos:</u> Aleucia tóxica alimentaria (ATA), vómitos, dermatóxica, hemorragias (McKean <i>et al.</i> , 2006)
Fumonisinás	Alteraciones gastrointestinales: dolor abdominal, borborigmos (Zinedine & Mañes, 2009)	<u>En animales:</u> Leucoencefalomalacia equina (Tardieu <i>et al.</i> , 2008), edema pulmonar porcina, lesiones hepáticas, fibrosis, carcinoma hepatocelular, hipercolesterolemia <u>En humanos:</u> cáncer esofágico (Prieto-Simón <i>et al.</i> , 2007)

Tabla 5. Efectos tóxicos producidos por las micotoxinas

Micotoxinas	Toxicidad aguda	Toxicidad crónica
Patulina	Agitación, convulsiones, congestión pulmonar, edema, hiperemia, distensión del tracto gastrointestinal, hemorragias intestinal y degeneración de las células del epitelio (Sant'Ana <i>et al.</i> , 2008)	<u>En animales:</u> neurotóxica, inmunotóxica (Murillo-Arbizu <i>et al.</i> , 2009) <u>En humanos:</u> genotóxica, neurotóxica, inmunotóxica, inmunosupresión, teratogénica (Sant'Ana <i>et al.</i> , 2008)

La toxicidad crónica de muchas micotoxinas, que resulta de la exposición a bajas concentraciones durante periodos prolongados, es la forma más frecuente de toxicidad y suscita mayor preocupación que la toxicidad aguda, debido a que algunas de las micotoxinas han sido clasificadas como cancerígenas o posibles cancerígenos por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC). La clasificación de la micotoxinas en función del poder cancerígeno se recoge en Tabla 6.

Además, el impacto de una ingesta regular de bajos niveles de micotoxinas en la salud humana supone daños en el crecimiento y desarrollo, disfunción en el sistema inmune y enfermedades resultantes de alteraciones en el metabolismo del ADN (Bryden, 2007).

Existen evidencias de que las micotoxinas pueden ser inmunotóxicas, ejercer efectos en la respuesta celular, factores humorales y en los mediadores citogénicos del sistema inmune. Y como consecuencia de esta inmunosupresión pueden causar un incremento de la susceptibilidad a enfermedades infecciosas (Bryden, 2007).

Así mismo, hay que tener en cuenta que el comportamiento de las micotoxinas al combinarse puede alterarse. Sedmikova *et al.* (2001) encontró que la OTA puede aumentar la mutagenicidad de la AF B1 en el caso de su

conurrencia simultanea en el mismo sustrato. Ruiz *et al.* (2011b) observaron sinergismo entre tricotecenos.

Tabla 6. Clasificación de las micotoxinas según la IARC (2010)

Micotoxinas	Evidencia de carcinogenicidad		Clasificación IARC
	Humana	Animal	
Aflatoxina B ₁	S	S	1
Aflatoxina M ₁	I	S	2B
Fumonisina B1	I	S	2B
Ocratoxina A	I	S	2B
Patulina	ND	I	3
Zearalenona, Deoxinivalenol, Nivalenol	I	I	3
Toxina T-2	ND	L	3

S: evidencia suficiente, I: evidencia insuficiente, ND: no datos, L: evidencia limitada.

Grupo 1: Cancerígeno en humanos.

Grupo 2A: Probablemente cancerígeno en humanos; Existe limitada evidencia sobre humanos pero suficiente con animales.

Grupo 2B: Posiblemente cancerígeno; la evidencia en humanos es limitada y tampoco hay suficiente evidencia con animales de experimentación.

Grupo 3: No clasificado como cancerígeno humano y no puede incluirse en otro grupo.

Grupo 4: Probablemente no cancerígeno en humanos y no puede incluirse en otro grupo.

1.7. FACTORES QUE INFLUYEN EN EL ESTABLECIMIENTO DE LA NORMATIVA DE MICOTOXINAS

Desde el descubrimiento de las aflatoxinas en 1960, en numerosos países se han establecido regulaciones para proteger a los consumidores de los efectos dañinos de las micotoxinas. Varios factores, tanto de naturaleza científica como socio-económicos, juegan un papel en el proceso de toma decisiones para establecer reglamentaciones sobre micotoxinas. Entre ellos destacan (FAO, 2004):

- Evaluación del riesgo.
- Disponibilidad de datos de distribución de las micotoxinas en el producto y procedimientos de muestreo.
- Disponibilidad de métodos análisis.
- Política económica y disponibilidad de alimentos.

1.7.1. Evaluación del riesgo

El Análisis de Riesgos es una forma metodológica de evaluar riesgos asociados a la presencia de peligros en los alimentos, para facilitar la adopción de decisiones en materia de gestión de riesgos y su comunicación. Consta de un proceso integrado por varias fases, cuyo objetivo es determinar la naturaleza de un riesgo, expresarlo en términos cualitativos o cuantitativos y establecer las medidas adecuadas para minimizarlo o limitarlo a un nivel aceptable (Sherif *et al.*, 2009). Las fases que integran este proceso son (FAO/ WHO, 2006):

- Evaluación de riesgos (ER): procedimiento científico que estima la probabilidad de que ocurra un riesgo.
- Gestión de Riesgos: proceso por el cual las autoridades competentes, basándose en los resultados de la fase anterior, eligen las opciones más adecuadas para disminuir los riesgos, aplican dichas medidas (incluidas las legislativas) y se lleva a cabo el seguimiento de las mismas. En esta fase se determina la importancia del riesgo estimado, se comparan los costes de su reducción frente a los beneficios sociales de correr dichos riesgos y se lleva adelante el proceso político e institucional para reducir dicho riesgo.
- Comunicación de Riesgos: proceso interactivo de intercambio de

información entre la evaluación, la gestión y el resto de las partes implicadas.

Entendemos por “*peligro*”: todo agente biológico, químico o físico presente en un alimento o un pienso o toda condición biológica, química o física de un alimento o de un pienso que pueda causar un efecto perjudicial para la salud y por “*riesgo*”: la probabilidad de que se produzca un efecto adverso y de la magnitud de ese efecto, como consecuencia de la presencia de un peligro o peligros en los alimentos.

La ER es la primera de las fases del Análisis de Riesgos, se basa en hechos científicos para, de una forma sistemática, estimar la probabilidad de que ocurra un efecto adverso y la gravedad del mismo sobre el ser humano o sobre el medio ambiente como consecuencia de la exposición a un agente causal. Esta metodología se desarrolló en EEUU en las décadas 70-80 y se utilizó por primera vez para establecer niveles tolerables o aceptables de una sustancia. Se incorpora en la UE con la Directiva 93/67/CEE de la Comisión de 20 de julio de 1993 por la que se fijan los principios de evaluación del riesgo, para el ser humano y el medio ambiente.

La evaluación del riesgo consta de los siguientes pasos: identificación de los peligros, caracterización de los peligros, evaluación de la exposición y caracterización de los riesgos.

1. Identificación del peligro: Identificación de los agentes que produzcan efectos perjudiciales sobre la salud y que puedan estar presentes en un alimento.
2. Caracterización del peligro: Evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la naturaleza de los efectos nocivos asociados a agentes biológicos, químicos y físicos que pueden estar presentes en los alimentos.

3. Evaluación de la exposición: Evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la ingestión probable de agentes a través de los alimentos así como, en caso necesario, de las exposiciones que derivan de otras fuentes y vías de exposición.
4. Caracterización del riesgo: Estimación cualitativa y/o cuantitativa de la probabilidad de que se produzcan efectos nocivos y de su gravedad en una población determinada.

La evaluación del riesgo, trasladada a las micotoxinas, podría definirse como una herramienta de predicción cuantitativa de los efectos nocivos sobre la salud humana causados por las micotoxinas. Trata de identificar y estimar la probabilidad de que la exposición a micotoxinas produzca efectos nocivos.

1. Identificación de los peligros

“Determinación de los agentes biológicos, químicos y físicos que pueden causar efectos nocivos para la salud y que pueden estar presentes en un determinado alimento o grupo de alimentos”.

El objetivo de esta etapa consiste en la identificación de los posibles efectos adversos en la salud humana asociados a la exposición de micotoxinas, la probabilidad de aparición de tales efectos y la certidumbre o incertidumbre asociada a las mismas. Es decir, determinar si las micotoxinas son tóxicas. Esta etapa supone una evaluación de la probabilidad “cualitativa” de aparición del efecto en las poblaciones expuestas. Se trata de establecer si hay suficientes evidencias para considerar la micotoxina como la causa del efecto adverso para la salud.

Para identificar los peligros es necesario un análisis adecuado de la información científica obtenida en bases de datos apropiadas y publicaciones,

tanto de los estudios toxicológicos en animales, de los estudios epidemiológicos, de ensayos *in vitro* y de los estudios cuantitativos de la relación estructura-actividad (FAO/OMS, 1995). En los casos en que se disponga de datos epidemiológicos, se tomará en consideración la variabilidad de la susceptibilidad humana, la predisposición genética, la susceptibilidad relacionada con la edad y con el sexo y los efectos de factores tales como el nivel socioeconómico, el estado nutricional y otras posibles influencias.

2. Caracterización del factor de peligro

“Evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la naturaleza de los efectos nocivos para la salud relacionados con agentes biológicos, químicos y físicos que pueden estar presentes en los alimentos”.

El propósito de esta etapa es proporcionar una descripción de la gravedad y duración de los efectos adversos que pueden resultar de la ingestión del peligro. Es decir, determinar cómo es de tóxica la micotoxina. Si es posible obtener los datos necesarios, deberá efectuarse una evaluación de la relación dosis-respuesta: determinación de la relación entre la magnitud de la exposición (dosis) de las micotoxinas y de la gravedad y/o frecuencia de los efectos nocivos para la salud con ella/ellas relacionados (respuesta) (Elika, 2005).

Los parámetros de medida de la relación entre la dosis y la respuesta son diferentes para los efectos tóxicos con nivel de umbral y para los carecen de dicho nivel. En los efectos no carcinógenos se calcula niveles seguros de exposición basados en el umbral de toxicidad observado en los estudios epidemiológicos. Para determinar el umbral de la relación entre dosis y respuesta es necesario identificar el “nivel sin efectos adversos observable” (NOAEL: *Non observed adverse effect level*) o “mínimo nivel con efecto adverso observable” (LOAEL: *Lowest observed adverse effect level*). En el

caso de los carcinógenos, actualmente, los organismos responsables de la inocuidad de los alimentos distinguen dos tipos de agentes carcinógenos: genotóxicos y no genotóxicos. Los carcinógenos genotóxicos se definen como productos químicos que actúan sobre el material genético pudiendo causar alteraciones genéticas, directa o indirectamente, en las células diana. Los agentes “carcinógenos no genotóxicos” por sí mismos no pueden producir mutaciones, pero actúan, a nivel extragenético en fases posteriores del proceso cancerígeno, sobre las células ya «iniciadas» por otros carcinógenos u otros procesos, dando lugar presumiblemente a una mayor proliferación celular y/o a una hiperfunción/disfunción sostenida de los elementos diana (FAO/OMS, 1995).

Las micotoxinas tienen un amplio espectro de efectos toxicológicos y pueden afectar a muchos procesos celulares (apartado 1.5.1.). Esta diversidad de efectos biológicos exige una evaluación caso por caso y puede requerir una variedad de técnicas de extrapolación.

Algunas micotoxinas pueden causar efectos en el desarrollo, incluyendo defectos de nacimiento y afectar al sistema inmunológico, otras presentan actividad hormonal o son neurotóxicas. También pueden provocar alteración del sistema gastrointestinal, irritación de la piel y efectos hematológicos. Se consideran micotoxinas no cancerígenas (apartado 1.5.1).

Determinadas micotoxinas parecen tener propiedades carcinogénicas (Tabla 6), originar, promover y contribuir a la progresión del tumor, tal como se refleja en los resultados de la patología tumoral y pruebas de genotoxicidad. Se ha supuesto que no existe un umbral para el proceso de iniciación. Se tratan de micotoxinas carcinogénicas genotóxicas. Otras micotoxinas parecen ejercer una actividad predominantemente de promoción tumoral, un modo de acción para la que se presume que existe un umbral. Son las mico-

toxinas carcinogénicas no genotóxicas. Bajo la caracterización del peligro, estos tipos de sustancias cancerígenas son tratados de manera diferente, teniendo un impacto en cómo se determinan los niveles de seguridad. Sin embargo, la distinción entre los dos grupos de agentes carcinógenos no siempre está clara.

Por ello, en aquellas micotoxinas que presentan nivel umbral y basándonos en el conocimiento de su mecanismo de acción y modo de acción, se establecen valores de NOAEL y factores de incertidumbre y a partir de estos la “*ingesta diaria provisional tolerable*” (IDPT; del inglés *provisional tolerable daily intake*) para buscar la dosis segura en el hombre. No obstante, en aquellas micotoxinas con nivel umbral, pero que producen efectos tóxicos significativos e irreversibles, o en las que no se dispone de datos suficientes sobre su toxicidad, se aplican otros factores modificadores. En el caso de micotoxinas genotóxicas (sin umbral) no se determinan la IDTP y, dado que no se permite su presencia en los alimentos, se utilizan modelos matemáticos para evaluar la relación dosis respuesta (Soriano *et al.*, 2007).

3. Evaluación de la exposición

“Evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la ingestión probable de agentes biológicos, químicos y físicos a través de los alimentos así como, en caso necesario, de las exposiciones que derivan de otras fuentes”.

En esta etapa se evalúa la exposición considerando *quien* está expuesto, a qué *cantidad* de micotoxina se expone, durante *cuánto tiempo* y con qué *frecuencia*.

En la evaluación de la exposición se deben combinar los datos sobre consumo de alimentos con los de concentración de las micotoxinas en dichos alimentos y, por tanto, es necesario considerar los siguientes factores: con-

taminación inicial de la materia prima, diferencias regionales, estacionalidad de la producción, nivel de control de la higiene y el tipo de procesado de los alimentos. Se necesita información sobre patrones de consumo, tamaño de las raciones típicas, tasas anuales o semanales de consumo, circunstancias en las que el alimento es preparado y consumido, diferencias culturales, socioeconómicas, étnicas, regionales, factores estacionales, comportamientos y preferencias de los consumidores (Elika, 2005).

Las determinaciones de la exposición alimentaria debe abarcar a la población general y también a grupos vulnerables o en los que se prevé una exposición significativamente diferente de la población general (por ejemplo: lactantes, niños, embarazadas, ancianos, vegetarianos).

La información sobre concentraciones de micotoxinas en alimentos se obtienen de la medición de las concentraciones en los alimentos tal como se consumen, para lo que se exigen planes de muestreo y métodos analíticos convalidados. Se puede proceder al análisis de grupos de alimentos o análisis de alimentos individuales (muestras individuales o compuestas). La información sobre consumo de alimentos se puede obtener de datos de disponibilidad de alimentos, que incluyen las cantidades de alimentos para consumo humano provenientes de las estadísticas nacionales de producción o utilización de alimentos (FAO/WHO, 2009).

La evaluación de la exposición a veces también se basa en la medición de marcadores biológicos en los seres humanos (suero, orina, leche materna).

4. Caracterización del riesgo

“Es una estimación cualitativa y cuantitativa de la probabilidad de que se produzcan un efecto adverso para la salud en la población como consecuencia de la

exposición.”

El resultado de la caracterización de los riesgos es una estimación de la probabilidad de aparición de efectos adversos para la salud en la población como consecuencia de la exposición. La caracterización de los riesgos se lleva a cabo teniendo en cuenta los resultados de la identificación de los peligros, la caracterización de los peligros y la evaluación de la exposición.

La medida del riesgo se expresa como la probabilidad de que el efecto ocurra sobre la salud, en efectos tóxicos sin nivel umbral, o como índices de riesgo o márgenes de seguridad para los efectos tóxicos con nivel de umbral (no cancerígenos).

En la caracterización del riesgo deben utilizarse métodos rápidos y económicos para eliminar sustancias peligrosas. Según la estrategia de minimización del riesgo, para hacer los cálculos de riesgo y determinar los niveles de riesgo aceptables se utilizan una serie de herramientas como: la IDPT; ISPT; NOAEL, LOAEL, DRf, CRf, IDA, margen de seguridad y margen de exposición.

Una segunda fase del análisis de riesgo es la gestión del riesgo. En lo que respecta a las micotoxinas, hay una variedad de opciones de gestión de riesgo que ayudan a garantizar un suministro de alimentos inocuos, pero todas ellas se pueden agrupar en dos: la fijación de los límites reglamentarios y medidas de control.

La última fase que integra el análisis de riesgos, la comunicación de riesgo, definida como el intercambio interactivo de información y opiniones entre evaluadores, gestores y otras partes interesadas (como pueden ser consumidores, empresas alimentarias, comunidad académica, etc.), es la clave para que todo el proceso culmine con éxito.

1.7.2. Disponibilidad de datos de distribución de las micotoxinas en los alimentos y métodos de muestreo

Las micotoxinas, salvo excepciones, se encuentran distribuidas de una forma muy heterogénea en los alimentos.

El muestreo tiene un papel fundamental en la precisión de la determinación del contenido de micotoxinas.

El Reglamento (CE) nº 401/2006 de la Comisión, de 23 de Febrero de 2006, establece los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios y se modifica por el Reglamento (UE) nº 178/2010 de la Comisión, de 2 de marzo de 2010, en lo que respecta a los cacahuetes y otras semillas oleaginosas, a los frutos de cáscara arbóreos, a los huesos de albaricoque, al regaliz y al aceite vegetal.

La distribución de las micotoxinas en un lote es muy heterogénea, sobre todo en los lotes de productos alimenticios con tamaño grande de partícula. Por lo que, con objeto de obtener la misma representatividad, en el caso de los lotes de productos alimenticios con tamaño grande de partícula, el peso de la muestra global debería ser superior al peso de la muestra global de los lotes de productos alimenticios con tamaño más pequeño de partícula.

Dado que la distribución de micotoxinas en productos transformados es normalmente más homogénea que en los productos no transformados, el muestreo será más sencillo para los productos transformados (Reglamento (CE) nº 401/2006).

Para efectuar un correcto muestreo es necesario adoptar las siguientes medidas recogidas en el Reglamento (CE) nº 401/2006:

- La toma de muestras será efectuada por una persona autorizada y cualificada, evitando toda alteración que pueda afectar al contenido

de micotoxinas y que puede influir de manera adversa en la determinación analítica o invalidar la representatividad de las muestras globales y que puede afectar a la seguridad alimentaria de los lotes que serán objeto de muestreo.

- Se tomarán muestras elementales en distintos puntos del lote o sublote obteniendo, por agrupación de las mismas, la muestra global.
- Las muestras se colocarán en recipientes limpios, de material inerte, que ofrezcan una protección adecuada contra la contaminación y el deterioro que pudiera resultar del transporte.
- Se tomarán las precauciones necesarias para evitar cualquier modificación de la composición de la muestra que pudiera ocurrir durante el transporte o el almacenamiento.
- Cada muestra se identificará adecuadamente indicando: producto, destino del producto, identificación del lote, peso del lote, el lugar y la fecha del muestreo.

El método de muestreo podrá aplicarse a las distintas formas en que se comercialicen los productos: a granel, en contenedores o en envases individuales como: sacos, bolsas o envases para la venta al por menor. Cuando no sea posible aplicar los métodos de muestreo contemplados en la normativa podrá utilizarse métodos alternativos siempre que sean representativos y estén descritos y documentados.

En las Tablas 7-12 se recogen métodos de muestreos de cereales, frutos secos y frutas desecadas, higos secos, especias, leche y productos lácteos, café, derivados de la raíz de regaliz, zumos de fruta, productos sólidos a base de manzana, aceites vegetales y alimentación infantil.

Tabla 7. Subdivisión de los lotes en sublotos en función del producto y del peso del lote (Reglamento 401/2006)

Producto	Peso muestra elemental	Peso lotes (Toneladas)	Peso/nº de lotes	Nº muestras elementales	Peso muestra global (Kg)
Cereales y productos a base de cereales	100 gr	≥ 1550 >300 y <1500 ≥ 50 y ≤ 300 < 50	500 T 3 sublotos 100 T -----	100 100 100 3 -100*	10 10 10 1 – 10
Frutas desecadas, uvas pasas	100 gr	≥ 15 < 15	15 - 30 T -----	100 10 -100*	10 1 – 10
Higos secos	300 gr	≥ 15 < 15	15 - 30 T -----	100 10 -100*	30 ≤ 30
Cacahuets, semillas oleaginosas, huesos de albaricoque y frutos cáscara arbóreos	200 gr	≥ 500 > 125 y <500 ≥ 15 y ≤ 125 < 15	100 T 5 sublotos 25 T -----	100 100 100 10 - 100*	20 20 20 ≤ 20
Espicias	100 gr	≥ 15 < 15	25 T ----	100 5 - 100*	10 0.5 – 10
Leche y productos lácteos	1 Kg	L / Kg ---- (granel) ≤ 50 envases 50–500 env. > 500 env.	-----	3 - 5 3 5 10	1 l / Kg 1 1 1
Café, y derivados de raíz de regaliz	100 gr	≥ 15 < 15	15 - 30 T	100 10 - 100*	10 1 – 10
Botellas de zumo de fruta, mosto, sidra	1 l.	≤ 50 litros De 50 - 500 > 500		3 5 10	1 1 1
Botellas de vino	1 l.	≤ 50 litros De 50 - 500 > 500		1 2 3	1 1 1

Tabla 7. Subdivisión de los lotes en sublotos en función del producto y del peso del lote (Reglamento 401/2006)

Producto	Peso muestra elemental	Peso lotes (Toneladas)	Peso/nº de lotes	Nº muestras elementales	Peso muestra global (Kg)
Productos sólidos a base de manzana y zumo de manzana	1 Kg	< 50 Kg		3	1
		De 50 - 500		5	1
		> 500		10	1
Aceites vegetales a granel	100 gr	≥ 1550	500 T	3	1
		> 300 < 1500	3 sublotos	3	1
		≥ 50 ≤ 300	100 T	3	1
		< 50	-----	3	1
Aceite vegetal en envases		≤ 50 Kg		3	
		De 50 - 500		5	
		> 500		10	
Alimentación infantil y al. a base de cereales para la lactantes y niños de corta edad	100	-----	-----	10-100	10

*En función del peso del lote véase Tablas 8-12, Nº: número, env.: envases.

Tabla 8. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote de cereales (lotes < 50 T) (Reglamento 401/2006)

Peso lote (T)	Nº de muestras elementales	Peso muestra global (Kg)
≤ 0,05	3	1
> 0,05 - ≤ 0,5	5	1
>0,5 - ≤ 1	10	1
>1 - ≤ 3	20	2
>3 - ≤ 10	40	4
>10 - ≤ 20	60	6
>20 - ≤ 50	100	10

Tabla 9. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote en frutos secos, café tostado en grano, molido, soluble, raíz de regaliz y extracto de regaliz (lotes < 15 T) (Reglamento 401/2006)

Peso lote (T)	Nº de muestras elementales	Peso muestra global (Kg)
≤ 0,1	10	1
> 0,1 - ≤ 0,2	15	1,5
> 0,2 - ≤ 0,5	20	2
> 0,5 - ≤ 1	30	3
>1 - ≤ 2	40	4
> 2,0 - ≤ 5	60	6
> 5 - ≤10	80	8
> 10 - ≤15	100	10

Tabla 10. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote en higos secos (lotes < 15 T) (Reglamento 401/2006)

Peso lote (T)	Nº muestras elementales	Peso muestra global (Kg)*	Nº muestras laboratorio
≤0,1	10	3	1
>0,1 - ≤ 0,2	15	4,5	1
>0,2 - ≤ 0,5	20	6	1
>0,5 - ≤ 1	30	9 (< 12Kg)	1
>1 - ≤ 2	40	12	2
>2,0 - ≤ 5	60	18 (< 24Kg)	2
>5 - ≤ 10	80	24	3
>10 - ≤ 15	100	30	3

* Si el producto está envasado para la venta al por menor el peso de la muestra global podría variar.

Tabla 11. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote de cacahuetes, semillas oleaginosas, hueso de albaricoque y frutos de cáscara arbóreos (lotes < 15 T). (Reglamento 401/2006)

Peso lote (T)	Nº muestras elementales	Peso muestra global (Kg)	Nº muestras laboratorio
≤ 0,1	10	2	1
>0,1 - ≤ 0,2	15	3	1
>0,2 - ≤ 0,5	20	4	1
>0,5 - ≤ 1	30	6	1
>1 - ≤ 2	40	8 (< 12)	1
>2,0 - ≤ 5	60	12Kg	2
>5 - ≤10	80	16	2
>10 - ≤15	100	20	2

Tabla 12. Número de muestras elementales que deben tomarse en función del peso del lote en especias (lotes < 15 T) (Reglamento 401/2006)

Peso lote (T)	Nº muestras elementales	Peso muestra global (Kg)
≤ 0,01	5	0,5
> 0,01 - ≤ 0,1	10	1
>0,1 - ≤ 0,2	15	1,5
>0,2 - ≤ 0,5	20	2
>10,5 - ≤ 1	30	3
>1,0 - ≤ 2,0	40	4
>2,0 - ≤ 5	60	6
>5 - ≤10	80	8
>10 - ≤15	100	10

En dos estados miembros: España y Alemania, debido a su legislación nacional adicional en lo que se refiere a los derechos del operador, que no es revocada por el Reglamento (CE) nº 401/2006, se establece que las muestras de la defensa y la referencia tienen que ser tomadas en presencia del operador, incluso en el caso de muestreo para análisis de las aflatoxinas el Reglamento (CE) nº 401/2006 prevé esa posibilidad. Si este es el caso, entonces debe ser aplicado el procedimiento de muestreo 2 x (nº de muestras elementales x peso de muestra elemental) para la muestra oficial mas la de defensa, o 3 x (nº de muestras elementales x peso de muestra elemental) para las muestras oficiales mas la defensa mas la muestra de referencia, dando lugar a dos o tres muestras globales de diferentes pesos, en función del peso y tamaño de muestras elementales. Cada muestra global debe ser sometida a una mezcla previa y posterior división en 2 ó 3 sub-muestras que son sometidas a homogeneización y división para obtener las muestras de control, defensa y, en su caso, de referencia. El procedimiento de homogeneización puede dar lugar a una mezcla que está sujeta a la degradación microbiana, por ello es conveniente que las muestras de laboratorio homogeneizadas y las muestras tomadas de la muestra homogeneizada sean almacenadas y transportadas de manera que no se produzca contaminación ni crecimiento microbiano (EFSA, 2010a).

1.7.3. Análisis de micotoxinas

1.7.3.1. Análisis de muestras

Los métodos de determinación y cuantificación de micotoxinas se han ido modificando a lo largo de los años, así como los procedimientos de extracción y purificación. Debido a la variedad de las estructuras de estas toxinas es imposible utilizar una técnica estándar para su análisis y/ o detección o

control. En la selección de un método para el análisis de micotoxinas es necesario considerar el propósito para el cual se necesitan los resultados, la matriz que se va a analizar, el límite de detección requerido, la experiencia y la infraestructura disponible.

Las técnicas utilizadas deben ser exactas, precisas, reproducibles, fácilmente aplicables en la rutina de los laboratorios y, en la medida de lo posible, económicas.

Para el control oficial e implementación de los reglamentos de micotoxinas han sido validados numerosos métodos oficiales, mediante estudios de colaboración interlaboratorios, llevados a cabo bajo el control de organismos internacionales como la AOAC Internacional (Association of Official Analytical Chemists). Al mismo tiempo, el Comité Europeo de Normalización (CEN) ha publicado los criterios para el método de análisis de micotoxinas (Shephard, 2008).

Para analizar una muestra son necesarias las siguientes etapas:

- a) Preparación de la muestra.
- b) Extracción/Purificación/Concentración.
- c) Cuantificación/ Confirmación.

a) Preparación de la muestra

Las micotoxinas se encuentran distribuidas de manera heterogénea en los alimentos, por ello la matriz debe someterse a un proceso de homogenización consistente en una trituración fina y en la mezcla cuidadosa de cada submuestra o muestra de laboratorio. Se recomienda el proceso de trituración y homogenización en mojado, que suele conducir a una pasta más homogénea que la que se puede obtenerse en seco. Por regla general

se realiza mediante homogenizadores de cuchilla de alta velocidad o con agitadores de vaivén.

Las micotoxinas están presentes naturalmente en cantidades de $\mu\text{g}/\text{Kg}$ a mg/Kg en una amplia gama de diversas y complejas matrices de alimentos, de las cuales deben ser extraídas.

b) Extracción/Purificación/Concentración

La extracción se lleva a cabo con disolventes de polaridad variable: metanol, acetona, diclorometano solos o combinados a veces con agua y/ o pequeñas cantidades de ácidos. La selección del método de extracción depende de la estructura de la micotoxina y la matriz de donde se va extraer (Turner *et al.*, 2009), y dado que con la primera extracción se arrastran numerosos compuestos interferentes, es necesario llevar a cabo algún tipo de purificación o limpieza (clean-up).

Las principales técnicas de extracción- purificación son:

b.1 Extracción líquido-líquido (ELL).

b.2 Extracción en fase sólida (EFS).

b.3 Extracción asistida por microondas (EAM)

b.4 Extracción líquida presurizada (ELP)

b.1 Extracción líquido-líquido (ELL)

Se utiliza principalmente para alimentos líquidos donde se realiza conjuntamente la extracción y la purificación. Consiste en aprovechar la diferente solubilidad de la toxina en la fase acuosa y en la fase inmiscible orgánica para extraer el compuesto en un disolvente, dejando el resto de la matriz en la otra. El procedimiento es eficaz para varias toxinas. Sin embargo esta técnica es muy poco específica, requiere mucho tiempo, utiliza grandes vo-

lúmenes de solventes orgánicos y puede generar problemas de contaminación del material de laboratorio con las posibles pérdidas de muestra por adsorción en el material de vidrio (Shephard, 2008). Además, es difícil de automatizar.

b.2 Extracción en fase sólida (EFS)

La EFS es, con mucho, la técnica más popular usada en análisis de rutina de las micotoxinas. Esta técnica consiste en extraer las micotoxinas disueltas en una matriz a través de un soporte sólido previamente acondicionado donde quedan retenidas y posteriormente se eluyen al adicionar el disolvente y se concentran. La elección de la fase sólida depende de la polaridad de las micotoxinas y del tipo de matriz.

Supone ciertas ventajas en comparación con a ELL, como por ejemplo que utiliza mucho menos solvente y es más rápida en la operación. Además de la limpieza de la muestra, también se puede utilizar para pre-concentrar la muestra, proporcionando mejores resultados en la detección. Esta técnica presenta un amplio uso y es una parte integral de la extracción de muchos protocolos de detección (Turner *et al.*, 2009). Esta técnica se ha utilizado en la extracción y limpieza de las muestras de micotoxinas: OTA en vino (Chiodini *et al.*, 2006, Fabiani *et al.*, 2010), OTA en salsa de soja (Blesa *et al.*, 2004) y OTA en cereales (González *et al.*, 2006).

Dentro de la extracción en fase sólida encontramos distintos tipos de extracción:

b.2.1 Extracción en fase sólida convencional.

b.2.2 Dispersión de matriz en fase sólida.

b.2.3 Microextracción en fase sólida.

b.2.4 Con columnas de intercambio iónico.

b.2.5 Extracción con columnas de inmunofinidad (CIA).

b.2.1 Extracción en fase sólida convencional

Esta técnica consiste en extraer las micotoxinas disueltas en una matriz acuosa al atravesar un soporte sólido localizado en un cartucho de EFS previamente acondicionado. El mecanismo general de esta purificación es la adsorción física de la toxina, posteriormente se efectúan procedimientos de lavado del cartucho para retirar las impurezas que sean posibles sin pérdida de la sustancia analizada y finalmente la completa elución del analito del cartucho de EFS. Los materiales de relleno son en su mayoría a base de partículas de sílice (Shephard, 2009).

b.2.2 Dispersión de matriz en fase sólida (DMFS)

Se dispersa la muestra a analizar en una fase sólida comercial como octadecilsilice (C18), octilsilice (C8), etc. hasta conseguir una muestra homogénea que se introduce en una columna de vidrio a la que se le puede añadir una fase sólida de diferente polaridad para purificar simultáneamente la muestra. Las micotoxinas se eluyen de la dispersión utilizando diferentes disolventes orgánicos. La dispersión de la matriz en fase sólida permite simultanear la extracción y limpieza. Esta técnica ha sido aplicada en Rubert *et al.* (2012) en la multi-determinación de micotoxinas en alimentación infantil.

b.2.3 Microextracción en fase sólida (MEFS)

La microextracción en fase sólida consiste en la absorción de las micotoxinas sobre una fase absorbente emplazada en el extremo de un microjeringuilla modificada, las cuales se desorben posteriormente en un inyector de

gases o de líquidos. La principal ventaja de esta técnica es que no se utilizan disolventes y no requiere mano de obra, pero necesita tiempos largos; es reproducible pero no necesariamente cuantitativa y para cada alimento debe estudiarse los efectos de la matriz.

La MEFS ha sido utilizada para la detección de OTA en grano de café verde utilizando polidimetilsiloxanodivinilbencen (PDMS/DVB), interconectado con cromatografía líquida con detección por fluorescencia (CL-DF) en Vatinno *et al.* (2008) y también se ha aplicado en la determinación de OTA en muestras de vino en Aresta *et al.* (2006).

b.2.4 Extracción con columnas de intercambio iónico (CII)

Los procesos de intercambio iónico se basan en el equilibrio de intercambio entre los iones de una *disolución* y los iones del mismo signo que están en la superficie de un *sólido* de elevada masa molecular y esencialmente insoluble. Los rellenos de columna están formados generalmente de partículas grandes (30 a 40 μm) esféricas no porosas. Sobre la superficie de las esferas se deposita una capa delgada y porosa de sílice recubierta con una resina sintética de intercambio iónico. Los sitios activos más comunes de intercambiadores catiónicos son los grupos sulfónico $-\text{SO}_3-\text{H}$ (ácido fuerte) y carboxílico $-\text{COO}-\text{H}$ (ácido débil). Los intercambiadores aniónicos contienen grupos amino terciario $\text{N}(\text{CH}_3)_3+\text{OH}$ (base fuerte) o grupos amino primarios $-\text{NH}_3+\text{OH}$ (base débil).

Esta técnica se emplea cuando la micotoxina se encuentra en forma ionizada (por ejemplo fumonisinas y OTA) y para ello tiene un papel importante la regulación del pH del medio. La retención se basa en atracción electrostática de un grupo funcional con carga de la toxina con un grupo cargado de la superficie de sílice de relleno de columna. Otros componentes del extracto, con la misma carga que la toxina, pueden interferir en la adsorción,

reduciendo la selectividad de la columna. Para la elución de la toxina se ha de romper la unión analito-columna mediante la adición de una solución iónica fuerte o por la alteración del pH. Esta técnica ha sido utilizada para detección de las FB1 y FB2 en muestras fisiológicas y también en productos a base de maíz (Marina Martins *et al.*, 2008).

b.2.5 Extracción con columnas de inmunoafinidad (CIA)

La CIA contiene anticuerpos anti-micotoxinas, que están inmovilizados en un soporte sólido como el gel de agarosa en tampón fosfato, todo ello está situado en un cartucho de plástico. Las micotoxinas se unen específicamente a los anticuerpos presentes en la columna, mientras que los restos de los compuestos no pueden hacerlo. Mediante un líquido de lavado se eliminan las posibles impurezas y por último un disolvente que pasa a través de la columna, desnaturaliza el anticuerpo permitiendo la elución de las micotoxinas (Zheng *et al.*, 2006). La principal ventaja de esta técnica es su elevada especificidad, requiere extractos iniciales pocos limpios, ofrece altas recuperaciones y pureza de los extractos. Como desventajas encontramos su alto precio, no son reciclables y resulta necesario que se desarrollen anticuerpos para una toxina determinada. Actualmente han sido combinados diferentes anticuerpos en una sola columna permitiendo la extracción y purificación simultánea de más de una micotoxina con una sola muestra (Shephard, 2009).

En el mercado se comercializan columnas de inmunoafinidad específicas para las diferentes micotoxinas, que se emplean en tándem con otras columnas para garantizar la limpieza de una variedad de matrices. Estas columnas han sido utilizadas por Blesa *et al.* (2004) para determinar OTA salsa de soja y en la extracción de tricotecenos en matrices de maíz (Lattanzio *et al.*, 2009).

b.3 Extracción asistida por microondas (EAM)

Esta técnica se basa en la absorción de la energía de microondas por el disolvente y la muestra, produciéndose un incremento de la temperatura que facilita la difusión de los compuestos desde la matriz al disolvente (Pallaroni & Von Holst, 2003).

La EAM se puede utilizar para extracción simultánea de varias muestras con buena recuperación del analito, en menos tiempo que la extracción por agitación. Esta técnica ha sido desarrollada para la extracción de la zeaxantina en trigo y maíz seguido de cromatografía líquida (CL) con detector de masas (EM) y con ionización química a presión atmosférica (IQPA) (Pallaroni *et al.*, 2002).

b.4 Extracción líquida presurizada (ELP)

La ELP consiste en incluir una muestra sólida en una celda de extracción y su posterior cerrado. La celda se llena con un disolvente de extracción. Bajo condiciones estáticas (tiempo estático), el disolvente se somete, en la celda, bajo condiciones de temperatura y presión constantes por períodos cortos de tiempo (5-10 min); este paso es también denominado *un ciclo*. Esto permite el contacto entre el solvente y la muestra para la extracción eficiente. Cuando ha terminado el ciclo se hace pasar solvente limpio a través de la celda y el gas comprimido se utiliza para purgar el extracto de la muestra de la celda en un recipiente de recolección.

Es posible una extracción rápida gracias al uso de altas temperaturas y presiones para mantener el disolvente en estado líquido. Esto mejora la eficiencia en comparación con extracciones a temperatura ambiente y presión atmosférica (Juan *et al.*, 2005). La ELP presenta como ventajas un tiempo de extracción corto, el uso de bajo volumen de disolvente (ecológico)

y su alto nivel de automatización. Además este método permite la extracción de los analitos sin purificación, reducir las pérdidas de analito durante la manipulación de la muestra y los costes de material y de mano de obra. Recientemente, la ELP se ha utilizado para determinar micotoxinas en los alimentos, OTA en cereales para el desayuno y papillas infantiles (Zinedine *et al.*, 2010a), la determinación de zearalenona en harina (Pérez-Torrado *et al.*, 2010), fumonisinas en los alimentos infantiles a base de maíz (D'Arco *et al.*, 2008) y las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en los frutos secos (Carnpone *et al.*, 2009).

c) Cuantificación/ Confirmación

Para la cuantificación y confirmación de micotoxinas se utilizan generalmente técnicas cromatográficas, como la cromatografía líquida (CL) y la cromatografía de gas (CG) acopladas a diferentes detectores.

c.1. Electroforesis capilar (EC)

La EC se basa en la migración de las moléculas polares en un capilar en cuyo interior fluye una disolución tampón cuando se le aplica una corriente eléctrica. La migración de un ión depende de la carga/tamaño; el tamaño depende del peso molecular, de la estructura tridimensional y del grado de solvatación.

Las dos versiones más ampliamente utilizadas de esta técnica son la electroforesis capilar de zona (ECZ) que utiliza un tampón simple y la cromatografía electrocinética micelar (MECK) en la que se añade un tampón tenso activo que forma micelas. La MECK es la más usada en determinación de micotoxinas. Las aflatoxinas se han pre-concentrado en muestras de arroz con MECK para su posterior detección con láser con fluorescencia inducida (Arroyo-Manzanares *et al.*, 2010). Murillo-Arbizu *et al.* (2009) determinaron

patulina en zumo. González-Peñas *et al.* (2006) determinaron OTA con EC con detector de diodos.

Este método es sensible y rápido y evita los inconvenientes de la derivación requerida en otras técnicas, también supone un ahorro de disolventes. Pero una de las principales limitaciones de esta técnica es el hecho de que no se pueden alcanzar bajos límites de detección debido a la pequeña cantidad de muestra que puede ser introducida en el capilar. La introducción del láser para la detección combinado con la derivatización de la micotoxinas ha permitido bajar estos límites de detección.

Por ejemplo el método de EC-láser fluorescencia inducida es capaz de detectar ZEA en maíz hasta límites de 5µg/Kg por adición de una ciclodextrina que mejora la fluorescencia natural de la zearalenona (Maragos & Appell, 2007).

c.2. Cromatografía gaseosa (CG)

La CG es una técnica de detección basada en la separación de compuestos en función de su volatilidad y su afinidad por la fase estacionaria.

Esta técnica se ha desarrollado poco en el campo de las micotoxinas debido a que la mayoría no son volátiles (hay que derivatizarlas) y como consecuencia de la gran implantación de otras técnicas alternativas. Para derivatizar las micotoxinas se emplean reacciones químicas tales como siliación o polifluoroacilación con el fin de obtener un material volátil. (Turner *et al.*, 2009). Normalmente, el sistema está vinculado a otros detectores como la EM.

El principal grupo de toxinas analizadas por CG son los tricotecenos porque: carecen de propiedades fluorescentes, no absorben en la banda de UV y presentan facilidad para formar trimetilsilil o heptafluorobutil que son

derivados volátiles (Lattanzio *et al.*, 2009).

La CG presenta como principales inconvenientes que las muestras que deben ser analizadas han de ser volátiles y que ocasionalmente se pueden producir pérdidas de muestra, por vaporización, cuando entra en contacto con las zonas calientes de la inyección.

c.3. Cromatografía Líquida (CL)

La CL es una de las técnicas más ampliamente utilizadas en el análisis de micotoxinas. La primera publicación sobre aplicación de CL en el análisis de estos contaminantes data del 1973 (Rao & Anders, 1973). Entre las ventajas más importantes que presenta esta técnica se encuentra la posibilidad de separar sustancias termolábiles, no volátiles, polares y apolares con aceptable resolución entre sustancias químicamente similares de manera rápida y reproducible.

Se distinguen dos tipos de CL: de fase normal y de fase reversa, en ambas la fase estacionaria se soporta sobre partículas de sílice o aluminio de 3,5 o 10 µm. En *fase normal*, la fase estacionaria es polar (grupos ciano, amino y diol) y la fase móvil no polar (hexano o iso-propiléter). En la *fase reversa*, la fase estacionaria es no polar y la fase móvil polar (agua, metanol, o acetonitrilo). En fase normal, el componente *menos* polar es el que eluye primero y en fase inversa el componente *más* polar es el primero en eluir.

Actualmente, aunque las mezclas de aflatoxinas se pueden separar con columnas de fase normal, las columnas en fase reversa han sustituido a las primeras.

Los detectores utilizados en micotoxinas son: UV, fluorescencia y otras técnicas como la EM. La detección con UV ha sido universalmente aplicada. Micotoxinas como la patulina (máxima longitud de onda de 276 nm), deoxi-

nivalenol (máxima longitud de onda de 219 nm) y moniliformina (longitud de onda máximo de 229 nm), han sido cuantificados con UV. Sin embargo, el detector de UV es poco selectivo dado que muchas moléculas absorben a la misma longitud de onda que las micotoxinas. Con fluorescencia se mide la luz emitida, y no la absorbida como en el caso de UV, permitiendo alcanzar límites de detección más bajos y además el número de interferencias es menor. No obstante, a pesar de que este detector es más selectivo, solo es aplicable a aquellas micotoxinas que poseen fluorescencia natural o que se han sufrido un derivatización. Zinedine *et al.*, (2010a) analizaron OTA en cereales para el desayuno y papillas infantiles con ELP y la CL con detección por fluorescencia.

En los últimos años se han producido importantes mejoras en el acoplamiento CL/EM dando como resultado la disponibilidad de nuevas metodologías para el análisis rutinario de micotoxinas. CL-EM proporciona un método de detección independiente de la formación de derivados químicos o de la absorción de UV o de propiedades fluorescencia de la molécula.

El uso de la ionización a presión atmosférica (IPA), las técnicas de electrospray o electronebulización (ESI) e APCI, junto con los analizadores de masas cuadrupolar permiten análisis cualitativos y cuantitativos con CL-EM.

Silva *et al.* (2009) presentaron un estudio comparativo de los tres detectores: fluorescencia (FD), EM, EM/EM con analizador triple cuadruplo (QqQ) para el análisis de las fumonisinas en los alimentos a base de maíz por CL, observando que CL-EM/EM proporcionaba mayor sensibilidad en comparación con los otros detectores y que era una técnica más precisa y exacta. Además los cromatogramas CL-FD presentaban picos de interferencia y era necesaria la derivatización del extracto antes del análisis.

D'Arco *et al.* (2008) proponen el uso de ELP antes de la inyección en

sistema de CL-ESI-EM/EM con un QqQ como procedimiento para el análisis de trazas de las FB1, FB2 y FB3 en comida para bebés a base de maíz, sin necesidad de pasos de limpieza, considerando este método, no solo una técnica que aporta información estructural, facilita identificación del compuesto y cuantificación de analitos, sino un procedimiento sencillo, rápido de análisis de estas micotoxinas y con un bajo consumo de disolvente.

Actualmente la CL-EM/EM es la técnica de elección en la determinación simultánea de grupos de micotoxinas, debido a su versatilidad, la especificidad y selectividad (Rubert *et al.*, 2012). El método Sulyok *et al.* (2006) de CL-EM/EM para la determinación de 39 micotoxinas fue mejorado por Berthiller *et al.* (2007) permitiendo la detección y cuantificación de cerca de 90 micotoxinas y algunos metabolitos de origen natural.

Romagnoli *et al.* (2010) determinaron simultáneamente el deoxinivalenol, zearalenona, T-2 y las toxinas HT-2 en cereales para el desayuno y comida para bebés con CIA combinadas con CL y EM/EM, consiguiendo una alta selectividad, límites bajos de detección y la separación de una amplia gama de moléculas con diferentes propiedades físico-químicas en una única prueba.

En el estudio presentado por Mahnine *et al.* (2011) se identificaron y cuantificaron micotoxinas emergentes por cromatografía con detección de diodos (DAD). Las muestras positivas fueron confirmadas por CL-EM/EM.

1.7.3.2. Técnicas de exploración o screening

Los métodos análisis rápidos deben ser baratos, fáciles de usar y de transportar. Deben permitir determinar la efectividad de las medidas adoptadas en seguridad alimentaria, reduciendo el coste y el tiempo empleado. Son métodos que proporcionan resultados cualitativos y semicuantitativos y se recomiendan para realizar muestreos.

1.7.3.2.1. Inmunoensayos

a. Enzima inmunoensayo (ELISA)

La técnica ELISA se utiliza comúnmente en el análisis de micotoxinas y se basa en la reacción antígeno-anticuerpo; pueden ser competitiva directa o indirecta (Shephard, 2008). Ambas presentan sus ventajas y sus inconvenientes, pero la indirecta es más económica y generalmente más sensible (Turner *et al.*, 2009).

Actualmente en el mercado existen kits de ELISA cuyas principales ventajas son los bajos requerimientos de volumen de muestra, la rapidez, simplicidad, especificidad, sensibilidad y que son portátiles, permitiendo su uso en el campo para la detección de micotoxinas en alimentos y piensos. Uno de los inconvenientes es el efecto matriz, compuestos similares pueden interactuar con los anticuerpos, lo que provoca subestimaciones y sobreestimaciones de las micotoxinas (Zheng *et al.*, 2006).

b. Inmunoensayo basados en Membrana

b.1. Inmunoensayo del Flujo a través

Se basa en el principio de ELISA competitivo directo. La superficie de la membrana está recubierta por anticuerpos anti-micotoxinas. Las micotoxinas y el conjugado micotoxina-enzima compiten por sitios de unión del anticuerpo. Este método es rápido, fácil de usar y es adecuado para las pruebas de micotoxinas en el campo, no requiere equipo ni personal cualificado para su aplicación. La principal desventaja es que los resultados obtenidos son semi-cuantitativos (Zheng *et al.*, 2006).

b.2. Dispositivo de flujo lateral (DFL)

La aplicación de la prueba inmunocromatográfica o prueba de flujo lateral

en el análisis de micotoxinas es muy reciente. En esta prueba los reactivos fluyen longitudinalmente a través de la membrana en lugar de perpendicularmente a la membrana. El DFL está disponible para la mayoría de las principales micotoxinas como las aflatoxinas, fumonisinas, DON, OTA, toxina T-2, y ZEN (Maragos & Busman, 2010).

Es una técnica fácil, muy rápida, pero sólo puede ofrecer resultados semicuantitativos, por lo que la concentración de micotoxinas exacta debe ser confirmada por un método de referencia (Zheng *et al.*, 2006).

b.3. Inmunoensayo de polarización por fluorescencia (IPF)

El IFP está basado en la competencia por anticuerpos específicos de micotoxinas entre las micotoxinas presentes en la muestra estudiada y las micotoxinas conjugadas con marcador de fluoresceína. La polarización, que es una medida de la orientación de la emisión de fluorescencia, es inversamente proporcional a la concentración micotoxinas libres presentes. Esta técnica no requiere un paso de lavado y no requieren la espera de una reacción enzimática para el desarrollo del color. Esta técnica ha sido desarrollada para la mayoría de micotoxinas (Maragos & Busman, 2010).

El IPF combinado con la EFS de purificación se ha utilizado para la detección de la OTA en el vino tinto, proporcionando una herramienta útil, rápida y menos costosa que otros inmunoensayos (Zezza *et al.*, 2009).

1.7.3.2.2. Biosensores

Un biosensor se define como un dispositivo de análisis formado por un elemento de reconocimiento biológico (tejido, células, ácido nucleico, enzima, anticuerpo, receptor, etc.) o biomimético (polímeros de impresión molecular (PIMs), aptámeros) asociado a un sistema de transducción que permite detectar y procesar la señal producida por la interacción entre el

elemento de reconocimiento y el analito. Como resultado de esta unión se produce la variación de las propiedades físico-químicas, eléctricas u ópticas, entre otras, que detecta el transductor. Este sistema transforma la respuesta del elemento de reconocimiento en una señal electrónica indicativa de la presencia del analito sometido a estudio y proporcional a su concentración en la muestra. Las características físico-químicas del analito son determinantes en la elección del material biológico/ biomimético, mientras que el tipo de elemento de reconocimiento es el que determina el transductor. Estos dispositivos pueden clasificarse atendiendo a las siguientes variables: tipo de interacción que se establece entre el elemento de reconocimiento y el analito, método utilizado para detectar dicha interacción, elemento de reconocimiento y sistema de transducción (Jiménez & León, 2009).

a. Elementos de reconocimiento

Entre los principales elementos de reconocimiento encontramos sensores de bioafinidad: anticuerpo, ácidos nucleicos, PIMs, ácido nucleico peptídico, aptámero, y sensores biocatalíticos como las enzimas.

Los PIMs son matrices sintetizadas artificialmente con la propiedad de unirse selectivamente a un compuesto químico determinado. Esta propiedad tiene su origen en el proceso de polimerización que se realiza en presencia de la especie química a reconocer, que hace de molde o plantilla (template) a escala molecular, modulando la propagación de la cadena polimérica. Después de la polimerización se extrae la plantilla, mediante distintas técnicas, dejando libres unos sitios de reconocimiento específicos a este compuesto, de forma que al poner una muestra con ese compuesto en presencia del polímero, este puede unirse de manera selectiva a los sitios de reconocimiento (Maragos, 2009).

Actualmente se utilizan plantillas con grupos funcionales y característi-

cas similares a las toxinas. Los PIMs se han utilizado en estudios de OTA en los vinos tintos (Wei *et al.*, 2007), en OTA en trigo (Yu & Lai, 2005) y ZEA y α -zearalenol en cereales y pienso de la especie porcina (Urraca *et al.*, 2006). De Smet *et al.* (2010) desarrollaron por primera vez con éxito un polímero impreso selectivo de la toxina T-2 como alternativa excelente para la limpieza de las muestras de alimentos contaminados. El rendimiento del PIMs era comparable con otras técnicas: polímero no impreso, columnas de inmunoafinidad (CIA) y columnas OASIS® HLB. Los PIMs, además de presentar mayor selectividad hacia la toxina T-2, permitían su utilización múltiple, reduciendo el coste y consiguiendo límites de detección bajos.

Por tanto, los PIMs, gracias a las ventajas que ofrecen de bajo coste, robustez y estabilidad a lo largo de periodos de almacenamiento, suponen una alternativa para la limpieza y pre concentración de las muestras que contienen micotoxinas. Y, al no sufrir de degradación y bioactividad, pueden ser especialmente diseñados para integrarse en un dispositivo de detección (Prieto-Simón *et al.*, 2007).

b. Transductores

La naturaleza de la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito constituye el factor determinante para la selección del sistema de transducción. Entre los sistemas de transducción más frecuentes están los ópticos y piezoeléctricos.

b.1. Transductor Óptico

Los transductores ópticos se basan en la medición de las variaciones que se producen en las propiedades de la luz como consecuencia de la interacción física o química entre el analito a detectar y el elemento biológico de reconocimiento del biosensor. Los transductores que tienen propiedades ópticas son muy variados, entre estos destacan los sensores de fibra óptica,

sensores de resonancia de plasmones y sensores de onda evanescente (Jiménez & León, 2009).

b.1.1. Sensor de fibra óptica

Consiste en una fibra óptica en uno de cuyos extremos se inmoviliza el elemento de reconocimiento, que puede ser de tipo biocatalítico o de bioafinidad (anticuerpos), y en el otro el elemento de detección. Es necesaria la utilización de marcadores que pueden ser indicadores ópticamente activos, como los colorantes sensibles al pH, a las moléculas fluorescentes y, en menor medida, moléculas bio o quimioluminiscentes. Como consecuencia de la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento se produce un cambio detectable en el marcador que se propaga por la fibra óptica hacia el detector. Las ventajas de este método son: una alta especificidad, monitoreo en tiempo real, sin embargo, la técnica puede tener limitaciones en la sensibilidad (Zheng *et al.*, 2006).

b.1.2. Sensor resonancia de plasmones superficiales (RPS)

Los plasmones son oscilaciones colectivas de los electrones de conducción de un metal (oro o plata) ante la exposición a un haz de luz polarizada y la medición del ángulo de resonancia. La unión de los analitos al elemento de reconocimiento supone un cambio de índice de refracción sobre la superficie del metal y, como consecuencia, un desplazamiento del ángulo de resonancia. Este ángulo de resonancia es proporcional a la concentración del analito (Jiménez & León, 2009).

Esta técnica se ha desarrollado para el análisis de AFB₁ y permite determinación de niveles bajos como 0,6 pg/ml de AFB₁ en la leche (Wang *et al.*, 2009). También se han detectado diferentes micotoxinas simultáneamente: la AFB₁, ZEA, OTA, FB₁ y DON (Van der Gaag *et al.*, 2003).

Entre las ventajas de este método se encuentran: alta sensibilidad, reutilización del chip de metal, la necesidad de volumen muy pequeño de la muestra y facilidad de usar (Prieto-Simón *et al.*, 2007). Y como desventaja se encuentra el alto coste de los equipos (Maragós & Busman, 2010).

1.8. LEGISLACIÓN ACTUAL

A final del año 2003, aproximadamente 100 países (cubriendo aproximadamente el 85% de la población del mundo) tenían regulaciones específicas o directrices detalladas para las micotoxinas en alimentos (Van Egmond *et al.*, 2007).

1.8.1. Legislación relativa a los niveles máximos de micotoxinas en productos alimenticios

Actualmente en la UE existen las siguientes disposiciones de directa aplicación donde se recogen los niveles máximos admitidos para cada tipo de micotoxina: Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la Comisión, de 19 de Diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Modificado por el Reglamento (UE) nº 1126/2007, de la Comisión, de 28 de Septiembre de 2007, que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de *Fusarium* en el maíz y los productos del maíz. El Reglamento (UE) nº 105/2010 de la Comisión, de 5 de febrero de 2010, que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a la OTA. El Reglamento (UE) nº 165/2010 de la Comisión, de 26 de febrero de 2010, que modifica el Reglamento (CE) nº 1886/2006 en lo que respecta a las aflatoxinas. El Reglamento (UE) nº 594/2012 de

la Comisión, de 5 julio de 2012, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1886/2006 en lo concerniente a los contenidos máximos de los contaminantes OTA, PCBs no similares a dioxinas y melamina en los productos alimenticios. Y el Reglamento (UE) nº 1058/2012 de la Comisión de 12 de noviembre de 2012 por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de aflatoxinas en los higos secos. Este Reglamento incluye en la sección 2 de su anexo el contenido máximo de las micotoxinas: Aflatoxinas, OTA, PAT, DON, ZEA y Fumonisina.

1.8.1.1. Niveles de aflatoxinas en alimentación humana

El Reglamento (CE) nº 1881/2006 ha sido modificado por Reglamento (UE) 165/2010 de la Comisión de 26 de febrero de 2010 y por el Reglamento (UE) nº 1058/2012, fijando el contenido máximo de aflatoxinas en nuevos alimentos de consumo humano:

- Semillas oleaginosas.
- Frutos de cáscara arbóreos: donde distingue tres grupos:
 - Almendras, pistachos y huesos de albaricoque.
 - Avellana y nueces del Brasil.
 - Otros: anacardo, nuez y pacanas.
- Frutos secos de suelo: cacahuetes.
- Frutas pasas y otras frutas desecadas.
- Higos secos.
- Arroz.

La principal modificación, recogida en la Tabla 13, supone un aumento del contenido máximo permitido para aflatoxinas; la legislación es más

permisiva tanto en Aflatoxina B1 como en aflatoxinas totales, permitiendo contenidos más elevados en productos no destinados al consumo humano directo o utilizados como ingrediente de producto alimenticios que en productos destinados al consumidor final.

Tabla 13. Contenidos máximos de aflatoxinas en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)

Productos alimenticios		Contenidos máximos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
		B ₁	Σ B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	M ₁
1	Cacahuets y otras semillas oleaginosas que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios, con la excepción de: los cacahuets y otras semillas oleaginosas que vayan a molerse para la producción de aceite vegetal refinado.	8	15	---
2	Almendras, pistachos y huesos de albaricoque que vayan a someterse a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	12	15	---
3	Avellanas y nueces del Brasil que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	8	15	---
4	Frutos de cáscara arbóreos, salvo los indicados en los puntos 2 y 3, que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios	5	10	---
5	Cacahuets y otras semillas oleaginosas y sus productos transformados destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes en los productos alimenticios, con la excepción de aceites vegetales crudos destinados a ser refinados y aceites vegetales refinados.	2	4	---
6	Almendras, pistachos y huesos de albaricoque destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios	8	10	---
7	Avellanas y nueces del Brasil destinadas al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios.	5	10	---
8	Frutos de cáscara arbóreos, distintos de los indicados en los puntos 6 y 7, y sus productos transformados destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios.	2	4	---

Tabla 13. Contenidos máximos de aflatoxinas en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)

Productos alimenticios		Contenidos máximos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		
		B_1	$\Sigma B_1, B_2, G_1, G_2$	M_1
9	Frutas desecadas, distintas de los higos secos, destinadas a ser sometidas a un proceso de selección u otro tratamiento físico, antes del consumo humano o de su uso como ingredientes de productos alimenticios	5	10	---
10	Frutas desecadas, distintas de los higos secos, y productos derivados de su transformación, destinadas al consumo humano directo o a ser usados como ingredientes en los productos alimenticios.	2	4	---
11	Todos los cereales y todos los productos a base de cereales, incluidos los productos de cereales transformados, salvo los productos alimenticios indicados en los puntos 12, 15 y 17	2	4	---
12	Maíz y arroz que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	5	10	---
13	Leche cruda, leche tratada térmicamente y leche para la fabricación de productos lácteos.	---	---	0,05
14	Los siguientes tipos de especias: <i>Capsicum</i> spp. (frutas pasas de dicho género, enteras o molidas, con inclusión de los chiles, el chile en polvo, la cayena y el pimentón) <i>Piper</i> spp. (frutos de dicho género, con inclusión de la pimienta blanca y negra) <i>Myristica fragrans</i> (nuez moscada) <i>Zingiber officinale</i> (jengibre) <i>Curcuma longa</i> (cúrcuma) Mezclas de especias que contengan una o varias de estas especias.	5	10	---
15	Alimentos a base de cereales transformados y alimentos para lactantes y niños de corta edad	0,10	---	---
16	Preparados para lactantes y preparados de continuación, incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación.	---	---	0,025
17	Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes	0,10	---	0,025
18	Higos secos.	6	10	---

En almendras, pistachos y huesos de albaricoque se establecen los niveles más elevados en producto destinado a consumo directo (AFB₁ 8 µg/Kg y AF t.10 µg/Kg), seguido de los higos secos (AFB₁ 6 µg/Kg y AF t.10 µg/Kg) y las avellanas y nueces del Brasil (AFB₁: 5 µg/Kg y AFt 10 µg/Kg). Mientras que los niveles más restrictivos se establecen en cacahuetes, resto de frutos de cáscara y en frutas pasas (en todos ellos: AFB₁ 2 µg/Kg y AF t. 4 µg/Kg).

La Comisión Técnica Científica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria ha adoptado estos criterios en base a la información disponible en el 2007, considerando que dicho aumento tendrá efectos mínimos en la estimación sobre la exposición alimentaria, el riesgo de cáncer y los márgenes de exposición calculada. No obstante, la exposición a las aflatoxinas debe ser lo más baja posible por su naturaleza genotóxica y cancerígena. Además, se puede alcanzar una reducción de la exposición alimentaria a aflatoxinas disminuyendo el número de alimentos contaminados que llegan al mercado.

Se han legislado los niveles de las semillas oleaginosas y sus productos derivados porque contribuyen en gran medida a la exposición humana a las aflatoxinas.

El arroz sin descascarillar suele tener contenidos de aflatoxinas ligeramente superiores a los contenidos máximos. Después de molerlo, proceso que elimina la gluma, los contenidos de aflatoxinas del arroz blanco molido son inferiores a los contenidos máximos establecidos. Por tanto, procede establecer un contenido máximo de AFB₁ y un contenido máximo total de aflatoxinas con respecto al arroz que vaya a someterse a un proceso de selección o a otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingrediente en productos alimenticios.

1.8.1.2. Niveles de ocratoxinas en alimentación humana

En la Tabla 14 se muestran los valores de OTA en los alimentos. Sobre la base de la información disponible, no se considera necesario establecer un contenido máximo de OTA en los frutos secos distintos de las uvas pasas, el cacao y productos del cacao, los productos cárnicos y vinos de licor, ya que no contribuyen significativamente a la exposición de la OTA y rara vez se ha encontrado un contenido elevado de OTA en esos productos. En el caso del café verde y de la cerveza, la presencia de OTA ya se controla en otra fase más adecuada de la cadena de producción.

En especias y regaliz, en diversas ocasiones, se ha observado un contenido muy elevado de OTA. Por ello, se ha considerado adecuado establecer un contenido máximo para estos productos modificándose, en consecuencia, el Reglamento (CE) nº 1881/2006, con el Reglamento (UE) nº 105/2010 y con el Reglamento (UE) nº 594/2012 de la Comisión, de 5 julio de 2012, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1886/2006, en lo concerniente a los contenidos máximos de la OTA, PCBs no similares a dioxinas y melamina en los productos alimenticios, aplazándose la aplicación del menor contenido máximo en el caso del *Capsicum ssp*, permitiendo hasta el 31/12/2014 el valor de 30 µg/Kg y se ha añadido el valor del gluten de trigo destinado a la venta directa.

Tabla 14. Contenidos máximos de OTA en productos alimenticios (µg/kg)

Productos alimenticios		Contenidos máximos (µg/kg)
1	Cereales no elaborados.	5
2	Todos los productos derivados de cereales no elaborados, incluidos los productos transformados a base de cereales y los cereales destinados al consumo humano directo a excepción de los productos alimenticios enumerados en los puntos 9, 10 y 13.	3

Tabla 14. Contenidos máximos de OTA en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Productos alimenticios		Contenidos máximos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
3	Uvas pasas (pasas Corinto, sultanas y otras variedades de pasas).	10
4	Café tostado en grano y café tostado molido, excluido el café soluble.	5
5	Café soluble (instantáneo).	10
6	Vino (incluidos los vinos espumosos y excluidos los vinos de licor y los vinos con un grado alcohólico mínimo de 15% vol.) y vino de frutas.	2
7	Vino aromatizado, bebidas aromatizadas a base de vino y cocteles aromatizados de productos vitivinícolas.	2
8	Zumo de uva, zumo de uva concentrado reconstituido, néctar de uva, mosto de uva y mosto de uva concentrado reconstituido, destinados al consumo humano directo.	2
9	Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.	0,5
10	Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes.	0,5
11	Espicias incluidas las desecadas: <i>Piper spp</i> (frutos de dicho género, con inclusión la pimienta blanca y negra) <i>Myristica fragans</i> (nuez moscada) <i>Zingiber officinale</i> (jengibre) <i>Cúrcuma longa</i> (cúrcuma) <i>Capsicum spp</i> (frutos de dicho género desecados, enteros o pulverizados incluidos chiles, chile en polvo la cayena y el pimentón) Mezclas de especias.	15 30 hasta 31.12.2014 y 15 a partir del 1.1.2015 15
12	Regaliz Raíz de regaliz ingrediente para infusiones Extracto de regaliz para uso alimentario.	20 80
13	Gluten de trigo no destinado a la venta directa al consumidor.	8

1.8.1.3. Niveles de patulina en alimentación humana

En la Tabla 15 se muestran los contenidos permitidos de PAT según el alimento.

Tabla 15. Contenidos máximos de patulina en los productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Productos alimenticios		Contenidos máximos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	Zumo de fruta, zumos de frutas concentrados reconstituido y néctar de frutas.	50
2	Productos sólidos elaborados a base de manzana incluidos la compota y el puré de manzana destinados al consumo directo a excepción de los productos alimenticios de los puntos 3,4.	25
3	Zumo de manzana y productos sólidos elaborados a base de manzanas, incluidos la compota y el puré de manzana, destinados a lactantes y niños de corta edad vendidos y etiquetados como tales.	10
4	Alimentos infantiles distintos a los elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad.	10
5	Bebidas espirituosas, sidra y otras bebidas fermentadas elaboradas con manzana o que contengan zumo de manzana.	50

1.8.1.4. Niveles de toxinas *Fusarium* en alimentación humana

Con el Reglamento (UE) nº 1126/2007 se producen modificaciones en el Reglamento 1881/2006 de carácter técnico. Este Reglamento afecta a las micotoxinas de *Fusarium*: DON, ZEA y fumonisinas.

En las tablas 16-18 se observan los niveles máximos de dichas micotoxinas en los distintos tipos de alimentos.

Se establece que el nivel máximo aplicado al maíz no transformado no es de aplicación a aquel maíz no elaborado destinado a su molienda por vía húmeda (producción de almidón), dado que existen datos científicos de que estas micotoxinas no se detectaron en el almidón de maíz, o solo a niveles desdeñables.

También se establecen diferentes límites máximos para las distintas frac-

ciones de molienda de maíz en seco (mayores y menores de 500 micras) debido a que los datos científicos demuestran que las fracciones de menor tamaño de partícula contienen un nivel más elevado de micotoxinas de *Fusarium* que las fracciones de mayor tamaño de partícula.

Tabla nº 16. Contenidos máximos de DON en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Productos alimenticios		Contenidos máximos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	Cereales no elaborados que no sean trigo duro, avena y maíz.	1250
2	Trigo duro, avena, no elaborados.	1750
3	Maíz no elaborado excepto el destinado a molienda por vía húmeda.	1750
4	Cereales destinados al consumo humano directo, harina de cereales, salvado y germen como producto final comercializado para el consumo humano directo, a excepción de los productos alimenticios enumerados en los puntos 7,8,9.	750
5	Pasta (seca)	750
6	Pan (incluidos pequeños productos de panadería) pasteles, galletas, aperitivos de cereales y cereales para desayuno.	500
7	Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.	200
8	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, clasificadas en los códigos NC 1103 13 u 1103 20 40, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10.	750
9	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula \leq 500 micras, clasificadas en los códigos NC 1103 13 u 1103 20 40, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula \leq 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10	1120

Tabla nº 17. Contenidos máximos de ZEA en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Productos alimenticios		Contenidos máximos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	Cereales no elaborados distintos al maíz.	100
2	Maíz no elaborado excepto el destinado a molienda por vía húmeda.	350
3	Cereales destinados al consumo humano directo, harina de cereales, salvado y germen como producto final comercializado para el consumo humano directo, a excepción de los productos alimenticios enumerados en los puntos 6,7,8,9, 10.	75
4	Aceite de maíz refinado.	400
5	Pan (incluidos pequeños productos de panadería) pasteles, galletas, aperitivos de cereales y cereales para desayuno, excluidos aperitivos de maíz y cereales para desayuno a base de maíz.	50
6	Maíz destinado al consumo humano directo, aperitivos de maíz y cereales para el desayuno a base de maíz.	100
7	Alimentos elaborados a base de cereales (excluidos los alimentos elaborados a base de maíz) y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.	20
8	Alimentos elaborados a base de maíz para lactantes y niños de corta edad.	20
9	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, clasificadas en los códigos NC 1103 13 u 1103 20 40, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10.	200
10	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 micras, clasificadas en los códigos NC 1103 13 u 1103 20 40, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10.	300

Tabla nº 18. Contenidos máximos de fumonisinas en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Productos alimenticios		Suma de B1 y B2
1	Maíz no elaborado, excepto el destinado a molienda por vía húmeda.	4 000
2	Maíz y alimentos a base de maíz destinados al consumo humano directo, a excepción de los productos alimenticios enumerados en los puntos 3 y 4.	1 000
3	Cereales para el desayuno a base de maíz y aperitivos de maíz.	800
4	Alimentos elaborados a base de maíz y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad.	200
5	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, clasificadas en los códigos NC 1103 13 u 1103 20 40, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10.	1400
6	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula < 500 micras, clasificadas en el código NC 1102 20, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula < 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10.	2000

1.8.2. Legislación sobre condiciones específicas para importación

Los niveles máximos de aflatoxinas establecidos en el Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la Comisión son superados frecuentemente en determinados productos alimenticios de algunos países. Tal contaminación constituye una amenaza grave para la salud pública en la Comunidad y, por lo tanto, conviene adoptar condiciones especiales a nivel comunitario. Por ello, la UE a través del Reglamento (CE) nº 1152/2009 de la Comisión establece condiciones específicas para la importación de determinados productos alimenticios de algunos terceros países debido al riesgo de contaminación de dichos productos por aflatoxinas, siendo necesario el empleo de un documento común de entrada para la notificación previa de llegada de remesas e información sobre los controles oficiales realizados.

1.9. ESTRATEGIAS PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE MICOTOXINAS

Para el control de la contaminación por micotoxinas es necesario un enfoque polifacético integrado. Las recomendaciones propuestas por el Codex sobre Aditivos y contaminantes (CCFACC) para prevenir la contaminación de alimentos por micotoxinas se agrupan en dos (FAO/OMS, 2012):

- Adopción de Buenas Practica Agrícolas (BPA) y de manufactura (BPM)
- Adopción de protocolos de elaboración de APPCC.

El sistema de APPCC identifica, evalúa y controla los peligros importantes para la inocuidad de los alimentos en la totalidad del sistema, desde el campo a la mesa. Se trata de un enfoque estructurado y sistemático que requiere un buen conocimiento de la relación causa-efecto con el objeto de actuar de manera dinámica. Y es un elemento clave de la calidad total. Este sistema APPCC se basa en la existencia de sistemas de gestión de calidad sólidamente implantados, como BPAs, buenas prácticas de almacenamiento (BPAL) y BPM (FAO 2003), y que implican tres tipos de controles: control pre-cosecha, control durante la cosecha y control post-cosecha y descontaminación.

1.9.1. Control pre-cosecha

El manejo adecuado de los cultivos se considera el mejor método de control de la contaminación por micotoxinas (Amezqueta *et al.*, 2009) e implica entre otras estrategias agronómicas (C.C.E., 2006b):

- Rotación de cultivos (es la manera más eficaz de reducir la contaminación).

- Empleo de variedades vegetales resistentes a los hongos.
- Planificación de cultivos: evitar condiciones climáticas que prolonguen maduración en campo.
- Gestión del suelo: arado y retirada de rastrojos.
- Reducción del estrés sufrido por las plantas (sequía, frío, falta de nutrientes) por medio de irrigación y fertilización de los campos.
- Control de insectos.
- Tratamientos con antifúngicos.

1.9.2. Control durante la cosecha

Supone efectuar la recolección cuando las condiciones de cosecha son óptimas (contenido de humedad de la materia prima adecuado), manteniendo el producto limpio y seco. El rápido secado de los productos agrícolas, para bajar los niveles de humedad, se considera un punto crítico cuyo control reduce las condiciones favorables de crecimiento y proliferación de hongos (Lanyasunya *et al.*, 2005).

También, es necesario disponer de equipos para cosechar que funcionen de manera adecuada y causar el menor daño mecánico al producto.

1.9.3. Control post-cosecha y descontaminación

Las estrategias post-cosecha (buenas prácticas de almacenaje y manufactura) y de descontaminación son fundamentales para garantizar productos seguros al consumidor. El control de la humedad y la temperatura de almacenamiento de los productos alimenticios determinan el grado de actividad fúngica (Bryden, 2007). Las prácticas de descontaminación incluyen tratamientos físicos, químicos y biológicos (He *et al.*, 2010). Su objetivo es

reducir o eliminar los efectos tóxicos de micotoxinas. Los métodos ideales de descontaminación debe ser fáciles de usar, económicos y no deben generar compuestos tóxicos o que alteren la calidad de otros parámetros del alimento como los nutrientes (Amezqueta *et al.*, 2009).

1.9.3.1. Descontaminación física

Limpieza, selección y separación de elementos extraños

Se produce mediante el cribado de los productos. Estos métodos pueden resultar muy efectivos para reducir el contenido de micotoxinas (Wagacha & Muthomi, 2008). En la UE está prohibida la dilución con productos no contaminados (Directiva 2002/32/EC).

Tratamientos térmicos

Aunque las micotoxinas son modernamente termoestables, se puede alcanzar un grado destrucción variable utilizando tratamientos térmicos con altas temperaturas. Muchos datos indican que la cocción, fritura, tostado, asado, la extrusión y el calentamiento por microondas producen reducción de los niveles de micotoxinas en diferentes alimentos, no obstante el efecto de estos procesos depende de las condiciones del tratamiento: la temperatura, tiempo de aplicación, contenido de agua y pH, el tipo de micotoxina, así como sus concentración en el alimento (Kabak, 2009b).

Irradiaciones

La mayoría de micotoxinas tiene estructuras moleculares complejas por lo que a menudo no se ven afectadas por las radiaciones. No obstante, la irradiación, a pesar de sus limitaciones, puede ser considerada una estrategia para reducir las micotoxinas a escala industrial. Las radiaciones Gama y los haces de electrones han sido evaluados para reducción de la concen-

tración de tricotecenos, pero presentan limitaciones cuando se aplica en granos secos (He *et al.*, 2010). Sin embargo, las radiaciones Gama pueden destruir la OTA (Aziz *et al.*, 2004).

El Reglamento (CE) nº 386/2009 del 12 mayo del 2009, que modifica el Reglamento 1831/2003 donde se establece nuevos grupos funcionales de aditivos en piensos, define “*agente detoxificante de micotoxinas*” o sustancia para reducción de la contaminación del pienso por micotoxinas: a aquella sustancia que puede suprimir o reducir la adsorción, promover la excreción de las micotoxinas o modificar el mecanismo de acción. Dentro de estos agentes se distingue dos categorías: adsorbentes y agentes biotransformadores.

Adsorbentes

La descontaminación ocurre dentro del animal por incorporación de sustratos al alimento. Estos sustratos son los agentes adsorbentes, compuestos de gran peso molecular, que presentan capacidad de unirse a las micotoxinas de los alimentos contaminados. Actúan secuestrando la molécula de micotoxina, aislándola del proceso digestivo, evitando su absorción y por tanto disminuyendo su biodisponibilidad. De esta forma el complejo formado por toxina-agente adsorbente, que no se disocia en el tracto gastrointestinal, se elimina por las heces (EFSA, 2009).

Los agentes adsorbentes de micotoxinas pueden ser: compuestos inorgánicos a base de sílice, polímeros orgánicos basados en el carbono y bacterias ácido lácticas (BAL).

La propiedad de unión que muestran, en algunos casos, las BAL con las micotoxinas, podría ser utilizada en nuevos enfoques para descontaminar los alimentos y piensos. Sin embargo, en este momento se conoce poco

acerca de la estabilidad y la toxicidad del complejo micotoxinas-BAL (Dalie *et al.*, 2010). Entre las aplicaciones identificadas se encuentra el uso de BAL en la elaboración de la cerveza industria. La adición de *Lb. plantarum* VTTE-78 076 y *Pc. pentosaceus* VTTE-90390 a las aguas de remojo de la cebada podría inhibir el crecimiento de hongos del género *Fusarium* durante el proceso de malteado y, por tanto, limitar potencialmente la acumulación de tricotecenos (Laitila *et al.*, 2002). Una aplicación similar podría ser el control de *Penicillium* y *Aspergillus* en la fermentación del vino, cuya aparición podrían provocar la contaminación de OTA (Dalie *et al.*, 2010). *Streptococcus thermophilus* NG40Z y C5 también han sido probados por capacidad para desintoxicar las micotoxinas (EFSA, 2009).

Los sustratos más utilizados son aluminosilicatos (zeolitas naturales, aluminosilicatos de sodio y calcio hidratado (HSCAS), bentonitas naturales, montmorillonita), seguido del carbono activo o diferentes polímeros (glucomananos esterificados, oligosacárido manano modificado), su eficacia para prevenir las micotoxicosis varía según micotoxinas y la especie animal estudiada y existe el riesgo de que algunos de estos adsorbentes puedan fijar micronutrientes y reducir la biodisponibilidad de algunos minerales y vitaminas (Wagacha & Muthomi, 2008).

En la actualidad, los materiales adsorbentes más prometedores para reducir los niveles de OTA son las zeolitas modificadas, ya que han demostrado dar buenos resultados en la descontaminación de productos alimenticios (Amezqueta *et al.*, 2009). Los HSCAS tienen gran capacidad para unirse con las aflatoxinas y, por tanto, reducir su biodisponibilidad (EFSA, 2009).

1.9.3.2. Descontaminación biológica

Se tratan de un enfoque novedoso de descontaminación basado en la

eliminación de las micotoxinas o reducción de las mismas a metabolitos no tóxicos mediante el uso de agentes biológicos de control que incluyen bacterias, levaduras, hongos y enzimas.

Se ha observado que el uso de cepas fúngicas atoxigénicas de *A. Flavus* y *A. parasiticus* produce una reducción de la concentración de aflatoxinas en cacahuetes. Estas cepas menos toxigénicas actúan compitiendo con las cepas toxigénicas en ambientes de campo, lo que reduce los niveles de las micotoxinas en los cultivos (Wagacha & Muthomi, 2008). Especies bacterianas como *Eubacterium Gram positiva (BBSH 797)* pueden detoxificar tricotecenos del pienso de animales por eliminación el grupo epóxido de estas micotoxinas (He *et al.*, 2010). Las cepas de la levadura *Trichosporon mycotoxinivorans* muestran potencial para degradar la OTA y cumplen los requisitos previos para su uso como aditivo de piensos (EFSA, 2009).

1.9.3.3. Descontaminación química

Se han utilizado la amonización y la nixtamalización, también agentes oxidantes (peróxido de hidrogeno y el ozono) o algunos ácidos y álcalis (NaOH). La nixtamalización, procedimiento por el que se consigue gelificar el almidón de las tortitas de maíz por medio de la cocción de agua adicionada con cal, reduce un 90% el contenido de aflatoxinas por la transformación de estas en metabolitos menos tóxicos (Soriano *et al.*, 2007). Estos métodos descontaminación presentan como limitación el hecho de que todavía no existen suficientes estudios sobre los cambios nutricionales experimentados en los alimentos tratados con estos productos (He *et al.*, 2010).

1.10. ALERTAS RELACIONADAS CON MICOTOXINAS

Notificaciones por micotoxinas en el Sistema de Alertas Rápida para Alimentos y Piensos (RASFFs), Informe Anual 2010 (C.E., 2010).

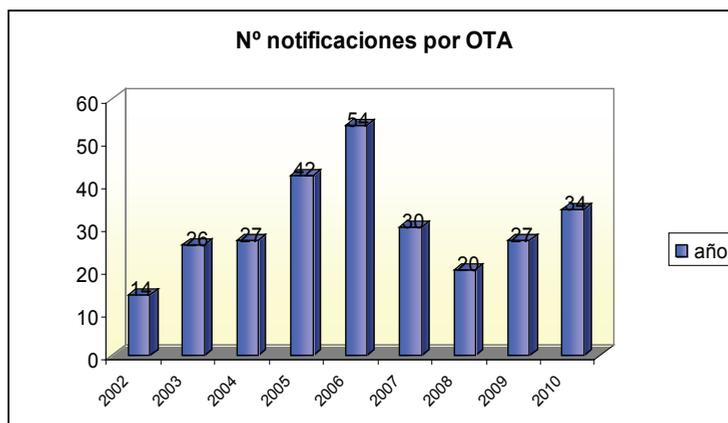
En 2010 se produjeron 679 notificaciones relativas a las micotoxinas, de las cuales 640 eran debidas a las aflatoxinas, 25 a la OTA, 9 a las aflatoxinas y OTA, 2 al DON y 3 a las fumonisinas.

El número de notificaciones del RASFFs sobre las micotoxinas en 2010 fue similar al número del 2009, pero significativamente menor que en el período 2003 – 2008.

El año 2010 difería del año 2009 en la categoría de producto notificado. En 2010 se produjo un aumento de las notificaciones de aflatoxinas para el cacao (260 notificaciones) en comparación con 2009 (233 notificaciones), pero se redujeron de manera significativa de las notificaciones respecto a las aflatoxinas en las nueces y sus productos derivados en 2010 (168) en comparación con 2009 (283). Este cambio se encontraba relacionado, aunque de manera parcial, con el cambio producido en la legislación.

El número de notificaciones relacionadas con la detección de ocratoxinas en alimentos en el periodo comprendido entre 2002 y 2010 se recogen en la Figura 6, donde se observa una tendencia al descenso de este número.

Figura 6. Número de notificaciones por OTA en el periodo 2002- 2010

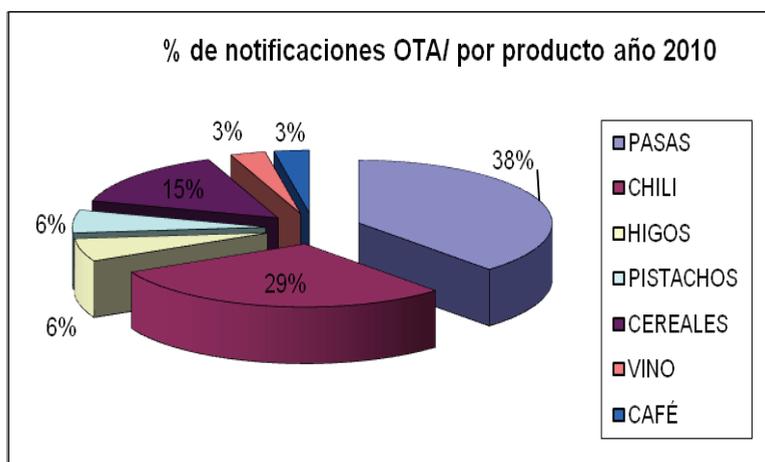


En el año 2010 se produjeron 34 notificaciones por la presencia de OTA en niveles inaceptables en alimentos, de las cuales 9 se produjeron de forma simultánea a la notificación de aflatoxinas.

Además, se detectó OTA en los pistachos en el año 2009, que se confirmaron en 2010; una notificación de pistachos de origen americano, también con las aflatoxinas y 1 notificación de pistachos de Irán. En el café hubo uno de los hallazgos de OTA y otro en el vino tinto. Los otros resultados de la OTA se relacionan con diferentes cereales (arroz, centeno, mijo, maíz) de diversos orígenes (India, Lituania, Ucrania y los EE.UU.).

En la Figura 7 se recogen el % de alertas atribuibles a cada producto en el año 2010.

Figura 7. Porcentaje de notificaciones de OTA por producto año 2010



2. OBJETIVOS

2. Objetivos

La OTA es una micotoxina ampliamente extendida entre los alimentos básicos como los cereales y sus derivados, cerveza, vino, café, productos derivados del cacao, frutos secos, condimentos y especias. Puede detectarse también, aunque de manera no significativa, en productos de origen animal como la carne, la leche y los huevos.

En la actualidad, a pesar de los esfuerzos por reducir la cantidad de esta micotoxina en los alimentos, la contaminación por OTA parece inevitable y el consumo crónico a través de los alimentos puede suponer un riesgo para la salud humana.

La exposición alimentaria a la OTA está condicionada por los hábitos alimentarios de la población, por el nivel de contaminación de los alimentos consumidos (incidencia y niveles de OTA) y varía en función del país considerado y las diferencias regionales y étnicas.

Ante estas premisas, este trabajo se propone como:

- Objetivo general: Evaluar el riesgo a la exposición de OTA.
- Objetivos específicos:
 - Conocer la presencia de OTA en diferentes alimentos: cereales, bebidas alcohólicas, condimentos y especias, café, cacao y chocolate, frutos secos y frutas desecadas, uva y zumo de uva y en alimentos de origen animal, procedentes de diferentes países del arco Mediterráneo, comparando el grado de contaminación recogido en los distintos estudios y los datos disponibles de la Unión Europea.
 - Estudiar las concentraciones de OTA en piensos para animales: aves, cerdos y ganado vacuno.
 - Estudiar las concentraciones de OTA en muestras biológicas: orina,

sangre y leche materna.

- Calcular la ingesta diaria estimada de OTA en la población española a partir de las concentraciones de OTA encontradas en los distintos estudios y de los valores de consumo recogidos en la Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española; ENIDE (AESAN, 2011a).
- Comparar las ingestas diarias estimadas (IDEs) de OTA, con las ingestas diarias tolerables (IDT) propuestas por organismos oficiales tales como el Comité Científico de Alimentos de la Unión Europea (en inglés: Scientific Committee for Food of the European Commission; SCF) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (en inglés: European Food Safety Authority, EFSA), para determinar el riesgo que supone la exposición a OTA.

Para alcanzar estos objetivos se ha procedido a la revisión bibliográfica de artículos científicos originales y revisiones publicadas en los últimos años (2005-2012) relativos a estudios de presencia de OTA en alimentos, el grado de contaminación y su evaluación del riesgo, utilizando como herramienta la base de datos de la pagina Web of Knowledge.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. PRESENCIA DE OTA EN ALIMENTOS

La OTA es un contaminante natural de los cereales, que puede originarse bien en el campo o durante almacenamiento. Sin embargo, puede producirse en una amplia gama de alimentos, tales como los productos de cacao, cerveza, café, vino, así como en productos procedentes de los animales (Bayman & Baker, 2006).

En 1991 el JECFA, sobre la base de los datos de neurotoxicidad en cerdos, estableció una IDT de OTA de 16 ng/Kg por p.c. y un consumo semanal tolerable provisional de 112 ng/Kg p.c.

En 1995 este valor se redondeó a 100 ng/Kg, lo que es equivalente a una IDA de 14 ng/Kg p.c. Por otra parte, el SCF, en 1998, recomendó reducir la exposición tanto como fuera posible y en todo caso que fuera inferior a 5 ng/Kg p.c./día, valor tres veces más estricto que el anterior (SCF, 1998).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en aditivos alimentarios (en inglés: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives; JECFA), en 2001, examinó los nuevos estudios que aparecieron a raíz de la última evaluación de la OTA y llegaron a la conclusión que el mecanismo por el cual OTA causa carcinogenicidad era desconocido, por lo que recomendó llevar a cabo nuevos estudios y mantuvo la previamente establecida ISTP de 100 ng/kg p.c. a la espera de nuevos resultados (JECFA, 2001b).

La EFSA, a petición de la Comisión, adoptó el 4 de abril de 2006 un dictamen científico actualizado sobre la OTA en los alimentos, en el que se tuvo en cuenta la nueva información científica y estableció una IST de 120 ng/Kg p.c., que equivale a una IDT de 17,2 ng/Kg p.c. (Reglamento (CE) nº1881/2006).

3.1.1. Presencia de OTA en cereales y derivados

Los cereales y sus productos derivados juegan un papel muy importante en la dieta humana, porque son consumidos por millones de personas y porque aportan la mayor parte de los carbohidratos. Pero también son la principal fuente de consumo alimentario de OTA, por ser susceptibles a la contaminación por hongos y por representar la base de alimentación de todo el mundo. En la UE los cereales contribuyen en un 50 % al promedio de la ingesta total de OTA (C.E., 2002).

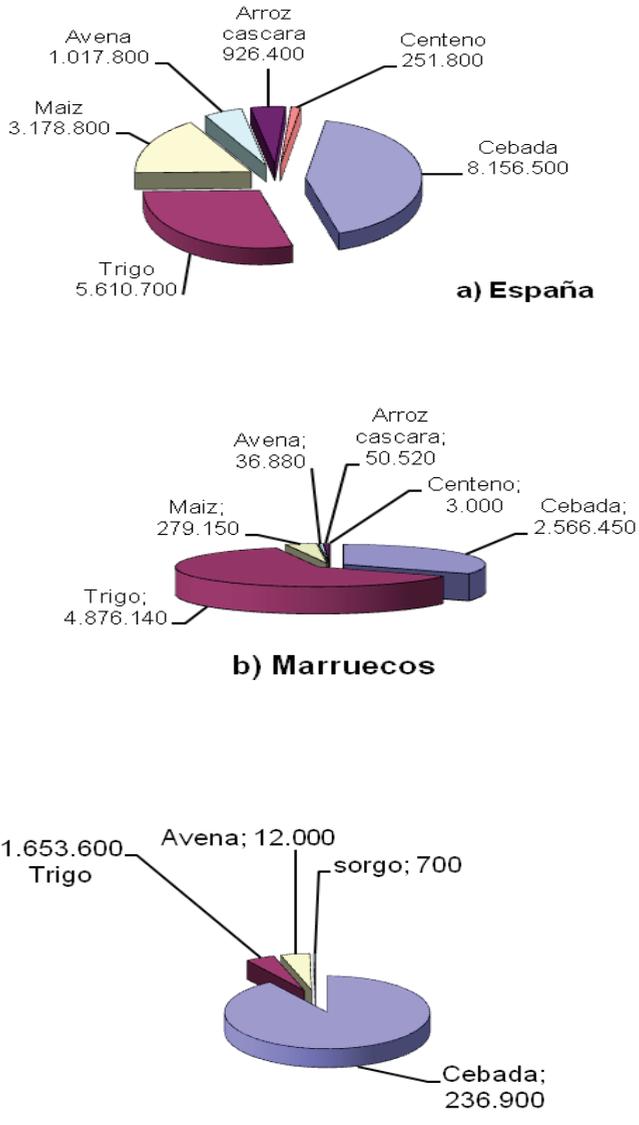
En Marruecos, los cereales representan un alimento básico para la población. El consumo de cereales es de seis millones de toneladas cada año (Zinedine *et al.*, 2006). La población tunecina consume grandes cantidades de cereales y de alimentos a base de cereales. La mayor parte de los cereales comercializados en Túnez son importados y poco se sabe sobre su contaminación por micotoxinas. En Túnez no hay normas aplicables en materia de contaminación de los cereales por micotoxinas (Zaied *et al.*, 2009).

España es un país deficitario en cereales, siendo el principal cereal cultivado la cebada, seguido del trigo. Según la Encuesta Nacional de Ingesta Dietética Española realizada por la AESAN (2011a) la ingesta diaria media consumida de cereales, excluyendo la bollería, es de 163 g/p.c./día. Las mujeres consumen menos cereales (140 g/p.c./día) que los hombres (194 g/p.c./día). El producto derivado de los cereales más consumido es el pan.

La producción (Toneladas/año) de cereales de estos países se muestra en la Figura 8 (FAOSTAT, 2010).

Estos países del mediterráneo presentan condiciones climáticas, geográficas y conductas alimentarias muy similares, que favorecen el desarrollo de micotoxinas y en especial de OTA.

Figura 8. Producción de cereales Toneladas/año a) España; b) Marruecos; y c) Túnez



3.1.1.1. Presencia de OTA en arroz

El arroz (*Oryza sativa*) es uno de los más importantes cultivos del mundo, junto con el trigo y el maíz. Es el cereal que más se consume después del trigo y es el principal alimento de la mitad de la población mundial (González *et al.*, 2006).

El arroz es una gramínea de gran talla, que aunque puede crecer en medios bastante diversos, lo hace más rápidamente y con mayor vigor en un medio caliente y húmedo, principalmente en los climas tropicales. Es típico del Asia meridional y oriental, aunque también es ampliamente cultivado en África, en América y en algunos puntos de Europa meridional, sobre todo en las regiones mediterráneas.

Es un cereal muy consumido y producido en España, Portugal y Marruecos. Consultada la base de datos de la FAO (FAOSTAT, 2010) la producción de arroz en estos países en el año 2010 fue de 926400, 170200 y 50520 Toneladas respectivamente.

Se trata de una planta acuática que, por lo general, se cosecha con niveles de humedad alta (35-50%), circunstancias que favorecen la contaminación del grano y la producción de OTA durante el almacenamiento. Park *et al.* (2005) demuestran que este cereal suele estar contaminado de manera natural con esporas de *Aspergillus ochraceus*.

Por esta razón es importante valorar la presencia de OTA en el arroz y sus derivados en distintos países del mediterráneo, países que presentan características muy similares.

La incidencia de la OTA en el arroz y sus derivados ha sido muy estudiada (Tabla 19).

La comparación entre países es difícil y presenta limitaciones debido a

las diferentes condiciones de análisis, a que la información es proporcionada a través de las publicaciones y a que el número de muestras estudiadas es muy bajo. Sin embargo, en muchos de los estudios se observa que las muestras exceden el nivel máximo de OTA establecidos por la UE.

Tabla 19. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en arroz

País/referencia	Nº de muestras	Nº muestras +	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Túnez (Ghali <i>et al.</i> , 2008)	16	4	25	0,8 – 2,3	1,4
Túnez (Ghali <i>et al.</i> , 2009)	11	3	27,2	0,15 – 0,9	0,2
Túnez (Zaied <i>et al.</i> , 2009)	96	27	28	10 – 150	44 (+)
Marruecos (Juan <i>et al.</i> , 2008c)	100	26	26	0,08 - 47	3,5 12,6(+)
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2007c)	20	18	90	0,02 -32,4	4,15
España (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	9	2	22,2	5,9 - 7,52	1,49
España (González <i>et al.</i> , 2006)	20 ^b	6	30	1,0-7.1	n.i.
España (González <i>et al.</i> , 2006)	64 ^c	5	7,8	4.3 - 27,3	n.i.
Portugal (Pena <i>et al.</i> , 2005)	42	6	14	0,09 -3,52	n.i.
Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	12	2	16,6	2,10 - 7,6	0,8
Corea (Park <i>et al.</i> , 2005)	60	5	8,3	0,9 – 6	0,2
Vietnam (Nguyen <i>et al.</i> , 2007)	100	20	20	2,78 ^a	0,75
China (Zhang <i>et al.</i> , 2011)	20	3	15	2,98-3,67	3,38
Chile (Vega <i>et al.</i> , 2009)	31	13	42	n.d.-12,5	0
Jordania (Salem & Ahmad, 2010)	23	1	4,3	n.i.	2,17

n.i. no indicado en el artículo, n.d. no detectado, ^a valor máximo, ^b arroz orgánico, ^c arroz no orgánico.

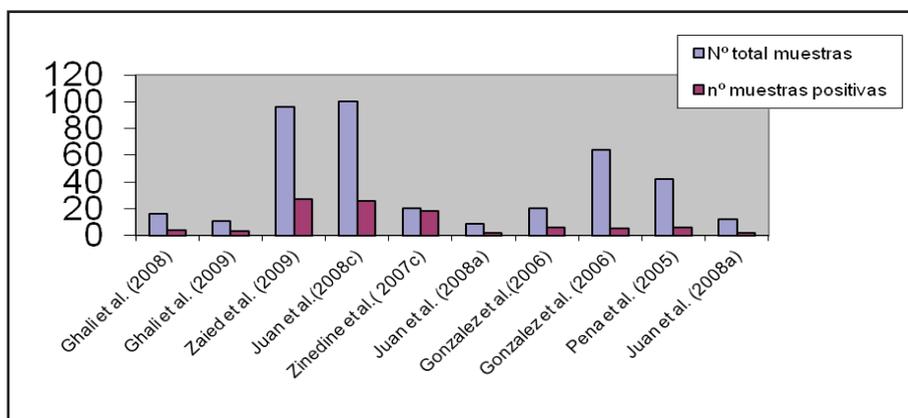
Estudio de incidencia de OTA en arroz

Las muestras de arroz en los países mediterráneos (España, Marruecos y Túnez) presentan un incidencia de OTA similar, siendo los valores entre un 25% y un 30%, si bien en España, en el estudio de González *et al.* (2006), la incidencia es mucho más baja en las muestras de arroz no orgánico (7,8%).

Estos resultados son contrarios a los obtenidos por Zinedine *et al.* (2007c) en Marruecos donde la incidencia alcanza un valor del 90%, tal como se refleja en la Figura 9.

Portugal es el país donde se observa una menor incidencia con un 14% (Pena *et al.*, 2005). En este estudio ninguna de las muestras analizadas de arroz blanco estaban contaminadas, a diferencia de las otras muestras de arroz marrón, basmati, aromático y silvestre, hecho que se relaciona con una posible estimulación de la producción de OTA al contener estas últimas variedades de arroz una mayor cantidad de proteínas y aminoácidos.

Figura 9. Número total de muestras analizadas según origen/ número de muestras positivas de OTA en arroz



En otros estudios realizados en países no mediterráneos, las incidencias

varían según las zonas. En Chile (Vega *et al.*, 2009) la incidencia de OTA es del 42%. Bansal *et al.* (2011) en Canadá detectaron en 200 muestras de arroz de diferentes orígenes una incidencia de un 22%, si bien la media de las muestras positivas era de 0,12 ng/g y la media de todas las muestras era de 0,03 ng/g, alcanzando un máximo de concentración de OTA el arroz negro glutinoso (arroz rico en almidón) de origen Tailandés. En el estudio de Nguyen *et al.* (2007) en Vietnam la incidencia es parecida a las obtenidas en la zona mediterránea, siendo su valor de 20%. En China (Zhang *et al.*, 2011) la incidencia es más baja (15%). Se detectan incidencias muchos menores en Corea (Park *et al.*, 2005) con un valor de 8,3% y en Jordania (Salem & Ahmad, 2010) con un valor de 4,3%. En el estudio de Chung *et al.* (2009) de Hong Kong se analizaron 118 muestras de cereales y sus derivados presentando un incidencia de 26% de muestras positivas, con niveles de máximos de 0,25 ng/g y de media 0,044 ng/g, si bien en ninguna de las muestras de arroz y sus derivados, como fideos, sopas, etc. (37 muestras) se detectó OTA.

En el informe de la C.E. (2002) los datos obtenidos de las muestras analizadas de arroz presentan una incidencia de OTA del 6,4%, (sobre 63 muestras daban 4 positivas), lo que supone una incidencia mucho más baja que las recogidas en los estudios anteriormente mencionados. En dicho informe, en España ninguna de las 24 muestras de arroz analizadas se detectó OTA.

Niveles de OTA en arroz y comparación con límites legislados.

Los niveles de contaminación en las muestras positivas se encuentran entre 0,02 y 150 µg/Kg, siendo esta última detectada en las muestras de arroz de Túnez (Zaied *et al.*, 2009). En el Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, se

establece el contenido máximo de OTA para cereales y productos a base de cereales, siendo el límite máximo en cereales no elaborados de 5 µg/Kg y en cereales destinados al consumo humano directo de 3 µg/Kg.

Si se compara los niveles de OTA obtenidos en las muestras positivas con los niveles legislados para el arroz destinado a consumo humano directo, se observa que en algunos estudios las muestras superan estos valores (Zaied *et al.*, 2009; Zinedine *et al.*, 2007c; Juan *et al.*, 2008c).

Las muestras de Túnez, correspondientes a los estudios de Ghali *et al.* (2008 y 2009), se encuentran por debajo de los valores legislados, en el estudio de Portugal (Pena *et al.*, 2005) ninguna de las muestras supera los límites legales. En el estudio de China (Zhang *et al.*, 2011) tampoco ninguna muestra de arroz no elaborado supera el límite establecido por la UE. Estos resultados no coinciden con los obtenidos en el estudio de Zaied *et al.* (2009) en Túnez, donde un 28% de la muestras exceden los límites de UE, ni con los recogidos en el estudio de Juan *et al.* (2008c) en Marruecos, donde un 14% de la muestras se encuentran por encima de 5 ng/g. En Zinedine *et al.* (2007c) un 15% del número total de muestras de arroz analizadas supera el límite reglamentario fijado por la normativa europea de cereales.

Estos niveles tan elevados detectados en Túnez y Marruecos podrían explicarse por las condiciones climáticas de estos países, especialmente la temperatura y humedad que favorece la proliferación de hongos toxigénicos y podrían deberse a las características sociales y económicas de población, tales como almacén de los productos en el hogar, los hábitos de consumo, etc.

Comparación de los niveles OTA en función del tipo de cultivo de arroz.

En los estudios también se determina y compara la presencia de OTA en

arroz orgánico o ecológico y arroz convencional, tal como recoge en la Tabla 20.

Tabla 20. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en arroz orgánico y convencional

Producto	País/ referencia	Nº muestras	Nº muestras +	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Arroz orgánico	España (González <i>et al.</i> , 2006)	20	6	30	1,0-7,1	n.i.
Arroz no orgánico	España (González <i>et al.</i> , 2006)	64	5	7,8	4,3-27,3	n.i.
Arroz orgánico	España-Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	9	4	44,4	2.1-7,6	2.57 ± 3,43
Arroz no orgánico	España-Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	12	0	0	0,05	0

n.i. no indicado en el artículo.

En los últimos años la agricultura ecológica u orgánica ha experimentado un importante desarrollo, impulsada por la creciente sensibilización de los consumidores sobre la seguridad alimentaria y el medio ambiente.

El cultivo orgánico es un modo de producción que utiliza un conjunto de técnicas agrícolas donde normalmente no se aplican productos químicos de síntesis, como fertilizantes, plaguicidas, antibióticos, etc. El objetivo de esta práctica es preservar el medio ambiente, mantener o aumentar la fertilidad del suelo y conseguir mantener la alimentación natural.

Este tipo de cultivo ha crecido con fuerza en la UE. En España, según los datos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente en el 2011 la superficie dedicada a la agricultura ecológica es de 1.845039 hectáreas (MAGRAMA, 2011).

Actualmente muchos consumidores prefieren los productos orgánicos a

los convencionales porque los perciben como más saludables, sin embargo hay estudios contradictorios relativos a la seguridad de los alimentos orgánicos frente a los convencionales (Juan *et al.*, 2008a).

Si se compara las muestras de arroz procedentes de cultivos orgánicos con las muestras de arroz cultivadas de manera convencional o no orgánica, se observa una mayor incidencia de OTA en los cultivos orgánicos. Esto se refleja en un estudio González *et al.* (2006) donde la incidencia en arroz y derivados de arroz orgánico es del 30% frente a una incidencia del 7,8% en arroz y productos derivados de arroz cultivados de manera convencional. En Juan *et al.* (2008a) la incidencia en el arroz orgánico es mayor, con un valor de 44%, mientras que en el arroz no orgánico no se detecta OTA. Esto podría deberse a que en la producción ecológica, donde hay un uso limitado de plaguicidas, se puede producir una proliferación de hongos y probable producción de micotoxinas.

Por tanto, en general se observa que la presencia de OTA en cultivos de arroz orgánico es más elevada que la detectada en cultivos convencionales, pudiendo alcanzar valores de hasta un 20-35%.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de arroz.

La estimación de la ingesta de OTA por el consumo de arroz se recoge en la Tabla 21. Para estimar la ingesta de OTA se han usado los valores medios de OTA hallados en las muestras analizadas de los estudios así como los valores máximos de OTA. Los datos de consumo son los recogidos en los correspondientes estudios.

Todos los valores de ingesta de OTA, tanto los calculados a partir de los valores medios como los obtenidos a partir de valores máximos, están muy por debajo de IDT establecida por la EFSA (2006):17,2 ng/Kg. p.c./día. Los

valores de ingesta diaria de OTA del estudio Juan *et al.* (2008a) de Portugal son los más altos y representan un 3,4% de la IDT, seguidos de los recogidos en Juan *et al.* (2008c) en Marruecos donde la ingesta de OTA media supone un 1,9% del valor de IDT establecida por la EFSA (2006).

Tabla 21. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de arroz

País/ referencia	p.c. (Kg.)	Datos consumo (g/día)	Media OTA (ng/g)	ID OTA media (ng/ Kg p.c./día)	Valor Max. (ng/g)	ID OTA máxima (ng/ Kg p.c./día)
Marruecos (Juan <i>et al.</i> , 2008c)	60	5,5	3,5	0,32	47	4,3
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2007c)	60	5,5	4,15	0,38	32,4	2,97
España (González <i>et al.</i> , 2006)	70	16,4	0,74	0,17	7,1	1,7
España (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	60	13,6	1,49	0,33	7,52	1,7
Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	60	44	0,8	0,6	7,6	5,6
Portugal (Pena <i>et al.</i> , 2005)	60	44	n.i.	n.i.	3,52	2,6

n.i.: no indicado en el artículo; p.c.: peso corporal, ID: Ingesta diaria, Max: máximo.

Comparando los valores de ingesta diaria de OTA reflejados en la Tabla 21 con los recogidos para España en el informe de la UE de evaluación de la ingesta de OTA en la dieta a la población de los estados miembros de la UE (C.E., 2002) donde la estimación de la ingesta de OTA por consumo de arroz era de 0,08 ng/Kg p.c./día (siendo el consumo de arroz de 18,5 g/persona/día y la concentración media de OTA en las muestras de 0,25 ng/g), se observa que la estimación de la ingesta en estos estudios posteriores al año 2002 es más alta, pero no por ello preocupante, dado que los valores obtenidos se encuentran por debajo de lo establecido en la EFSA (2006).

En los estudios de otros países no pertenecientes a la UE, Park *et al.* (2005) estimaron la ingesta de arroz en un rango de 0,8- 4,1 ng/Kg p.c./día, la cual no excede el valor de la IDT 17 ng/Kg p.c./día establecida por la EFSA (2006). Sin embargo, en el trabajo de Ngyune *et al.* (2007) en Vietnam, donde el consumo de este cereal es muy elevado, los niveles de ingesta media de OTA para un persona de 60 Kg eran de 300 ng/día y si se toman los valores del arroz más contaminado se alcanzan ingestas de 1390 ng/día. Esto supone una ingesta de 23,2 ng/ Kg p.c./día y, por tanto, un valor 1,4 veces superior al valor establecido por la EFSA (2006), por lo que se sugiere que la exposición a OTA a través del arroz contaminado en este país podría incidir sobre a la salud de la población.

3.1.1.2. Presencia de OTA en otros cereales diferentes al arroz y productos derivados

La contaminación de cereales y sus productos derivados por la OTA es un problema mundial. Los cereales de los países Mediterráneos suelen verse afectados por la OTA debido a las condiciones climáticas, geográficas y las conductas alimentarias específicas (Zinedine *et al.*, 2006). El grado de contaminación de las materias primas no solo es relevante para la salud, sino también desde el punto de vista económico y comercial.

Estudio de incidencia de OTA en cereales distintos al arroz.

La incidencia de OTA en distintos cereales (trigo, maíz, cebada, sorgo, espelta, avena y centeno) se recogen en la Tabla 22.

Entre todos los cereales, es el trigo el cereal con mayor incidencia de contaminación por OTA y el más ampliamente investigado (mas que el arroz con 25-30% de incidencia).

En el trigo el mayor valor de incidencia de OTA se presenta en Túnez,

con un porcentaje de 60,7% (Ghali *et al.*, 2008), seguido de España (Juan *et al.*, 2008a) con un 54% y Marruecos (Zinedine *et al.*, 2006) con un valor del 40%.

En el estudio de Zhang *et al.* (2011) en China la incidencia de OTA en trigo es de 36%, inferior a los valores anteriormente indicados, pero la media de OTA encontrada (4,28 ng/g) es superior a los valores de Ghali *et al.* (2009):1,2 ng/g. En Salem & Ahmad (2010) en Jordania, el trigo es el cereal con mayor porcentaje de muestras donde se detectó OTA, si bien el valor es del 29%. Portugal es el país que presenta una menor incidencia de OTA en trigo con un 25% (Juan *et al.*, 2008a).

Tabla 22. Incidencia (%) de OTA en cereales distintos al arroz

Producto/ País	Incidencia (%)					
	Túnez _a	Túnez _b	Túnez _c	Marruecos _d	España _e	Portugal _f
Trigo	60,7	45,6	38	40	53,8	25
Maíz	1,9	35,3	n.i.	40	16,6	20
Cebada	52	41,6	40	55	0	0
Sorgo	52,9	51	38	n.i.	n.i.	n.i.
Espelta	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	50	0
Avena	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	0	16
Centeno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	25	0

a: Ghali *et al.* (2008); b: Ghali *et al.* (2009); c: Zaid *et al.* (2009); d: Zinedine *et al.* (2006); e y f: Juan *et al.* (2008a); n.i. no indicado en el artículo.

En Chile (Vega *et al.*, 2009) la incidencia de OTA en harina de trigo es muy alta (70%), al contrario que en Corea (Park *et al.*, 2005) donde en harina de trigo no se detecta esta micotoxina. En el estudio de Japón (Kumagai *et al.*, 2008) el 56% de las muestras de harina se encuentran contaminadas,

si bien la contaminación media de OTA es muy baja: 0.09 ng/g.

En maíz y cebada la incidencia más alta de OTA se encuentra en Marruecos (Zinedine *et al.*, 2006), seguido de Túnez (Ghali *et al.*, 2008 y 2009). En Zhang *et al.* (2011) en China la incidencia en maíz es más baja (26%) que la detectada por Zinedine *et al.* (2006) (40%), si bien la concentración de OTA media es superior (7,4 ng/g frente 1,1 ng/g).

En sorgo la incidencia de esta micotoxina también es muy alta en Túnez, con un valor del 53% (Ghali *et al.*, 2008).

Solo en el estudio de España y Portugal se determina la contaminación de OTA en centeno, observándose presencia en una cuarta parte de las muestras correspondientes a España (Juan *et al.*, 2008a).

Estos datos no coinciden con los resultados obtenidos en el informe de la UE (C.E., 2002), donde para el estudio de la presencia de OTA en cereales, el centeno mostraba los más altos niveles de contaminación y una incidencia del 53%, si bien en Italia, país cuyas características son muy similares a las de España, en ninguna muestra de centeno se detectó OTA (C.E., 2002). Tampoco coinciden con los resultados del estudio de Kumagai *et al.* (2008) de Japón donde un 90% de las muestras de centeno se encontraban contaminadas con una media de OTA 1,05 ng/g y rango de 0,28-1,59 ng/g.

Si se analiza la incidencia de OTA en los cereales en cada país, en Túnez (Ghali *et al.*, 2008) el trigo es el que presenta la mayor incidencia, seguido de la cebada y el sorgo (con valores muy similares). En España y Portugal se observa también en el trigo el mayor número de muestras contaminadas, sin embargo, en Marruecos la cebada es el cereal con un 55% de muestras positivas (Zinedien *et al.*, 2006). Klaric *et al.* (2009) en Croacia la mayor incidencia de OTA en cereales se detecta en maíz con una valor del 25%.

En el estudio de Zhang *et al.* (2011) en China la mayor incidencia de OTA se detecta en trigo, si bien el producto más contaminado es el maíz.

Niveles de OTA en cereales distintos al arroz y comparación con los niveles legislados.

Los niveles de OTA detectados se recogen en la Tabla 23.

La mayor concentración de OTA se detecta en las muestras de Túnez (Zaied *et al.*, 2009) con valores máximos comprendidos entre 250 y 950 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ y de media entre 55 y 117 $\mu\text{g}/\text{Kg}$.

Estos datos confirman la necesidad de controlar el nivel de contaminación de los cereales y de regular los niveles de OTA en Túnez por el riesgo que representan para la población.

Tabla 23. Niveles medios y máximos de concentración de OTA (ng/g) en cereales distintos al arroz

Concentración media y máxima de OTA (ng/g)												
Producto	m _a	Max _a	m _b	Max _b	m _c	Max _c	m _d	Max _d	m _e	Max _e	m _f	Max _f
Trigo	2,9	24,3	1,2	17,7	55	250	0,4	1,73	1,2	0,9	1,0	7,97
Maíz	3,5	6,7	1,5	22,3	n.i.	n.i.	1,1	7,2	0,3	1,9	0,2	0,8
Cebada	1,9	3,4	0,2	1,5	96	940	0,2	0,8	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Sorgo	14,4	36,4	5,4	33,8	117	950	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
Espelta	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	1,1	2,2	n.d.	n.d.
Avena	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.d.	n.d.	0,4	2,5
Centeno	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	6,8	27,1	n.d.	n.d.

m: media; Max: máximo; n.i. no indicado en el artículo; n.d. no detectado.

a: Ghali *et al.* (2008) y b: Ghali *et al.* (2009) Túnez, c: Zaied *et al.* (2009) Túnez, d: Zinedine *et al.* (2006) Marruecos, e: Juan *et al.* (2008a) España y f: Juan *et al.* (2008a) Portugal

Las muestras de sorgo de Túnez (Zaied *et al.*, 2009) son las más contaminadas, superando en 23 veces los valores establecidos por la Comisión Europea (5 µg/Kg para cereales no transformados). En el estudio de Ayalew *et al.* (2006) en Etiopia las muestras de sorgo también son las que presentan las mayores concentraciones de OTA, con un valor máximo de 2106 µg/Kg, coincidiendo con los resultados de Túnez. En el estudio de Marruecos (Zinedine *et al.*, 2006) las concentraciones más altas de OTA se detectan en el maíz, si bien solo una muestra de excede los límites legales. Estos datos coincide con los de Croacia (Klaric *et al.*, 2009) donde solo una muestra de maíz está por encima de los límites establecidos en le UE con un valor de 31,7 µg/Kg.

En España y Portugal (Juan *et al.*, 2008a) solo dos muestras de trigo y una muestra de centeno exceden los límites máximos legislados. Estos valores son similares a los encontrados en el informe de la EU de evaluación de la ingesta de OTA en la dieta de la población de los estados miembros de la UE (C.E., 2002), donde se observa que la media ponderada de OTA en cereales se encuentra entre 0.294 µg/Kg y 0,484 µg/Kg y el nivel de muestras contaminadas en el sur de Europa es ligeramente mayor que en el norte de Europa.

En otros estudios como el de Jordania (Salem & Ahmad, 2010) las muestras de cebada son las que presentan los valores por encima de los límites establecidos por la UE. Sin embargo en el estudio de Shah *et al.* (2010) en Pakistán, un número significativo de muestras de maíz contienen niveles de OTA por encima de los límites de seguridad según lo recomendado por la FDA y la UE. Los niveles de contaminación oscilan entre <0,001 a 7,32 µg/Kg, pero en promedio los resultados están dentro del límite de seguridad.

En el estudio de Juan *et al.* (2008a) se ha determinado la presencia de

OTA en cereales orgánicos y no orgánicos. Las muestras analizadas eran de arroz, trigo, cebada, centeno, avena y maíz; detectando que un 12% de los cereales no orgánicos y el 32% de los cereales orgánicos estaban contaminadas con OTA. Por otra parte, la concentración media de OTA en cereales orgánicos (1,64 ng/g) fue superior a la de los cereales no orgánicos (0,05 ng/g) con una diferencia significativa. Esto puede ser una consecuencia de la producción ecológica que implica el uso limitado de plaguicidas favoreciendo la proliferación de hongos y la producción de micotoxinas.

Rubert *et al.* (2011c) investigaron la presencia de micotoxinas en 49 muestras de harina de diferentes tipos de cereales recogidas en los mercados locales, observándose que las harinas de trigo y las preparaciones de panadería (pan, pizzas...) eran las que presentaban mayor contaminación y sólo una muestra de harina de trigo superó los límites máximos (LM) para la OTA.

Los datos encontrados relativos a las concentraciones de OTA en cereales pone de manifiesto que el nivel y tipo de producto contaminado varia en los distintos países y que es necesario controlar y regular estos valores en los países del área mediterránea.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cereales distintos al arroz.

La estimación de la ingesta de OTA por el consumo de cereales se recoge en la Tabla 24.

Para España y Portugal los valores obtenidos están por debajo de la IDT para OTA estimada por el SCF: 5 ng/Kg de p.c./día y son cuatro veces menores que la ingesta establecida por el JECFA (14 ng/Kg p.c./día). Dichos valores se encuentran muy por debajo de la IDT de 17,2 ng/Kg p.c./día es-

tablecida por la EFSA (2006). El valor obtenido en Túnez es 1,2 veces más alto que la IDT de OTA.

Tabla 24. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cereales distintos al arroz.

País/referencia	Peso corporal (Kg)	Datos consumo (g/día)	Media OTA (ng/g)	ID media OTA (ng/Kg. p.c./día)	% IDT OTA (17,2 ng/Kg. p.c./día)
España (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	60	240	0,93	3,72	21,6
Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2008a)	65	350	0,64	3,44	20
Túnez (Ghali <i>et al.</i> , 2009)	60	82 Kg/año ^a =500g/día	2,4	20	1,2 X TDI

a: datos: Institut National de la Statistique, Túnez (2005), Cereales totales.

ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable

3.1.1.3. Presencia de OTA en cereales para el desayuno y alimentos infantiles a base de cereales

Los cereales para el desayuno son muy populares en todas las edades. Se elaboran principalmente a partir de granos de trigo, arroz, maíz, cebada y avena que se transforman en copos y el almidón se escinde en azúcares simples y de fácil digestión. A estos cereales a menudo se añaden miel, azúcar, chocolate y frutas desecadas (pasas, plátanos, frutos secos, etc.). En los alimentos infantiles a base de cereales el contenido de cereales es variable, oscilando entre el 30% y el 80%.

La mayoría de estos ingredientes pueden ser colonizados por hongos, influyendo en su crecimiento y en la producción de OTA la disponibilidad de agua, la temperatura y la humedad del grano (Zinedine *et al.*, 2010a) y por tanto, los cereales pueden contribuir a la ingesta de OTA.

La Comunidad Europea ha regulado los límites máximos permitidos para los productos derivados de los cereales (3 µg/Kg) y para alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad (0,5 µg/Kg).

Los resultados de presencia de OTA en cereales para desayuno y alimentación infantil a base de cereales se recogen en la Tabla 25.

Tabla 25. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en cereales para desayuno y alimentación infantil a base de cereales

País/referencia	Tipo producto	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2010a)	Cereales desayuno	5,8	5,1-224,6	n.i.
	A. infantil a base de cereales	0	n.d.	n.i.
Turquía (Kabak, 2009a)	Cereales desayuno	38	0,171-1,84	0,752
	A. infantil a base de cereales	17	0,12-0,37	0,22
España (Araguas <i>et al.</i> , 2005)	Cereales desayuno	90	0,07-0,97	0,26
	A. infantil a base de cereales	70	0,04-0,74	0,18
Portugal (Alvito <i>et al.</i> , 2010)	A. infantil a base de cereales	37	0,034-0,212	n.i.
España (Ibáñez -Vea <i>et al.</i> , 2011)	Cereales desayuno	39	0,062-1,2	0,29
Grecia (Villa & Markaki, 2009)	Cereales desayuno	60	0,02-0,87	0,11
Francia (Molinié <i>et al.</i> , 2005)	Cereales desayuno	69	0,02-8,8	n.i.
Canadá (Roscoe <i>et al.</i> , 2008)	Cereales desayuno	34	0,01-0,38 máx. 1,4	0,1-0,38

n.i.: no indicado, A. infantil: alimentación infantil, máx.: máximo

Incidencia de OTA en cereales para desayuno y alimentación infantil a base de cereales.

Analizando los distintos estudios se detecta una mayor incidencia de OTA en los cereales para desayuno que en los alimentos infantiles elaborados a base de cereales, si bien hay que tener en cuenta que, en estos productos destinados a población de corta edad, los cereales pueden no ser el único ingrediente y además que las condiciones higiénico sanitarias de su proceso de elaboración son más estrictas por la población a la que van destinados.

Los valores de incidencia de OTA en cereales se encuentran comprendidos entre el 39 al 90% y solo en el estudio de Molinié *et al.* (2005) las muestras analizadas superan los límites legislados en la UE.

En el estudio de Araguas *et al.* (2005) es donde se observa la mayor incidencia de OTA en cereales para desayuno, alcanzando un valor del 90%, pero ninguna de las muestras se superan los valores legislados. Molinié *et al.* (2005) detectaron OTA en el 69% de la muestras, de las cuales un 16% estaban por encima de los límites de la UE (3 µg/kg). En Turquía (Kabak, 2009a) las muestras de cereales para desayuno presentaban un frecuencia de detección de OTA inferior, con un valor de un 38%, si bien ninguna muestra se encontraba por encima de los límites legales. Similar incidencia se detecta en el estudio de Ibáñez-Vea *et al.* (2011) en España.

Las muestra analizadas en Marruecos (Zinedine *et al.*, 2010a) mostraron la incidencia de OTA más baja. Los cereales infantiles no presentaban OTA detectable y en un 6% de las muestras de cereales para desayuno se detectó OTA, pero el rango de concentraciones oscilaba entre 5-224,6 ng/g (valor más alto de todos los estudios). Todas las muestras positivas estaban por encima de los límites establecidos en la UE (5,8%), siendo las muestras más contaminadas las que contenían muesli y frutas.

Niveles de OTA en cereales para desayuno y alimentos infantiles a base de cereales.

Los valores de OTA, detectados en los cereales para desayuno en la mayoría de los estudios, son bajos; sin embargo, estos productos pueden contribuir a la ingesta diaria de OTA debido a su alto consumo entre personas de diferentes edades. Por ello, es necesario controlar la calidad de sus distintos componentes (frutos secos, nueces, cereales).

Araguas *et al.* (2005) detectaron diferencias significativas entre cereales para desayuno con alto contenido en fibra y cereales para desayuno con un contenido normal de fibra, siendo mayor la incidencia y los niveles de contaminación por OTA en cereales con alto contenido en fibra, hecho que podría explicarse porque esta micotoxina se acumula directamente debajo de la epidermis de semillas de cereales. También se observa diferencias significativas, dentro de los alimentos infantiles a base de cereales, entre aquellos elaborados sin gluten y los multicereales, siendo estos últimos los más contaminados, circunstancia que podría deberse a que la clase de cereales utilizada en el proceso de producción de estos dos alimentos para bebés es diferente (es decir, principalmente el maíz y el centeno para el primero, y el trigo, la cebada, la avena y el centeno del último). En consecuencia, el nivel de contaminación por OTA podría también ser diferente.

En el estudio de Ibáñez-Vea *et al.* (2011) se observa que las muestras de cereales elaborados a base de trigo son las más contaminadas. Se detecta una mayor incidencia de OTA en las muestras de cereales integrales para desayuno que en las de cereales para desayuno normales (92% vs 18%), pero se encuentran menos contaminadas, resultados que están condicionados por el tipo de cereal que se utiliza como ingrediente. Los máximos niveles de OTA son detectados en muestras de cereales para desayuno con

contenido normal en fibra elaborado a base de trigo (1,12 ng/g).

En el estudio de Villa & Markaki (2009) las muestras más contaminadas son una de cereales a base de trigo con fibras (0,64 ng/g OTA), otra muestra de cereales con frutos secos (0,87 ng/g OTA) y otra a base de cereales con chocolate (0,51 ng/g OTA). Estos resultados están de acuerdo con el estudio de Molinié *et al.* (2005) quien señala que el chocolate y las pasas son factores de riesgo por contaminación de OTA. En este estudio además se indica que las tres muestras más contaminadas contienen salvado de trigo, confirmando que este subproducto de los cereales es un factor de riesgo. En el estudio de Canadá (Roscoe *et al.*, 2008) la OTA se encuentra más frecuentemente en cereales a base de avena (63%) y el nivel más alto de OTA se detecta en cereales a base de avena (1,4 ng/g), mientras que la incidencia más baja 38% y 44% se observa respectivamente en cereales a base de trigo y multicereales.

Rubert *et al.* (2012) analizaron 35 muestras de alimentos infantiles. La OTA se detectó en alimentos para bebés en polvo a base de avena y en líquidos multi-cereales listos para consumir, con un rango comprendido: 0,35-0,5 ng/g, pero ninguna muestra superaba el límite máximo fijado por la UE para estas micotoxinas en alimentos para bebés.

Por tanto, cabe pensar que en los cereales para el desayuno y en la alimentación infantil a base de cereales la contaminación por OTA depende del contenido de fibra y del tipo de cereal con que se elabora el producto (Ibáñez-Vea *et al.*; 2011), observando, por regla general, que en cereales ricos en fibra es mayor la incidencia y el nivel de contaminación por OTA.

En el estudio en Grecia de Villa & Markaki (2009), a diferencia de otros estudios similares de cereales, como el de González *et al.* (2006) y Juan *et al.* (2008a), se detecta una mayor incidencia y mayor nivel de contamina-

ción de OTA en las muestras formadas por cereales procedentes de cultivos convencionales, que en las muestras de cereales obtenidos por el métodos orgánicos, si bien todas las muestras se encuentran por debajo de los límites establecidos por UE. Por tanto, aunque cabe esperar que la reducción del uso de fungicidas favorezca la proliferación de hongos y puede conducir a una mayor contaminación por OTA en los alimentos orgánicos, los resultados son contradictorios y no confirman este hecho.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cereales para desayuno y alimentación infantil a base de cereales.

La estimación de la ingesta de OTA por consumo de cereales para el desayuno y alimentación infantil a base de cereales se recoge en la Tabla 26.

La ingesta de OTA a través de consumo de cereales para desayuno depende de la concentración en el alimento, de la cantidad consumida, de la frecuencia de consumo y de las preferencias de los consumidores.

En Grecia (Villa & Markaki, 2009), para niños (20 kg) consumiendo 50 g de los cereales más contaminados (0,87 ng/g) la ingesta diaria de OTA es de 2,17 ng/g OTA, que es 8 veces más bajo que la IDT (17,2 µg/Kg p.c./día).

Se puede concluir que los cereales para desayuno y la alimentación infantil a base de cereales pueden contribuir en la ingesta de OTA en humanos y supone un riesgo potencial en niños de corta edad donde la alimentación a base de cereales es su principal fuente de alimentos, si bien todos los valores de ingesta de OTA detectados se encuentran por debajo de los niveles de la IDT, representando un fracción como máximo del 13% de la IDT, salvo en Francia que en las condiciones más desfavorables suponen un 76,6% de la IDT para niños, y considerando que la ingesta fijada por la EFSA (2006) fue establecida para adultos.

Tabla 26. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cereales para desayuno y alimentos infantiles a base de cereales

País/ referencia	Producto	Peso corporal (Kg)	Datos onsumo (g/día)	Media OTA (ng/g)	ID media OTA (ng/ Kg p.c./ día)	% IDT OTA (17,2 ng/Kg p.c./ día)
Turquía (Kabak, 2009a)	Cereales desayuno	60	30 _b	0,75	0,38	2,2
	A. infantil a base cereales	5	40 _b	0,22	1,7	10
España (Araguas <i>et al.</i> , 2005)	Cereales desayuno	60	30 _b	0,265	0,13	0,76
	A. infantil a base cereales	8 (4 meses de edad)	45 _b	0,187	1,05	6,2
España (Ibañez-Vea <i>et al.</i> , 2011)	Cereales desayuno	niños, 20 adolescentes, 50 adultos, 70	30	1,12 máx.	1,68 0,67 0,48	9,8 3,9 2,8
Grecia (Villa & Markaki, 2009)	Cereales desayuno	niños, 20 adolescentes, 50 adultos, 70	30-50 50-100 50-100	0,05 0,87 _c	0,07-0,12 1,30-2,17 0,05-0,1 0,87-1,74 0,03-0,07 0,62-1,24	12,61 8,64 7,2
Francia (Moliné <i>et al.</i> , 2005)	Cereales desayuno	Niños, 20	30	8,8 _c	13,2	76,7

A.: alimentación, b: ingesta recomendada indicada en el etiquetado del paquete; c: OTA de muestra más contaminada., ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable

Es necesario reflexionar sobre las recomendaciones de la AESAN en el 2011 relativas a la necesidad de incrementar el consumo alimentos que los

contengan cereales con preferencia integrales con el fin de evaluar el riesgo de este tipo cereales debido a su clara relación con la presencia de OTA (AESAN, 2011a).

3.1.1.4. Presencia de OTA en pan

Entre los derivados de los cereales, el pan tiene una gran importancia, ya que proporciona a la población más nutrientes que otro alimento único y constituye una fuente importante de carbohidratos, proteínas y vitaminas. El pan es un producto consumido a diario y por tanto altamente demandado. La Organización de la Salud (OMS) recomienda un consumo diario de pan de 250 g, lo cual supone una media de 90 Kg/persona/año.

Muchos autores coinciden en indicar que el pan es una de las principales fuentes de ingesta de OTA. El pan se elabora a partir de diversos cereales, tales como el trigo (*Triticum estivium*), el maíz (*Zea mays*), donde los hongos ocratoxigénicos: *A. ochraceus* y *P. verrucosum*, pueden crecer. La presencia de OTA en el pan proviene de la harina de estos cereales y probablemente solo una pequeña parte de esta micotoxina es destruida durante el proceso de fabricación del pan (Juan *et al.*, 2007).

Cada país tiene diferentes variedades de pan, pero el más consumido es el de trigo. El pan de maíz es un tipo de pan tradicional muy apreciado y consumido en las regiones del norte y centro de Portugal. En España el consumo medio de pan ha sufrido una importante disminución siendo actualmente de 77 g/p.c./día para el pan blanco y de 6 g/p.c./día para el pan integral (AESAN, 2011a).

Los estudios de OTA en pan se recogen en la Tabla 27.

Tabla 27. Incidencia (Inc.: %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en pan

País/referencia	Producto	Nº muestras	Inc (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2007)	Pan de maíz	15	60	0,03.-2,65	0,43
Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2008b)	Pan total	61	40,9	0,03-5,86	0,23
	Pan de maíz	30	70	n.d.-5,86	0,44
	Pan de trigo	31	12,9	n.d-0,26	0,02
Portugal (Duarte <i>et al.</i> , 2009)	Pan de maíz	5	80	n.d.-0,36	0,28
	Pan de trigo	36	70,8	n.d.-0,4	0,21
Portugal (Bento <i>et al.</i> , 2009)	Pan total	50	74	n.i.	n.i.
	Algarve	30	80	n.d.-0,49	0,2*
	Bragança	20	65	n.d.-0,43	0,3*
Portugal (Duarte <i>et al.</i> , 2010)	Pan total	168	84	n.d.-3,85	0,19
	Pan de maíz avinte (Oporto)	23	95,7	n.d.-3,85	0,49
	Pan de trigo (Oporto)	47	89,4	n.d.-0,89	0,19
	Pan de maíz (Coímbra)	15	86,7	n.d.-0,95	0,48
	Pan de trigo fresco (Coímbra)	30	80	n.d.-1,51	0,34
España (González-Osnaya <i>et al.</i> , 2007)	Pan convencional	74	20,3	0,04-19,6	n.i.
	Pan orgánico	26	23	0,03-0,8	n.i.
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2007b)	Pan de trigo	100	48	0,14-149	13 c

*media de muestras >LOQ, c: muestra positivas; n.i.: no indicado en el artículo, n.d.: no detectado

Incidencia de OTA en pan.

La mayor incidencia de OTA en pan (84%) se detecta en el estudio de Portugal (Duarte *et al.*, 2010), la más baja se observa en el estudio de España (20,3%) (González-Osnaya, 2007). Juan *et al.* (2008b) observaron que el pan de maíz presentaba una mayor prevalencia y niveles de contaminación que el pan de trigo. Duarte *et al.* (2010) detectaron diferencias significativas entre el pan fresco de trigo (incidencia 80%, media 0,34 ng/g) y el de maíz (incidencia 86,7% y media 0,48 ng/g) en Coímbra. También en Oporto, al comparar el pan de trigo y el de maíz se apreciaban diferencias significativas en lo que concierne a los niveles de OTA, presentando el trigo casi la mitad del nivel promedio.

Niveles de contaminación de OTA en pan.

Los niveles de contaminación de las muestras de pan de maíz son muy similares en los distintos estudios, encontrándose niveles de 0,43 ng/g (Juan *et al.*, 2007), 0,44 ng/g (Juan *et al.*, 2008b) y 0,48 ng/g en el de Duarte *et al.* (2010). Estos valores medios son siempre ligeramente superiores a los detectados en pan de trigo, pero tan solo dos muestras de pan de maíz superan los límites establecidos por la UE. No obstante, en ocasiones, en el pan de trigo se detectan valores muy altos, si bien las concentraciones medias son más bajas que las del pan de maíz.

Según los resultados reflejados en los anteriores estudios se puede concluir que el maíz y harina de maíz son mucho más vulnerables a la contaminación por hongos que sus homólogos de trigo y por tanto sus derivados.

Comparando los datos de contaminación del pan de trigo, observamos que en el estudio de Juan *et al.* (2008b) los niveles de OTA encontrados son más bajos, que los obtenidos en los estudios de Bento *et al.* (2009) y de

Duarte *et al.* (2010) en Portugal (0,02 ng/g vs 0,2-0,3 ng/g), siendo inferiores a los límites establecidos en la UE. En González-Osnaya *et al.* (2007) cinco muestras de pan convencional excedían los límites legislados. En Zinedine *et al.* (2007b) en Marruecos el 27% de las muestras están por encima de límite máximo establecido por la UE. El pan más contaminado con OTA es el de Casablanca con niveles de 149,05 ng/g. Estos valores son superiores a los encontrados en Portugal y España, posiblemente debido al clima de Marruecos donde la temperatura y humedad son muy altas. En el estudio de Juan *et al.* (2008b) se detectó una mayor contaminación en el pan fresco que en el pan empaquetado, que podía ser debida al mayor contenido de conservantes de este último tipo de pan.

González-Osnaya *et al.* (2007) estudiaron la presencia de OTA en pan orgánico y pan convencional. Las muestras de pan orgánico presentaban una ligera mayor incidencia de OTA atribuible al reducido uso de aditivos en su elaboración, pero ninguna de estas muestras superaba los límites establecidos en la UE. Sin embargo, en el pan convencional, 5 de las 74 muestras excedían estos límites (pan precocido, pan de molde y pan de miga). En este último estudio se observa una mayor incidencia de OTA en el pan blanco que en las muestras de pan integral, resultado que contrasta con los obtenidos por otros autores, donde se detectan una mayor incidencia en pan con fibra, pudiendo deberse a que la harina utilizada en la elaboración del pan blanco estaba contaminada por OTA. También se observa que el contenido de OTA es mayor en el pan que se ha fabricado solo de trigo que en aquellos en los que se utiliza una mezcla de cereales, resultado que no coincide con la contaminación encontrada por otros autores, donde se detecta una mayor contaminación en pan de cebada, avena u otros cereales. Hecho que podría explicarse a que la presencia de OTA en cereales depende principalmente de las condiciones en que le grano es almacenado, secado y de la calidad

de almacenamiento (Laca *et al.*, 2006). En el estudio de Pacin *et al.* (2010) de Argentina no se encuentra OTA en la harina de trigo (N: 55), sin embargo se detecta DON.

Se puede concluir que el pan es un alimento susceptible a contaminación por OTA y que los niveles detectados varían según el cereal utilizado en su elaboración, tanto la variedad como el tipo de cultivo del cereal, así como del uso de aditivos.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de pan.

La estimación de la ingesta de OTA por consumo de pan se recoge en la Tabla 28, para su cálculo se han utilizado los datos de consumo reflejados en dichos estudios.

La mayor ingesta de OTA a través del consumo de pan se produce en Marruecos, donde se alcanzan valores 7 veces superiores a la IDT establecida por la EFSA (17,2 ng/Kg p.c./día) y 25 veces superiores a lo establecido por el SCF (5 ng/Kg p.c./día).

En el estudio realizado en España (González-Osnaya *et al.*, 2007) estos valores son elevados puesto que representan un 9,3% de la IDT (EFSA, 2006) y un 32% de IDT fijada por el SCF, si bien es necesario tener en cuenta que los datos de consumo de pan utilizados para su cálculo (156 g/día, Mercasa, 2006) son casi el doble de los datos de consumo del resto de países.

Si se calcula la ingesta de OTA en las condiciones más adversas, es decir, tomando los valores de las muestras más contaminadas, los resultados serían los siguientes: 0,96 ng/Kg p.c. de ingesta diaria de OTA correspondiente a un 5,62% de la IDT (EFSA, 2006) en el estudio de Juan *et al.* (2007), 2,13 ng/Kg p.c. de ingesta diaria de OTA y un 12,58% de la IDT en el estudio de

Juan *et al.* (2008b), 0,66 ng/Kg p.c. de ingesta diaria de OTA y un 3,8% de la IDT en Bento *et al.* (2009), 1,3 ng/Kg p.c. de ingesta diaria de OTA y un 7,5% de la IDT en Duarte *et al.* (2010), 50,96 ng/Kg/p.c. de ingesta diaria de OTA y un valor de 2,96 veces más que IDT en el estudio González-Osnaya *et al.* (2007) y en el informe de Zinedine *et al.* (2007b), los valores obtenidos superan 83 veces la IDT de la OTA. Estos resultados muestran que Marruecos es una población altamente expuesta a los efectos de OTA.

Tabla 28. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de pan

País/ referencia	Producto	Peso corporal (Kg)	Datos consumo (g/día)	Media O T A (ng/g)	ID media OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT OTA (17,2 ng/Kg p.c./día)
Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2007)	Pan maíz	60	21,9	0,43	0,15	0,91
Portugal (Duarte <i>et al.</i> , 2009)	Pan maíz	65	21,9	0,28	0,09	0,5
	Pan trigo	65	66	0,21	0,21	1,2
Portugal (Juan <i>et al.</i> , 2008b)	Pan	60	88,9	0,23	0,34	1,9
	Pan trigo	60	67	0,02	0,2	0,17
	Pan maíz	60	21,9	0,44	0,16	0,94
Portugal (Bento <i>et al.</i> , 2009)	Pan Algarve	65	88 a	0,2	0,26	1,5
	Pan Bragança	65	88 a	0,3	0,38	2,0
Portugal (Duarte <i>et al.</i> , 2010)	Pan trigo fresco	65	67	0,34 b	0,35	2,1
	Pan de maíz	65	21,9	0,49 c	0,17	0,99
España (González-Osnaya <i>et al.</i> , 2007)	Pan	60	156	0,62	1,6	9,3
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2007b)	Pan trigo	60	13	577	126	7 veces la IDT

a: Instituto Português do Consumidor (IPC) (2005); b: pan fresco Coimbra; c: avintes maíz Oporto; ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable

Si se compara estos valores con los reflejados en el informe C.E. (2002) donde la IDT de OTA debida al consumo de pan en España era de 0,77 ng/Kg p.c./día, en Alemania de 0,36 ng/Kg p.c./día y en Dinamarca de 0,19 ng/Kg p.c./día, se observa que los datos obtenidos por González-Osnaya *et al.* (2007) son más elevados que los recogidos en este informe (1,6 frente 0,77) y que los valores de ingesta de OTA por consumo de pan en Portugal se suelen situar entre los valores de los alemanes y los daneses.

Pero si se asume que el consumo de pan en España ha experimentado un notable descenso, siendo actualmente, según datos de la AESAN (2011a) de unos 83 g/día, la ingesta diaria media de OTA sería mucho más baja: 0,87 ng/Kg p.c./día, valor que se aproxima a los datos del informe C.E. (2002), no obstante, y dado que el pan forma parte de nuestra dieta habitual, es necesario adoptar una actitud vigilante con objeto de prevenir y evitar la ingesta de OTA a través de este alimento.

Otro dato que se observa es que la ingesta de OTA por consumo de pan es mayor en pan de trigo que la aportada por el pan de maíz, esto es debido a que si bien el pan de maíz está más contaminado que el pan de trigo, debido al mayor consumo de este último (3/4 frente 1/4), contribuye más a la exposición de OTA.

3.1.2. Presencia de OTA en bebidas alcohólicas

3.1.2.1. Presencia de OTA en cerveza

La cerveza es una bebida que se obtiene de la fermentación alcohólica del mosto elaborado principalmente de cebada germinada, sola o mezclada con otros cereales, sustancias amiláceas, levadura y agua potable.

Es la tercera bebida más consumida en el mundo después del agua y el

té. Su consumo en 2010 fue de alrededor 182.69 millones de KI, siendo Asia (33,6%) la región con mayor consumo, seguida de Europa (27,7%), América latina (16,215%) y América del Norte (14,5%), no obstante el mayor consumo de cerveza per cápita es de la República Checa seguida de Alemania (Kirin Institute of Food and Lifestyle, 2010).

Durante las últimas dos décadas, numerosos estudios confirman la presencia de OTA en cervezas procedentes de distintos países del mundo. En el informe de C.E. (2002) se refleja que la cerveza contribuye en un 5% en el total de ingesta de OTA.

La OTA presente en cerveza tiene su origen en la materia prima: cebada o malta o los derivados de cereales usados en el proceso de elaboración. Los granos de cebada contaminada contienen cepas ocratoxigénicas como *A. ochraceus* y de *P. verrucosum* que se transmiten a la cerveza.

La OTA aportada por este cereal es estable a la cocción, pero sufre una reducción a lo largo del proceso de elaboración de la cerveza, de manera que durante la fermentación, la levadura retiene parte del contenido original (eliminando entre 2 hasta 19% de OTA) y el resto es transmitido a la cerveza (Bêlakova *et al.*, 2011).

En la actualidad la UE no ha fijado un límite para esta micotoxina en la cerveza, al considerar que su presencia en esta bebida se debe controlar en otra fase más adecuada de la cadena de producción, en concreto en la malta (Reglamento (UE) nº 105/2010 de la Comisión de 5 de febrero de 2010 que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a la OTA). No obstante, en varios países se ha establecido los límites máximos permitidos para OTA en cerveza, como Países Bajos (0,3 ng/ml), Finlandia (0,5 ng/ml) o Italia (0,2 ng/ml) y muchos autores asumen

como limite recomendado 0,2 ng/ml (Medina *et al.*, 2006).

La Tabla 29 recoge estudios de la OTA en cerveza.

Tabla 29. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/ml) en cerveza

País/referencia	Producto	Nº muestras	Inc. (%)	Rango (ng/ml)	Media (ng/ml)
España (Araguas <i>et al.</i> , 2005)	Cerveza total	31	77	0,205*	0,044
	Con alcohol	21	67	0,205*	0,038
	Sin alcohol	10	100	0,152	0,056
España (Medina <i>et al.</i> , 2005)	Cerveza total	88	82,9	0,007-0,204	n.i.
	Nacional	31	83,8	0,007-0,147	0,036
	No nacional	57	82,5	0,007-0,204	0,046
España (Medina <i>et al.</i> , 2006)	Cerveza total	69	100	0,008-0,498	0,070
	Nacional	35	100	n.i.	0,085
	No nacional	34	100	n.i.	0,055
Italia (Bertuzzi <i>et al.</i> , 2011)	Cerveza	106	67,9	0,002-0,189	0,019
Turquía (Kabak, 2009a)	Cerveza	35	14	0,012-0,045	0,02
	Nacional	31	13	0,012-0,045	n.i.
	Importada	4	25	0,012	n.i.
República Checa (Bêlakova <i>et al.</i> , 2011)	Cerveza	115	39	0,001-0,244	n.i.
Hungría (Varga <i>et al.</i> , 2005)	Cerveza	25	100	0,030-0,250	0,13
Corea (Park <i>et al.</i> , 2005)	C. doméstica	45	4,34	0,2-0,3	0,20

C.: cerveza; n.i.: no indicado; *: valor máximo

Incidencia de OTA en cerveza.

Los estudios recientes de OTA en cerveza muestran incidencias que varían entre 14% (Kabak, 2009a) y el 100% (Medina *et al.*, 2006), si bien en la mayoría se observan incidencias superiores a los datos obtenidos por la C.E. (2002) (39% de incidencia en cerveza). El motivo de las diferencias entre los distintos estudios puede ser atribuible a los diferentes métodos de detección y a la distinta calidad de la malta utilizada.

En el estudio de Medina *et al.* (2006) se observa la mayor incidencia (100%) que en el resto de los estudios, si bien solo cinco muestran superar el valor asumido de 0,2 ng/ml de OTA. Estos niveles son similares a los recogidos en informe emitido por C.E. (2002) para España, donde en un 97% de muestras se detectó OTA. Y difieren del estudio de Romero-González *et al.* (2010) donde en ninguna muestra se detecta OTA. En Hungría (Varga *et al.*, 2005) todas las muestras de cerveza analizadas están contaminadas con pequeñas cantidades de OTA (100% de incidencia), pero solo una muestra presenta un valor superior a 0,2 ng/ml. En Araguas *et al.* (2005) la incidencia también es alta (77%), pero ninguna muestra se encuentra por encima límite legal propuesto, solo una muestra se sitúa próxima al mismo. Bertuzzi *et al.* (2011) en Italia la incidencia del 68% es similar a la de Araguas *et al.* (2005) pero la contaminación por OTA es menor. En la República Checa (Bêlakova *et al.*, 2011) la incidencia de OTA (39%) se corresponde con los datos obtenidos por la C.E. (2002) y tan solo en una de las muestras de “cerveza pale” el resultado es más alto, con un valor de: 0,2438 ng/ml. En Kabak (2009a) la incidencia de OTA en cerveza es la más baja (14%) y ninguna de las muestras supera el valor tomado como referencia.

Niveles de OTA en la cerveza.

Las concentraciones medias de OTA cerveza varían poco, siendo su va-

lor medio inferior a 0,2 ng/ml, con excepción de las muestras analizadas por Medina *et al.* (2006) donde se observa un valor máximo de 0,5 ng/ml.

Si se compara los niveles de contaminación medios de las muestras de los diferentes estudios con los obtenidos en C.E. (2002) donde la media general de OTA en 496 muestra de cerveza fue 0,03 ng/g, se observa niveles de contaminación promedio ligeramente mayores, pero siempre inferiores a 0,1 ng/ml.

Bertuzzi *et al.*(2011) detectaron que los niveles de contaminación de las muestras del sur de Europa (Italia, España, Turquía y Armenia, los Balcanes) fueron siempre inferiores a 0,04 ng/ml, existiendo una diferencia significativa respecto al resto de cervezas. La cerveza de Dinamarca presentaba los niveles de contaminación más altos (0,189 ng/ml) (Bertuzzi *et al.*, 2011). La baja contaminación de OTA en la cerveza del sur de Europa podría ser explicada por el hecho de que *P. verrucosum* es particularmente importante en el norte de Europa, donde se dan condiciones de frío y de humedad (Bertuzzi *et al.*, 2011). Estos resultados difieren de los recogidos en el informe C.E. (2002) donde no se encontraron diferencias entre la contaminación de las muestras de cerveza del norte de Europa y las del sur.

Tanto en el estudio de Araguas *et al.*(2005) como en el Kabak (2009a) se refleja que no existen diferencias significativas entre cervezas sin alcohol y con alcohol, pero la incidencia y niveles medios de contaminación son más elevados en las no alcohólicas, posiblemente debido a los diferentes procesos de elaboración a que son sometidas ambas cervezas. En las cervezas sin alcohol no se produce fermentación o es controlada, y si consideremos que la fermentación reduce el contenido de OTA, en este tipo de cerveza cabe esperar una mayor contaminación.

Por tanto, se puede concluir que estos resultados difieren de informe C.E.

(2002), donde la incidencia (39%) y los niveles de contaminación eran bastante bajos: 0,03 ng/g, si bien la medias de contaminación nunca superan el valor recomendado por algunos autores (0,2 ng/ml), y además se detectan diferencias entre las cervezas de diferentes orígenes.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cerveza.

En la Tabla 30 se recoge el cálculo de ingesta humana de OTA debida al consumo de cerveza.

Tabla 30. Estimación de ingesta de OTA por consumo de cerveza

País/ referencia	Producto	Peso corporal (Kg)	Datos consumo (ml/día)	Media OTA (ng/g)	ID media OTA (ng/ Kg p.c./ día)	% IDT OTA (17, 2 ng/Kg p.c./día)	% SCF
España (Araguas <i>et al.</i> , 2005)	Cerveza	60	500	0,044	0,36	2,09	7,2
España (Medina <i>et al.</i> , 2005)	Cerveza nacional	60	500*	0,036	0,29	1,7	5,9
España (Medina <i>et al.</i> , 2006)	Cerveza	60	500*	0,070	0,58	3,4	11,6
Italia (Bertuzzi <i>et al.</i> , 2011)	Cerveza	60	197	0,019	0,06	0,36	1,24
Hungría (Varga <i>et al.</i> , 2005)	Cerveza	60	200	0,127	0,42	2,44	8,4
Turquía (Kabak, 2009a)	Cerveza	60	33	0,02	0,011	0,06	0,22
Corea (Park <i>et al.</i> , 2005)	Cerveza	55	24,9	0,2	0,09	0,52	1,8

*Recogido en Araguas *et al.* (2005), ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable

Evaluando la ingesta de OTA atribuible a la cerveza se observa que incluso considerando los valores más altos recogidos en el estudio de Medina

et al. (2006), la cerveza contribuye como máximo en un 3% a la ingesta de OTA, valor inferior al recogido en informe de C.E. (2002): 5% en el total de ingesta de OTA. No obstante, se encuentran muy por debajo a la IDT establecida en la EFSA (2006).

En el estudio de Corea, la ingesta de OTA atribuible a la cerveza es muy baja, pero sería recomendable efectuar una nueva valoración atendiendo a los datos de consumo actuales, dado que en los últimos años Asia ha experimentado un notable incremento del consumo de cerveza (Kirin Institute of Food and Lifestyle, 2010).

Con todos estos datos se puede concluir que, aunque la cerveza no constituye un factor importante para la exposición de OTA en la población, si es una fuente adicional para esta micotoxina que es necesario tener en cuenta y controlar.

3.1.2.2. Presencia de OTA en vino

El vino es uno de los subproductos más importantes de la uva, es una bebida ampliamente consumida tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo. Según la estimación de la OIV (Organización Internacional de la Viña y el Vino), la producción mundial de vino del año 2011 (sin contar zumo y mosto) se situó en 265,8 millones de hectolitros, unos 600.000 HI más que en el año 2010 (OIV, 2012). España produjo el 12,9% de la misma, con 34,3 millones de HI de vino (OEMV, 2012).

La OTA presente en las uvas puede ser transferida de las uvas al vino durante su elaboración. El vino representa, después de los cereales, la principal fuente de ingesta diaria de OTA para esta población y supone el 13% de la ingesta total de OTA en la UE. Los niveles de OTA en el vino depende de diferentes factores como la ubicación de los viñedos (latitud), el clima: pre-

cipitaciones, la temperatura ambiental y la humedad relativa en los viñedos, la fecha de recolección, tratamientos fitosanitarios y las distintas técnicas de elaboración del vino. En el vino la UE permite un contenido máximo de OTA de 2 ng/g.

Hay una gran variedad de tipos de vinos, siendo su clasificación muy compleja. En la mayoría de estudios se observa que los niveles de OTA son más altos en los vinos tintos que en los rosados, seguido de los blancos, debido a la maceración del mosto con el hollejo de la uva, lo cual podría favorecer la extracción de OTA de ellos. En el caso de los vinos dulces o especiales, las prácticas enológicas varían mucho en comparación con los vinos secos, por lo que se pueden dar diferentes concentraciones de OTA, que son generalmente mayores que las de vinos secos (Covarelli *et al.*, 2012). Estos vinos se pueden clasificar atendiendo al tipo de crianza, que puede ser biológica (donde el mosto es protegido del contacto directo del aire por la formación de un velo natural de flor, incluye el fino y la manzanilla) o crianza oxidativa o fisicoquímica (donde el mosto entra en contacto con el aire: vinos oloroso), o bien según el tipo de fermentación, fermentación total: vinos generosos, fortificados o secos y fermentación parcial: vinos dulces naturales, donde el mosto procede de uvas maduras, con alto contenido en azúcar, cuya fermentación se interrumpe por la adición de alcohol vínico. Las uvas maduran por diferentes técnicas, por cosecha tardía, por exposición al sol: Pedro Ximénez, por deshidratación en lugares cerrados: cámaras frías o calientes, por colonización por hongos: *botrytis cinerea* dando lugar a podredumbre noble: vinos nobles, o deshidratación de uvas por cosecha en invierno: vino de hielo (Valero *et al.*, 2008).

En el Reglamento Europeo (CE) N° 1493/1999, del Consejo de 17 de mayo de 1999 por el que se establece la organización común del merca-

do vitivinícola (C.E., 1999), se define “vino de licor” aquel producto con un grado alcohólico volumétrico adquirido no inferior al 15% vol. ni superior al 22% vol. o con un grado alcohólico total de no menos de 17,5% vol., a excepción de ciertos vinos de licor producidos en regiones determinadas, perteneciendo a esta categoría de los vinos dulces naturales. La UE no ha establecido los niveles de OTA en estos vinos (excluye los vinos de licor y los vinos con un grado alcohólico mínimo de 15% vol.) y, a pesar de que son muchos los estudios sobre OTA en vinos secos de diferentes países del Mediterráneo, son pocas las revisiones sobre la presencia de OTA en los vinos dulces o especiales (Valero *et al.*, 2008).

Estudios de OTA en vinos españoles.

España es el tercer país del mundo con mayor producción de vino, detrás de Francia e Italia (OIV, 2012). Cuenta actualmente 69 denominaciones de origen (MAGRAMA, 2012). En España encontramos bibliografía reciente de la presencia de OTA en vinos típicos de nuestras regiones: vinos de Jerez y manzanilla y vinos de la rioja Alavesa, que se recoge en la Tabla 31.

Hernández *et al.* (2006) encontraron OTA en un 75% de los vinos dulces de moscatel y en un 100% de Pedro Ximénez. Burdaspal & Legarda (2007) estudiaron 290 muestras de vino dulce de diferentes orígenes, correspondiendo 188 a vino nacional. La tasa de incidencia fue del 97%, reflejando la presencia generalizada de OTA en este tipo de vino en todo el mundo. Un 9,6% de la muestras de vino de origen Español superaba los límites de la legislación de la EU no aplicable a vinos licorosos (2 ng/g). Las condiciones climáticas influían en los niveles de OTA encontrados en los vinos de diferente origen procedentes de un mismo país, observando los niveles más altos de OTA en los vinos producidos en aquellas zonas con condiciones climáticas favorables, principalmente en la zona mediterránea.

Tabla 31. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/ml) en vinos españoles

Referencia	Producto	Nº muestras	Inc. (%)	Rango (ng/ml)	Media (ng/ml)
Hernández <i>et al.</i> (2006)	Moscatel	8	75	n.d.- 3,42	1,81
	Pedro Ximénez	8	100	0,39- 7,30	2,86
Burdaspal & Legarda (2007)	Vino dulce total	290	97	0,01-4,63	0,5
	Vino Español	188	99		0,65
Valero <i>et al.</i> (2008)	Vinos especiales	121	50	LOD-27,79	1,49
Murillo-Arbizu <i>et al.</i> (2010)	Jerez y manzanilla	40	80	<LOD-0,642	0,138
Quintela <i>et al.</i> (2011)	Vino tinto joven	100	57	0,004-0,179	0,035
	tinto crianza	32	53	0,007-0,179	0,037
	tinto reserva	41	63	0,004-0,169	0,04
	tinto reserva gran reserva	18	56	0,004-0,060	0,022
	Vino blanco	3	33	--	0,048
	rosado	3	67	0,013-0,015	0,014
			3	33	--
Quintela <i>et al.</i> (2012)	Vino tinto exportado con	R.U. 16	88	0,010-0,237	0,051
	DOCa Rioja	Alemania 8	88	0,06-0,138	0,085
		Suiza 3	100	0,03-0,353	0,149
		EEUU 3	67	0,063-0,309	0,125

n.d.: no detectado, DOCa: denominación origen calificada, lod: límite de detección

Valero *et al.* (2008) estudiaron la presencia de OTA en 121 vinos especiales obtenidos con diferentes técnicas de vinificación y de diferentes orígenes europeos, detectando una incidencia total de 50% y una media de 1,49 ng/ml. Los vinos que presentaban mayor incidencia y concentración fueron los correspondientes a mostos fortificados (mistela y moscatel), con un 91% de incidencia, 4,48 ng/ml de media de OTA y máximos de 27,79 ng/ml y los vinos procedentes de uva sobre madurada al sol (Pedro Ximénez, Malvasía) con un 91% de incidencia, media de 2,77 ng/ml y máximos de 15,62 ng/ml. Los mostos fortificados podían presentar una mayor contaminación debida a que la fermentación se interrumpe y que, por tanto, la posible eliminación de

OTA, referida por ciertos autores, que se produce durante este proceso, no tiene lugar. La incidencia y contaminación por OTA observada en los vinos elaborados a partir de uvas secadas al sol, en comparación con los vinos elaborados con uva deshidratadas en cámaras frías y calientes, era mucho mayor, hecho que podría justificarse al considerar que en los tres casos la fermentación progresa lentamente debido a la alto contenido de azúcar de los mostos y a que los vinos son envejecidos en madera y que, por tanto, las variaciones en el contenido de OTA dependen principalmente del proceso de deshidratación. La práctica de deshidratación de la uva al sol, empleada en estos vinos dulces, se produce en un entorno abierto donde se crean unas condiciones favorables para el crecimiento de *A. carbonarius*, y por tanto de producción de OTA (Valero *et al.*, 2008).

Valero *et al.* (2008) observaron también que la mitad de los vinos fortificados de larga crianza envejecidos en barricas de madera (Oporto, Jerez, etc.) se encontraban contaminados por OTA (52% de incidencia) y que los vinos de cosecha tardía, vinos de hielo y los vinos nobles, no presentaban contaminación, debido principalmente a que estos vinos se elaboraron en regiones frías de Europa. Y alrededor de un 20% del total de las muestras analizadas contenían niveles de OTA por encima del máximo permitido para UE en el vino.

Murillo-Arbizu *et al.* (2010) estudiaron el contenido de OTA en vinos generosos con denominación de origen Jerez: fino, amontillado y olorosos y manzanilla Sanlúcar de Barrameda. Un 80% de la muestras contenían niveles de OTA detectable, si bien ninguna de ellas presentaba un concentración superior a 2 ng/g. La concentración media detectada era de 0,138 ng/ml, siendo muy similar a la detectada en vinos blancos y vinos aperitivos encontrados en otros trabajos. Se observó una relación entre el tipo de crianza del

vino y la incidencia y concentración de OTA, detectando que aquellos que sufren un crianza biológica, la tasa y la concentración de OTA es más baja.

Quintela *et al.* (2011) estudiaron el contenido de OTA en 100 vinos de la Rioja Alavesa. La denominación de origen cualificada (DOCa) Rioja es una de las más antiguas en España. Esta zona presenta cuatro fitoclimas: semiárido, seco, subhúmedo y húmedo, además se encuentra influenciada por el Océano Atlántico y por el mar Mediterráneo. La mayor parte de vino producido en esta región es vino tinto y dependiendo del tipo de proceso de elaboración se puede encontrar vino joven, crianza, reserva y gran reserva. La OTA ha sido detectada en un 57% del total de muestras de esas áreas, el rango de concentración está entre 0,004 y 0,179 ng/ml, con una concentración media de 0,035 ng/ml. Todos los valores detectados están por debajo de los límites establecidos por la UE. El número de muestras positivas era más alto en zona semiárida que en la zona seca, mostrando diferencias significativas, hecho que podría explicarse porque en la zona semiárida hay menos lluvias y más altas temperaturas, sin embargo no existe diferencias significativas entre las concentraciones, atribuible a las buenas prácticas de cultivo y fabricación. Tampoco detectaron diferencias entre los distintos tipos de vinos y procesos de producción, hecho que difiere de otros autores, donde el vino tinto presenta mayor contaminación.

Romero-González *et al.* (2010) determinaron la OTA en bebidas alcohólicas, detectado una incidencia de 1/9 en el vino analizado y una concentración de 1,1 ng/g.

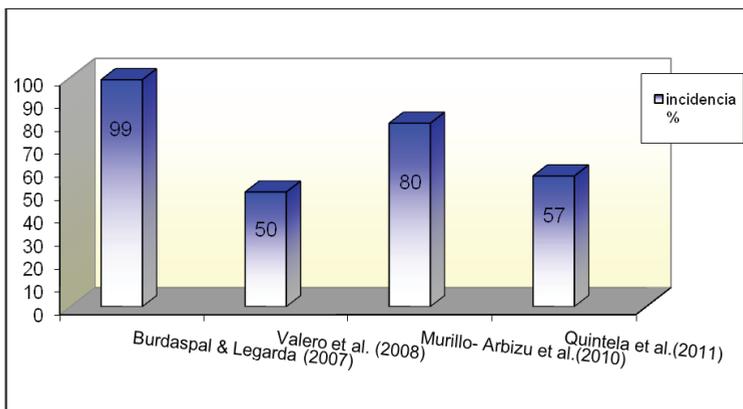
Quintela *et al.* (2012) observaron que la incidencia y la contaminación de OTA en vinos de exportación con DOCa Rioja fueron significativamente más altas que los valores obtenidos en Quintela *et al.* (2011) de vinos de DOCa Rioja. La media de OTA en los vinos analizados era de 0,077 ng/ml frente a

la media de 0,037 ng/ml de la última referencia. También se detectó al comparar el origen de los vinos una mayor presencia y concentración de OTA en vinos procedentes de las regiones del sur de Europa.

Por tanto, se puede concluir que si bien las incidencias de OTA detectadas en los vinos españoles son altas, tal como se refleja en la Figura 10, alcanzando el 100% en vinos Pedro Ximénez, las concentraciones medias no exceden los límites establecidos en la UE. Las incidencias recogidas en los trabajos anteriores son superiores a la incidencia reflejada en el informe C.E. (2002): 59% y se encuentran próximas a la incidencia detectada en los vinos del sur de Europa (72%); las medias de contaminación también son más altas que la media de OTA en vino recogida en dicho informe para España: 0,03 ng/ml.

Además, se confirma que los vinos dulces (mostos fortificados como la mistela y los procedentes de uvas sobre maduras al sol) presentan una incidencia y concentración más elevada que el resto de vinos donde se alcanzan valores máximos de 27,79 ng/ml en mostos fortificados (Valero *et al.*, 2008).

Figura 10. Gráfico de la presencia de OTA (incidencia: %) en vinos españoles



Estimación de la ingesta de OTA por consumo de vino españoles.

La evaluación de ingesta de OTA por consumo de vinos españoles se recoge en la Tabla 32.

Tal como se refleja en la Tabla 32 la ingesta de OTA debida al consumo de vino en población general es inferior a 0,1 ng/kg p.c./día, representando como máximo un 1,31% de la IDT. Los niveles de exposición, tanto para la población general como para los consumidores de vino dulce, son muy inferiores a las IDT establecida por el EFSA (2006).

Tabla 32. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de vinos españoles

Referencia	Producto	Peso corporal (Kg)	Datos consumo* (ml/día)	Media OTA (ng/ml)	ID media OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Burdaspal & Legarda (2007)	Vino dulce total español	60	58,2 a 4,93 b	0,65	0,63 0,05	3,6 0,3
Valero <i>et al.</i> (2008)	Vinos especiales	60	4,93	1,49	0,12	0,7
Murillo-Arbizu <i>et al.</i> (2010)	Jerez y manzanilla	60	50	0,138	0,115	0,66
Quintela <i>et al.</i> (2011)	Vino de Rioja	70	24,22	0,035	0,012	0,06
Quintela <i>et al.</i> (2012)	R. Unido	70	65,75	0,051	0,048	0,28
	Alemania	70	56,7	0,085	0,069	0,40
	Suiza	70	105,75	0,149	0,225	1,31
	EEUU.	70	25,72	0,125	0,046	0,27

*datos de consumo recogidos en los distintos trabajos, a: Consumidor, b: población general; ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable

Estos niveles son más elevados que los reflejados en el informe C.E. (2002) donde se recoge un ingesta diaria de OTA por ingesta de vino de 0,07 ng/Kg p.c./día para España, pero hay que tener en cuenta que en el estudio

de Murillo-Arzibu *et al.* (2010) asumieron una ingesta de 50 ml/ día de vinos aperitivos, dato mucho más alto que el contemplado por UE en el informe anterior (2.93 g/persona/día). No obstante, la contribución a la ingesta de OTA podría ser mayor en aquellos casos donde los consumidores fueran de menos de 60 kg y se produjera un consumo regular de vinos con los niveles máximos de contaminación detectada.

Por tanto, es importante tener en cuenta que el vino es una de las posibles fuentes de OTA para seres humanos y hay que asumir un actitud vigilante para evitar el consumo humano de OTA.

Estudio de OTA en vinos de Portugal.

Portugal presenta una gran diversidad climática entre las regiones, influenciadas por el océano Atlántico y por el mar Mediterráneo. Estas diferencias climáticas y geográficas condicionan el crecimiento de los hongos y por tanto la contaminación de la uva por OTA.

Pena *et al.* (2010) estudiaron 60 muestras de vino (35 de tinto, 25 de blanco) de diferentes regiones de Portugal. Un 26% de las muestras de vino tinto y 12% de las muestras de vino blanco se encontraban contaminadas por OTA. Solo una muestra excedía el máximo permitido por la UE de 2 ng/g y correspondía al vino blanco, hecho que difiere del resto de autores y que podría explicarse por la baja calidad de la muestra, dado que generalmente los vinos blancos presentan niveles de OTA más bajos que los rosados y los tintos. En este estudio se estima la IST de OTA con las concentraciones más altas (1,23 ng/ml en vino tinto y 2,4 ng/ml en vino blanco), considerando que el consumo de vino es de 49,9 l/habitante/año (136,7 ml/persona/día) y en un adulto de 60 kg, la IST de OTA es de 20 a 38 ng/Kg p.c. (2,8 ng/Kg p.c./día a 5,5 ng/Kg p.c./día). Estos valores representan un 17% y 32% de la IST.

Estudio de OTA en vinos italianos.

Italia es el segundo país productor mundial de vino según los datos del OIV (2012) y uno de los países con mayor índice de consumo por habitante. Son numerosos los estudios de presencia de OTA en vino italiano. En la Tabla 33 se muestran estudios recientes de esta micotoxina.

En todos los vinos italianos, en general, se detecta un alto porcentaje de contaminación pero bajos niveles medios de OTA. La incidencia de OTA, correspondiente al total de los vinos analizados en los diferentes estudios, oscila entre 51-77%, pero si se compara la incidencia en los distintos tipos de vinos se observa que en el estudio de Bacaloni *et al.* (2005) el vino tinto en caja alcanza hasta un 100% de incidencia y en Brera *et al.* (2008) el vino rosado un 92%.

Casi todos los autores coinciden que la incidencia y la concentración de OTA decrece siguiendo el orden de tintos, postres, rosados, blancos, hecho que podría explicarse por las diferentes condiciones tecnológicas utilizadas en el proceso de elaboración, menos en Brera *et al.* (2008) donde se observa mayor incidencia en vinos rosados (Tabla 33).

Brera *et al.* (2005) no detectaron OTA en los vinos procedentes de Hungría y en los vinos italianos un 0,01% excedían el límite establecido por la UE. Aresta *et al.* (2006) detectaron que son los vinos tintos los que muestran mayor incidencia y concentración de OTA, con un valor máximo de 2,92 ng/ml, dato ligeramente superior al fijado por la UE. En Chiodini *et al.* (2006) ninguna muestra de vino contenía concentraciones de OTA por encima de 2 ng/ml y no observaban diferencias significativas entre la concentración de OTA en vino orgánico y convencional. Se ha sugerido que el uso de fungicidas en agricultura convencional puede provocar estrés en los hongos y estos generar sus toxinas. También se ha sugerido que los fungicidas podían

combatir hongos patógenos, pero no la producción de hongos productores de OTA que al no tener competencia se encontraban en mejores condiciones de crecimiento y producción de OTA. En Brera *et al.* (2008) solo un 2,2% de las muestras excedían los límites de la UE, alcanzándose valores máximos de 7,5 ng/ml en vino tinto.

Tabla 33. Incidencia (Inc. %), concentración media y máxima de OTA (ng/ml) en vinos italianos

Referencia	Tinto			Rosado			Blanco		
	Inc. %	Media (ng/ml)	Máx. (ng/ml)	Inc. %	Media (ng/ml)	Máx. (ng/ml)	Inc. %	Media (ng/ml)	Máx. (ng/ml)
Bacaloni <i>et al.</i> (2005)	*82 **100	0,29 0,33	1,4 0,87	71,4 ---	0,32 ---	0,82 ---	62 66	0,16 0,14	0,42 0,17
Brera <i>et al.</i> (2005)	84	n.i.	4,0	56	n.i.	1,04	19	n.i.	0,21
Aresta <i>et al.</i> (2006)	55	0,72	2,9	50	0,34	0,40	40	0,9	1,95
Chiodini <i>et al.</i> (2006)	n.i.	0,18a 0,16b	0,75 0,72	n.i.	n.d. 0,09	n.i.	n.i.	0,06 0,08	0,18 0,22
Brera <i>et al.</i> (2008)	69	0,34	7,5	92	0,5	4,07	44,3	0,08	1,95
Spadaro <i>et al.</i> (2010)	69	0,12	2,630	---	---	---	61,3	0,08	1,36

* botella; ** caja; a: convencional; b: orgánico, n.i.: no indicado, n.d.: no detectado, máx.: concentración máxima de OTA

Se ha estudiado la influencia de la latitud sobre la presencia de OTA en vinos en Italia y se ha observado un gradiente de concentración de norte a sur, especialmente en vino tinto, atribuible al calor y las condiciones climáticas de humedad que favorece el crecimiento de hongos y consecuente la producción de OTA. Brera *et al.* (2008) detectaron que la concentración media de OTA aumentó de manera gradual desde el norte (0,01 ng/ml) hasta

el sur de Italia (0,54 ng/ml).

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de vino italianos.

La evaluación de ingesta de OTA por consumo de vinos italianos se recoge en la Tabla 34.

Se observa que la ingesta de OTA por consumo de vino en Italia como máximo es de 1,4 ng/Kg p.c./día, que representa un 5,6%-8% de la IDT establecida por la EFSA (2006). E incluso en el peor de los casos, en Brera *et al.* (2008), calculando la ingesta de los consumidores habituales de vino en el sur de Italia y las islas y teniendo en cuenta los datos de consumo medio, se obtuvo una exposición muy baja (1,68 ng/ Kg p.c./día) que representaba el 9,8% de la IDT.

Tabla 34. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de vinos italianos

Referencia	Peso corporal (Kg)	Datos consumo (ml/día)	Media OTA (ng/ml)	ID media OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Bacaloni <i>et al.</i> (2005)	70	250	0,14 - 0,33	0,5 - 1,2	2,9-6,9
Brera <i>et al.</i> (2005)	70	159,7 a	0,4 - 0,6	0,9-1,4	5,6-8
Brera <i>et al.</i> (2008)	70	83,7 b	0,28 c	0,3	1.9
Spadaro <i>et al.</i> (2010)	70	83,7	0,12 d 0,08 e	0,14 - 0,09	0,8 0,5

a: valor informe C.E. (2002) para consumidores; b: consumo población general; c: vino de muestras totales, d: vino tinto; e: vino blanco, ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable

Estos valores son similares a los recogidos en informe C.E. (2002) donde la ingesta de OTA por vino era de 0,86 ng/Kg p.c./día en población general y de 2,94 ng/Kg p.c./día para los consumidores.

Por ello la ingesta de OTA por consumo de vino no supone un riesgo para la salud de la población italiana.

Estudios de OTA en vino en otros países de UE y fuera de la UE.

En la Tabla 35 se recogen estudios de otros países. Se observa, que aunque el porcentaje de muestras positivas indican una alta incidencia de contaminación, alcanzando hasta el 98%, la mayoría de las muestra analizadas presentan bajos niveles de OTA.

Tabla 35. Incidencia (Inc. %), concentración media y rango de OTA (ng/ml) en vinos de otros países

País/referencia	Muestras	Inc. (%)	Media (ng/ml)	Rango (ng/ml)
Grecia (Labrinea <i>et al.</i> , 2011)	150 Vino dulce Vino seco	69 81,5 66,7	0,26 0,57 0,17	n.i. n.d.-2 n.d.-1,5
Turquía (Var & Kabak, 2007)	tinto rosado blanco	86 90 85	0,11 0,052 0,108	0,01-0,82 0,01-0,16 0,006-0,62
Hungría (Berente <i>et al.</i> , 2005)	87	0	n.d.	-----
Hungría (Varga <i>et al.</i> , 2005)	65	97,7	0,01	0-0,53
Croacia (Flajs <i>et al.</i> , 2009)	10 vino 6 mosto	80 100	n.i.	0,005-0,02 0,02-0,05

n.i.: no indicado, n.d.: no detectado

Labrinea *et al.* (2011) detectaron una alta frecuencia de OTA en los vinos de Grecia (69%), sin embargo en la mayoría de muestras los niveles de contaminación eran relativamente bajos (media de OTA 0,26 ng/ml), un 91% de las muestras presentan concentraciones de OTA inferiores a 1,0 ng/ml y solo una muestra alcanzaba el nivel máximo permitido por la UE. En el estudio de Var & Kabak (2007) todas las muestras de vinos procedentes de Turquía estaban por debajo de los límites establecidos por la UE. Berente *et al.* (2005) no detectaron OTA en las 87 muestras analizadas de vino de Hungría, hecho que confirma la teoría del gradiente de norte a sur, donde la contaminación por OTA es menos probable en las regiones del norte, sin embargo, Varga *et al.* (2005) detectaron que un 97,7% de los vinos de Hungría se encontraban contaminados por OTA, pero solo una muestra de vinos contenían más de 0,5 ng/ml.

Labrinea *et al.* (2011) encontraron una mayor incidencia y concentración de OTA en vino de postre (dulces) que en los vinos secos resultado que coincide con Valero *et al.* (2008) donde la detección de OTA en vinos dulces excede el 90% de las muestras analizadas, alta incidencia en comparación con la de los vinos secos.

En Labrinea *et al.* (2011) se observa un aumento del grado de contaminación en los vinos desde el norte al sur de Grecia (media de OTA en vino del norte, oeste y centro de Grecia: 0,08 ng/ml, media de OTA en el sur de Grecia: 0,23 ng/ml), especialmente en vinos de postre, igual que Var & Kabak (2007) que observaron que la localización geográfica de origen tenía una fuerte influencia en los niveles de OTA de los vinos. Los vinos del noroeste y oeste de Turquía se encontraban más contaminados que los vinos del centro, pero diferían de Varga *et al.* (2005) en Hungría donde el gradiente norte-sur no era tan evidente.

Como se ha comentado previamente se detecta el gradiente de concentración de OTA en vinos de diferentes colores. En Var & Kabak (2007) y Varga *et al.* (2005) las más altas concentraciones se observaron en vino tinto, mientras que en Lambrinea *et al.* (2011) los vinos tintos presentaban una mayor incidencia de OTA que los blancos, pero la media era similar.

En Labrinea *et al.* (2011) no se apreciaban diferencias significativas en los niveles de OTA en vino cultivado de forma convencional y orgánica. La incidencia en vino convencional es 70,9% y en vino orgánico es 63%, y la media en vino convencional es 0,28 ng/ml y en vino orgánico es 0,12 ng/ml, hecho que coincide con Chiodini *et al.* (2006) que tampoco detectaron diferencias significativas entre ambas formas de cultivo.

Flajs *et al.* (2009) en Croacia estudiaron la presencia de OTA en 6 muestras de mosto tinto, seis de vino obtenido a partir de dicho mosto y cuatro muestras de vino embotellado en 2007, detectando que todas las muestras de mosto, a diferencia del vino, se encontraban contaminadas por OTA. La concentración de OTA en mosto era superior a los vinos. La OTA presente en el mosto estaba relacionada con la contaminación de uvas durante el prensado y la maceración, su concentración disminuía durante la fermentación, pero no se eliminaba completamente. No encontraron ninguna colonia de *Aspergillus carbonarius* ni en el mosto ni en el vino, a pesar de que ser el más común productor de OTA, hecho que podría explicarse por la presencia de otros hongos productores de OTA como el *A. tubingensis*, *A. ochraceus* o *A. niger*.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de vino.

Varga *et al.* (2005) calcularon la ingesta de OTA por ingesta de vino, observando que para una persona de 60 Kg con un consumo semanal de 100 ml, la ingesta diaria de OTA era de 0,18 ng, lo que suponía un 3,6% de la

ingesta diaria establecida por el SCF (5 ng/Kg p.c./día).

Por tanto, se puede concluir que, aunque es difícil comparar el porcentaje de muestras positivas y los niveles de OTA en vino entre los distintos países, debido a la gran variedad de vinos analizados y las diferencias entre los LOD de los métodos de análisis empleados, el vino tinto y el dulce parecen ser los más contaminados y las muestras del sur muestran mayor incidencia y concentraciones de esta micotoxina.

3.1.3. Presencia de OTA en condimentos y especias

Las especias o condimentos aromáticos son las plantas o partes de las mismas, frescas o desecadas, enteras, troceadas o molidas, que por su color, aroma o sabor característicos se destinan a la preparación de alimentos y bebidas, con el fin de incorporarles estas características, haciéndolos más apetecibles y sabrosos. Generalmente tras su recolección se secan, almacenan y se comercializan.

Las especias se producen tradicionalmente en los países tropicales, donde el clima es propicio para la contaminación por micotoxinas (alta temperatura, humedad y precipitaciones). Normalmente, se desecan en el suelo, al sol y en unas condiciones higiénicas que favorecen el crecimiento de hongos y producción de OTA.

La UE produce pocas especias, la mayoría las importa. La producción total de la UE de especias ascendió a 125 mil de toneladas en el año 2010, de las cuales el 95% consistió en pimentón y chile, la mayor parte producidas en Hungría y Rumania. En España destaca la producción de pimentón de Cáceres y Murcia, ampliamente utilizado como ingrediente en la gastronomía española (IBCE, 2010). Según el informe de C.E. (2002) las especias contribuyen en un 8% en el total de ingesta de OTA en la UE.

En el norte de África, las especias, tanto de producción local como las importadas, son uno de los alimentos más susceptibles a la contaminación por OTA. La población de Túnez utiliza diariamente gran variedad de especias, para dar aroma a los alimentos así como por sus propiedades antioxidantes (Zaied *et al.*, 2010). Por ello, es necesario el control de los niveles de OTA en especias, para garantizar un producto libre de contaminación, disminuir el riesgo para la salud y mejorar su calidad (Shundo *et al.*, 2009).

El Reglamento (UE) nº 105/2010 de la Comisión de 5 de febrero de 2010 que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, estableció la concentración máxima de OTA en las especias del genero *Capsicum* spp. (frutos de dicho género secos, enteros o pulverizados, con inclusión de los chiles, el chile en polvo, la cayena y el pimentón), *Piper* spp. (frutos, con inclusión de la pimienta blanca y negra) *Myristica fragrans* (nuez moscada) *Zingiber officinale* (jengibre), *Curcuma longa* (cúrcuma) y la mezcla de especias que contengan una o más de las especias antes mencionadas, siendo el nivel máximo de OTA permitido hasta el 30 de junio de 2012 de 30 µg/Kg y de 15 µg/Kg a partir de julio del 2012. El Reglamento (UE) nº 594/ 2012 de la Comisión de 5 de julio de 2012 que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 ha aplazado la aplicación del menor contenido máximo de *Capsicum spp* permitiendo hasta el 31.12.2014 valores de 30 µg/Kg.

La contaminación de especias por OTA ha sido descrita en diversos estudios, algunos de ellos se recogen en la Tabla 36, si bien hay que indicar que son anteriores a la aplicación de Reglamento (UE) nº 105 anteriormente mencionado, por lo que asumen un límite máximo de OTA 10 ng/g mucho más restrictivo que el actual.

3. Resultados y discusión

Tabla 36. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en especias

País/ referencia	Producto	Nº muestras	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Túnez (Ghali <i>et al.</i> , 2008)	Comino, pimienta roja pimienta negra, jengibre	14	57,1	1,7-7,2	3,5
Túnez (Ghali <i>et al.</i> , 2009)	Comino, pimienta roja, pimienta negra	13	30	0,75-5,5	1,7
Túnez (Zaied <i>et al.</i> , 2010)	Especias	112	58	25-925	244
	Alcaravea	24	54	28-510	244
	Cilantro	20	50	74-576	206
	Cúrcuma	25	52	39-925	290
	Pimienta negra	20	65	26-643	274
	Paprika	70	70	31-528	203
España (Almela <i>et al.</i> , 2007)	Pimentón	20 Murcia 20 Brasil 20 Zimbaue 130 Perú	60 n.i. n.i. 130	n.i. n.i. n.i. 7,42-101,5	< 1 3-4 3-4 n.i.
España (Santos <i>et al.</i> , 2010)	Pimentón dulce, paprika	64	98	0,1-281	n.i.
	Pimentón picante, chili	35	100	0,62-44,6	n.i.
Portugal (Lino <i>et al.</i> , 2006)	Cilantro	10	0	n.d.	n.d.
Rusia (Goryacheva <i>et al.</i> , 2006)	Especias	43	14	n.i.	≥ 10
	Capsicum	17	35	n.i.	≥ 10
	Nuez moscada, pimienta negra, pimienta blanca, jengibre	25	0	n.d.	---
Hungria (Fazekas <i>et al.</i> , 2005a)	Especias	91	36	0,4-66,2	n.i.
	Pimienta negra pimienta blanca mix especias	16	0	n.d.	n.d.
	Pimienta roja (cayena)	32	46	0,4-66,2	8 de ellas >10
	Chili	5	20	--	1 de ellas 2,1

Tabla 36. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en especias

País/ referencia	Producto	Nº muestra	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Brasil (Shundo <i>et al.</i> , 2009)	Paprika	70	85	0,24-97,2	7
India (Saha <i>et al.</i> , 2007)	Chili	16	0	n.d.	---
Malasia (Jalili <i>et al.</i> , 2010)	Pimienta	120	47,5	0,5-13,6	3,2
	Pimienta negra molida	30	56,7	0,23-12,64	2,2
	Pimienta negra grano	30	63,3	0,15-13,58	2,07
	Pimienta blanca molida	30	26,7	0,21-3,4	0,34
	Pimienta blanca grano	30	43,3	0,18-2,4	0,61
Malasia (Jalili & Jinap, 2012)	Chili	80	81,25	0,2-101,2	7,15
Hong Kong (Chung <i>et al.</i> , 2009)	Especias	22	50	0,05-0,82	0,173
	Condimentos	30	5	0,005-0,99	0,077

n.d.: no detectado, n.i.: no indicado

Incidencia de OTA en especias.

En la Tabla 36 se observa que el número de muestras de especias contaminadas por OTA es muy variable y oscila de 0 a 100%. Es en el estudio de Santos *et al.* (2010) en España donde la incidencia de OTA en especias es más alta, un 100%. Resultados similares se describen en el trabajo de Brasil (Shundo *et al.*, 2009) donde en un 85% de las muestras se detecta OTA.

Estos valores son superiores a los detectados en Túnez, en el trabajo de Ghali *et al.* (2008) y en el estudio de Zaide *et al.* (2010), que presentan una incidencia similar de alrededor del 58%. Valores más bajos se reflejan en Chung *et al.* (2009) y en el informe de C.E. (2002), observándose en este

último que un 52% de las muestras presentan contaminación por OTA, con una concentración media entre 1,150- 5,061 ng/g. En el estudio de Rusia (Goryacheva *et al.*, 2006) la incidencia es más baja (14% del total especias y 35% de las especias del género *capsicum*) también en Hungría (Fazekas *et al.*, 2005a) con un 36% de incidencia. Estos datos son contrarios a los obtenidos en la India (Saha *et al.*, 2007), donde no se detectó ninguna muestra contaminada por OTA.

Niveles de OTA en condimentos y especias.

La concentración de OTA en las especias varia de unos estudios a otros dependiendo del país de origen del producto y por tanto de sus condiciones climáticas y sus prácticas agrícolas. La concentración de OTA más elevada se da en el estudio de Túnez (Zaied *et al.*, 2010), donde se observa un máximo de 925 ng/g.

Las especias más estudiadas son las del género *Capsicum*, en concreto el pimentón y las especias del género *Piper*: pimienta negra y blanca. El pimentón es el producto seco obtenido de la molienda de los frutos seleccionados, sanos y limpios de diversas variedades del genero *Capsicum*. La pimienta es el fruto de *Piper nigrum*, una baya, que se puede utilizar entera o polvo obteniendo distintas pimientas según el procesamiento a que se someten.

En el estudio de Santos *et al.* (2010) el pimentón dulce (paprika) presenta concentraciones máximas (281 µg/Kg) mucho más altas que las del chili (44,6 µg/Kg), circunstancia que también se refleja en estudio de Hungría (Fazekas *et al.*, 2005a) donde en el chili es menor la incidencia y los niveles de contaminación por OTA. En el estudio de la India (Saha *et al.*, 2007) en ninguna de las muestras de chili analizadas se detecta OTA. Esto podría ser explicado por el efecto inhibitor de capsaicina, componente activo de

los pimientos picantes. Estos resultados no coinciden con los del estudio de Jalili & Jinap (2012) donde se detecta una alta incidencia de OTA en las muestras de chili. La toxina se encontró en 81,3% de las muestras con un rango entre 0,2 y 101,2 ng/g y un 15% de las muestras superaron el nivel de 10 ng/g, si bien la concentración media fue de 7,15 ng/g. Esta alta incidencia y los niveles encontrados de OTA en chili son frecuentemente detectados en países localizados en zonas tropicales y subtropicales, entornos que ofrecen condiciones favorables para el crecimiento de hongos y producción de micotoxinas.

En Zaid *et al.* (2010) las especias que mayor niveles de OTA presentan, en comparación con el resto de las especias, son la cúrcuma seguida de la pimienta negra.

El pimentón rojo producido en Brasil, estudiado por Shundo *et al.* (2009), presenta OTA en concentraciones superiores a las reflejadas para la misma especia y mismo origen en el trabajo de Almela *et al.* (2007). La gran contaminación por OTA en las muestras del pimentón en Brasil, podría ser debidas a las condiciones climáticas en las que se cultiva.

Jalili *et al.* (2010) en Malasia estudia la pimienta negra y la blanca. Malasia es uno de los países más importantes productores de pimienta del mundo. La pimienta negra se recoge a mitad de su maduración y se seca. La pimienta blanca se obtiene del grano totalmente maduro privado de la parte externa del *piper nigrum*. La incidencia de contaminación por OTA en la pimienta negra (tanto molida como en grano) fue significativamente mayor que en la pimienta blanca. Así mismo, la concentración media total de OTA más alta se detectó en la pimienta negra molida ($2,167 \pm 3,52$ ng/g), seguida de la pimienta negra en semilla ($2,07 \pm 3,61$ ng/g). La concentración media más baja se encontró en la pimienta blanca. Esta diferencia podía

estar relacionada con el efecto del proceso. Ambas pimientas se producen generalmente por la misma planta, pero la pimienta blanca se obtiene tras eliminación del pericarpio, que es uno de los métodos físicos de reducción de micotoxinas.

Lino *et al.* (2006) en Portugal estudiaron el cilantro, especia tradicionalmente utilizada en este país, no detectándose la presencia de OTA, a diferencia de Alemania (C.E., 2002) donde se detectó en 21 de las 31 muestras de cilantro, con una media de contaminación 1,48 ng/g y en el estudio de Zaied *et al.* (2010) donde un 50% de las muestras de cilantro se encontraban contaminadas por OTA, con niveles máximos de 576 ng/g.

La mayoría de estos estudios comparan sus resultados con un valor recomendado de 10 ng/g, siendo los trabajos de España (Santos *et al.*, 2010), Rusia (Goyacheva *et al.*, 2006), Hungría (Fazekas *et al.*, 2005a), Brasil (Shundo *et al.*, 2009) y Túnez (Zaied *et al.*, 2010), donde se detectan muestras por encima de este valor, encontrándose en este último un 35% de las muestras que superan este valor.

Si se considera que hasta julio del 2012 el valor permitido para las distintas especias era de 30 ng/g, observamos que las medias de OTA detectadas se ajustan a los valores establecidos en el Reglamento (CE) nº 1881/2006, si bien encontramos valores máximos que superan hasta 7 veces este valor como es el caso del pimentón dulce analizado por Santos *et al.* (2010) y hasta 30 veces este valor en Túnez (Zaied *et al.* 2010).

El 28 de septiembre 2011 la AESAN publicó un estudio sobre la presencia de OTA en pimentón en el mercado nacional, tanto con denominación de origen "La Vera", como sin denominación de origen, comparando los resultados con las muestras adquiridas en Hungría (AESAN, 2011b). En este informe se recoge que en todas muestras analizadas se detectaba la pre-

sencia de OTA a niveles superiores al límite de detección (0,017 ng/g) y que un 21,1% de las muestras superaban el contenido máximo en vigor. El valor medio de OTA en el pimentón era de 31,77 ng/g alcanzando valores máximos de 206,37 ng/g. Las muestras adquiridas en Hungría que superaban el contenido máximo en vigor en la UE eran del 6,7%.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de condimentos y especias

En ningún estudio, salvo el efectuado por Food Safety Authority del R.U. (FSA, 2005) en donde se recogía un rango de contaminación por OTA en especias de 0,2-152,2 ng/g, se determina la ingesta de OTA debida al consumo de especias. En este estudio se evaluó la exposición dietética utilizando datos de recetas disponibles, determinando que sólo dos muestras podrían superar la exposición de 5 ng/Kg p.c./ día establecida por el SCF, una de pimiento orgánico y otra de chili molido.

En el informe de C.E. (2002) se refleja que para un consumo de especias 1,44 g/persona/día (Italia, para toda la población) la ingesta de OTA es de 0,12 ng/Kg/día. Asumiendo el consumo de especias por persona y día: 1,44 g para una persona de 70 Kg, (valor C.E., 2002 en Italia) y considerando el valor máximo detectado OTA en estos estudios, se ha procedido al cálculo de la ingesta de OTA por especias recogido en la Tabla 37.

Estos datos reflejan que en las condiciones más adversas, el consumo de especias contribuye en más de un 8% (C.E., 2002) en el total de ingesta de OTA y en el caso de Túnez es 6 veces superior.

Por tanto, y aunque el consumo de especias, en el conjunto de la dieta, no es muy grande, es necesario controlar su contaminación, con objeto de cumplir los límites máximos establecidos en la legislación y así proteger la salud del consumidor. Además, cabe recordar que, desde julio del 2012,

el valor permitido de OTA en especias es mucho más restrictivo (la mitad del valor anterior), por lo que debe reforzarse las prácticas para prevenir y reducir la contaminación de OTA en las especias (Reglamento (UE) nº 105/2010).

Tabla 37. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de condimentos y especias

País/ referencia	Producto	Valor máximo OTA (ng/g)	ID media OTA (ng/Kg. p.c./d)	% IDT OTA (17,2 ng/Kg. p.c./día)	% SCF
España (Almela <i>et al.</i> , 2007)	Pimentón	101,5	2,1	12	42
España (Santos <i>et al.</i> , 2010)	Pimentón	281	5,7	33	114
	Chili	44,6	0,92	5,3	18
Hungría (Fazekas <i>et al.</i> , 2005a)	cayena	66,2	1,36	7,9	27,2
Túnez (Ghali <i>et al.</i> , 2008)	Especias	7,2	0,15	1	3
Túnez (Zaied <i>et al.</i> , 2010)	Cúrcuma	925	9,17	53	183

ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable, SCF: Comité Científico de Alimentos de la UE.

3.1.4. Presencia de OTA en plantas medicinales y aromáticas

Las plantas, sus raíces, sus flores o semillas han sido utilizadas desde hace mas de cinco mil años para prevenir o curar enfermedades. Actualmente casi el 50% de la población en la UE las consume como complementos alimenticios o en la medicina tradicional (Santos *et al.*, 2009).

Las plantas medicinales y aromáticas son susceptibles a la contaminación por micotoxinas. La contaminación fúngica puede ser el resultado de

malas prácticas de producción, de cosechado y/ o de almacenamiento. Además, los tratamientos usados para disminuir la carga microbiana (la radiación o el vapor) no disminuyen el contenido de micotoxinas.

Sin embargo, a pesar del amplio uso de las plantas medicinales, hay pocas publicaciones sobre su contaminación por hongos y micotoxinas si se compara con otros alimentos.

Trucksess *et al.* (2007) en USA observaron que 4 de las 10 muestras de ginseng analizadas presentaban niveles de OTA entre 0,4 y 1,8 ng/g. Santos *et al.* (2009) en España detectaron que un 63% de las plantas medicinales y aromáticas analizadas contenían OTA, alcanzándose máximos de 17,3 ng/g en hojas de salvia. También se observó que la contaminación no se producía por una sola micotoxina, sino que todas las muestras estaban multi-contaminadas. En China Han *et al.* (2010) reflejaron en su trabajo que solo 4 de las 51 muestras analizadas de plantas medicinales presentan bajos niveles de contaminación de OTA.

Por tanto, el consumo frecuente de hierbas contaminadas, aunque sus niveles sean bajos, podría suponer un riesgo para la salud.

3.1.5. Presencia de OTA en café

Los granos de café son las semillas del fruto pulposo que da un arbusto de hoja perenne del género *Coffea*. Este arbusto crece en el estrato más bajo de los bosques tropicales e incluye un gran número de especies, entre las cuales las mas importante son: *Coffea arabica* denominada café arábica, variedad que constituye entre el 60 y el 70% de la producción mundial y *Coffea canephora* denominada: robusta, que constituye entre el 30 al 40% de la producción mundial. El café arábica, en general, se produce en toda América Latina, África Central y oriental, en la India e Indonesia. El café ro-

busta se produce en África occidental, sudeste de Asia y en parte de Brasil (FAO, 2012).

El café pasa por distintas etapas desde su recolección como cereza o baya en el país de producción hasta que se exporta como café verde o crudo sin tostar. El principal objetivo de la elaboración primaria es aislar la semilla mediante la eliminación de las diversas capas o tegumentos que rodean a la baya y su secado hasta que el contenido en humedad del café verde sea inferior al 12%. Existen dos procesos básicos de elaboración de café verde: “beneficiado o procesado en seco” que consiste en el secado de la baya entera y su posterior trilla o descascarillado (para liberar los granos), produce el café verde natural o café en baya seca y “beneficiado o procesado en húmedo” donde las bayas sufren un despulpado o descerezado, seguido de una fermentación que degrada la cubierta mucilaginosa que rodea al grano, un lavado para eliminar los restos de pulpa y posterior secado obteniendo café en pergamino que es descascarillado. Estos granos secos se comercializan como café verde y posteriormente se tuestan (FAO/OMS, 2012).

La producción mundial de café se estimó en 8 millones de Tn en el 2010, siendo Brasil seguido de Vietnam los principales países productores de café verde (FAOSTAT 2010). Europa es el mayor consumidor de café, seguido de EEUU.

El café es un producto que, por sus condiciones de elaboración o almacenamiento, presenta tendencia a contener determinadas micotoxinas. La OTA es la principal micotoxina encontrada en el café, con concentraciones que oscilan entre 0,1-80 ng/Kg en el café verde, (Gopinandhan *et al.*, 2008). Se han identificado tres especies pertenecientes al género *Aspergillus* como responsables de la producción de OTA. El agregado *A. niger*, que es la más frecuente, en particular en el café robusta, pero cuya producción de OTA es

débil. La variedad *A. carbonarius*, que suele ser rara, pero la mayor parte de las variedades aisladas parecen producir OTA en cantidades considerables y *A. ochraceus* que es la especie más importante en el café y que alrededor del 75 al 90% de las variedades producen OTA (FAO, 2012). Las especies productoras de OTA en el café varían según las regiones. Los cafés de origen Africano generalmente tienen niveles más altos de OTA que los de origen asiático y latino americano (Bayman & Baker, 2006).

Según el informe de C.E. (2002) el café contribuye un 10% al promedio de ingesta total de OTA en la UE.

La UE ha establecido los niveles máximos de OTA en café tostado en grano y café tostado molido en 5 ng/g y para el café soluble (instantáneo) de 10 ng/g. El nivel de OTA en café verde no se ha legislado, al considerar que la presencia de OTA se controla en la fase de tostado del café.

Los datos relativos a la reducción de OTA con el tostado del café son muy dispares, variando desde 12% hasta el 90% (Kabak, 2009b). Esta variabilidad puede estar relacionada con el proceso de tostado, la distribución heterogénea de la toxina y las diferentes condiciones de análisis (Castellanos-Onorio *et al.*, 2011). La Federación Europea de café recomienda que en la compra de café verde no se supere el nivel de 15 ppb de OTA, ya que si durante la elaboración del café se consigue una reducción moderada de OTA del 66%, este café no superará los límites establecidos por la UE para el producto terminado. Antes del Reglamento (CE) N° 1881/2006, en Europa algunos gobiernos establecieron niveles máximos para la OTA en café verde, en Italia un nivel de 8 ng/g, en Grecia de 20 ng/g y en Finlandia de 5,0 ng/g (Castellanos-Onorio *et al.*, 2011). Son numerosos los estudios publicados sobre café verde en grano de distintos orígenes y de ambos tipos de café y sin embargo el número de estudios de café procesado: café tostado,

instantáneo, descafeinado, etc., es más limitado.

Presencia de OTA en café verde.

Diferentes publicaciones, que se recogen en la Tabla 38, ponen en evidencia el problema de contaminación del café verde por OTA.

La presencia de OTA en café verde ha sido estudiada por autores en los países productores, mostrando incidencias que varían desde 56 al 100% y con un rango de concentraciones que oscilan entre 0,2 y 360 ng/g (Noonim *et al.*, 2008).

Tabla 38. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en café verde

País/referencia	Producto	Nº muestras	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Thailandia (Noonim <i>et al.</i> , 2008)	Grano café verde	64	98	0,6-27	n.i.
	Arábica café verde	32	89	≤ 0,6-5,5	2,3
	Robusta cereza seca	32	100	1,3-27	5,7
India (Gopinandhan <i>et al.</i> , 2008)	Café verde	80	74	0,3-13	2,17
Jordania (Salem & Ahmad, 2010)	Café verde	11	63	2,19-6,57	4,09
Brasil (Batista <i>et al.</i> , 2009)	Café verde	289	56	0,1 ≥ 100	n.i.
Italia (Imperato <i>et al.</i> , 2011)	Café verde	9	11	n.i.	23,70*

n.i.: no indicado, * valor máximo

En Noonim *et al.* (2008) en Thailandia se detecta la incidencia más alta, el 98% de la muestras de café analizadas estaban contaminadas con OTA, pero la cantidad detectada era relativamente baja, excepto en dos muestras

de café robusta en baya seca o natural, donde se encontraron concentraciones de 18 ng/g y 27 ng/g respectivamente. En Gopinandhan *et al.* (2008) la incidencia era también alta (74%) pero el nivel medio de OTA era bajo: 2,17 ng/g. Solo cinco muestras se encontraban por encima de 5 ng/g legislados (94% de muestras están por debajo de 5 ng/g) y la concentración más alta se detectó en café robusta natural. La media de OTA era más alta en el café procesado vía seca que en el café lavado, existiendo una correlación entre el método de procesado y la contaminación por OTA. Este dato coincide con los obtenidos por Noonim *et al.* (2008) donde en las muestras de café robusta, la concentración promedio de OTA en el café en baya seca fue superior (27 ng/g) a la que se encontró en el resto de café.

En Duris *et al.* (2010) se refleja que, tanto en los granos de café defectuosos como en los sanos, el contenido de OTA es superior en el café procesado por el método seco que el procesado vía húmeda, existiendo diferencias significativas entre ambos métodos de tratamiento post-cosecha (en granos de café defectuosos: 29,7 ng/g (seco) vs 10,6 ng/g (húmeda) y granos de café sanos 1,9 (vía seca) Vs 1,0 ng/g (vía húmeda)). Esta diferencia podría ser debida a que el proceso vía seca se efectúa normalmente directamente sobre el suelo y a que el control ejercido sobre este sistema de procesado post-cosecha es menor, por lo que cabe esperar una mayor contaminación en café natural.

La elevada incidencia de OTA en café en estos países, podría explicarse por el hecho de que la India y Tailandia, zonas productoras de café, presentan unas condiciones climáticas, geográficas y sociales similares, que son favorables para la producción de micotoxinas; Jordania, cuya población es consumidora de café importado, también presenta condiciones de humedad y temperatura propicias para el desarrollo de hongos y por tanto para la pro-

ducción de OTA y su nivel económico no permite el control y la prevención de esta contaminación (Salem & Ahmad, 2010)

En el informe de C.E. (2002) el 36% de las muestras de café verde se encuentran contaminadas, incidencia mucho más baja que la recogida en los estudios anteriores. La media ponderada de OTA es superior en Europa del sur que en el norte (2,29 ng/g vs 1,248 ng/g). Esta tendencia podría atribuirse a las diferencias en la calidad higiénica del café verde importado.

En Italia (Imperato *et al.*, 2011) solo detectaron una muestra de café verde importado de Costa Rica con altos niveles de OTA: 23,70 ng/g. Batista *et al.* (2009) evaluaron la incidencia de OTA en el café en las diferentes etapas de maduración y de procesamiento, observando que el porcentaje de muestras contaminadas, así como los niveles por encima de 5,0 ng/g dependían del tipo de fracción de café analizado y del tipo de procesamiento, representando el café verde proveniente del suelo y del flotante (método de selección por flotación) un serio problema de contaminación por OTA. En 82 muestras de café procedente del suelo los niveles de OTA detectados fueron superiores a 100 ng/g. En el café flotante (café sobremadurado eliminado por proceso de flotación en agua) 12 de 35 muestras presentaban niveles superiores a 5 ng/g. En Duris *et al.* (2010) se observa que la contaminación por OTA del grano depende en gran medida de la calidad y las condiciones sanitarias de las bayas en el momento en que son cosechadas. Detectaron que, sean cual sean los sistemas de producción post-cosecha, los granos dañados están más contaminados que los granos sanos (18,0 y 1,2 ng/g, respectivamente). Los granos de café sanos, obtenidos por vías húmeda y por la seca, presentaban menor contenido de OTA (0,2 ng/g en café pergamino y 0,4 ng/g en café natural) que los granos con defectos, donde se alcanzó una contaminación ponderada del 8,8 y 10,3 ng/g respectivamente.

En este trabajo, la existencia de defectos podría ser responsable de más del 98% de la contaminación por OTA en un lote de café.

Por tanto, se confirma que el café verde es una de las materias primas más susceptibles de contaminación por OTA. Además los diferentes estudios de café verde de todos los orígenes han revelado que la contaminación por OTA puede ser más frecuente en algunas zonas que en otras, aunque no necesariamente en forma uniforme. Sin embargo, ningún país productor de café está por completo libre del riesgo de contaminación por OTA.

Presencia de OTA en café procesado.

La Tabla 39 recoge algunos estudios de la presencia de OTA en café procesado.

Tabla 39. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA en café procesado

País/referencia	Producto	Nº muestras	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
España (Coronel <i>et al.</i> , 2011)	Café tostado composites	72	48,6	1,21-4,21	2,17
	Café tostado diferentes marcas	45	95	1,30-5,24	2,07
Japón (Kumagai <i>et al.</i> , 2008)	Café tostado	9	33	0,11-0,33	0,22
Brasil (de Almeida <i>et al.</i> , 2007)	Café instantáneo	82	98,9	0,17-6,29	1,24
Hon Kong (Chung <i>et al.</i> , 2009)	Café y te	24	25	0,97*	0,1

*Valor máximo

Coronel *et al.* (2011) efectuaron dos estudios, uno con 45 muestras de cuatro marcas diferentes de café y otro de 72 composites procedentes de un total de 204 muestras de diferentes tipos de café que se agruparon para pro-

ceder a su análisis. En el primer estudio, en 43 de las 45 muestras se detectó OTA por encima del LOD (95% incidencia). No se observaron diferencias significativas entre las diferentes marcas ni entre los distintos tipos de café y solo un valor (5,24 ng/g) superaba el límite establecido por la UE. Excluyendo este valor, el rango de la contaminación era inferior a 5 ng/g (1,3-2,75 ng/g). En los composites en un 49% de las muestras se detectó OTA. La diferencia de incidencia entre estos dos estudios era atribuible al diferente muestreo aplicado o la heterogeneidad de la distribución de las micotoxinas. El nivel de contaminación de las muestra en ambos análisis era muy similar, 2 ng/g. La incidencia detectada en los composites de café molido tostado de Cataluña: 48,6%, es similar a la obtenida por C.E. (2002) (46%).

En estudios realizados en otros países como China y Japón, la presencia de OTA en café tostado comercializado varía entre 25% y 33%, mientras que los niveles medios son bajos, oscilando entre 0,1-0,2 ng/g.

Son pocos los estudios disponibles sobre la presencia de OTA en café instantáneo. de Almeida *et al.* (2007) en Brasil estudiaron 82 muestras de café instantáneo de diferentes marcas, detectando que 81 (98,8% de incidencia) se encontraban contaminadas. Los resultados no mostraban diferencias en los niveles de contaminación por OTA en las 22 marcas. En el informe de C.E. (2002) la incidencia y los niveles de OTA en el café instantáneo es diferente en cada país, encontrando rangos de incidencia que van desde 0% en Portugal hasta 100% en España y medias que oscilan entre 0,15- 2,10 ng/g.

Comparando los resultados de los estudios para el café verde y café procesado, se observa que las incidencias son similares, alcanzando el 98% de muestras contaminadas en ambos casos. Los niveles de contaminación también son similares, salvo en un caso puntual del café importado de Costa Rica, donde el valor de OTA es de 23,7 ng/g (Imperato *et al.*, 2011). Estos

datos no coinciden con los recogidos en el informe C.E. (2002) donde el porcentaje de muestras positivas en el café procesado fue mayor que en el café verde (46% vs 36%), hecho atribuible a los diferentes procedimientos de muestreo y a la práctica de la mezcla de café. En dicho informe al comparar las medias de las muestras de café verde y procesado (3,64 µg/Kg vs 1,09 µg/kg) se observaba una marcada reducción de la OTA, probablemente debida a las mezclas del café y las pérdidas durante los procedimientos tecnológicos.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de café.

El estudio de la ingesta de OTA por consumo de café se recoge en la Tabla 40:

Tabla 40. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de café

País/ referencia	Producto	Media OTA (ng/g)	Datos consumo café (g/día)	ID media OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT OTA (17,2 ng/Kg p.c./día.)	% SCF
España (Coronel <i>et al.</i> , 2011)	café tostado	2,07	9,85 a 11,58 b	0,19 0,22	1,1 1,27	3,8 4,4
Brasil (de Almeida <i>et al.</i> , 2007)	café instantáneo	1,24	10	0,17	1,03	3,4

a: datos obtenidos del estudio para población en general; b: datos para los consumidores.

ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable, SCF: Comité Científico de Alimentos de la UE.

La ingesta de OTA estimada por el consumo de café resulta inferior al valor de la IDT: 17,2 ng/Kg p.c./día (EFSA, 2006). En el informe C.E. (2002) se evaluó la ingesta de OTA a través del café. En España fue de 0,15 ng/Kg p.c./día, (consumo 7,46 g café/día) que es ligeramente menor que el estimado en el estudio de Coronel *et al.* (2011). En el resto de países la ingesta de OTA variaba desde 0,06 ng/Kg p.c./día en Italia a 0,42 ng/Kg p.c./día en

Finlandia.

En todos estos casos, las estimaciones se calcularon asumiendo que la OTA presente en la café tostado se extrajo completamente en la bebida de café, sin embargo existen evidencias de que el porcentaje de extracción de la micotoxina varía con el proceso de elaboración y que, por tanto, la ingesta de OTA puede ser inferior a la calculada (Coronel *et al.*, 2011).

3.1.6. Presencia de OTA en cacao y chocolate

El cacao es el producto que resulta de la fermentación y secado de las semillas del fruto del cacao (*Theobroma cacao*), árbol situado en regiones tropicales de África Occidental (responsable del 68% de la producción mundial), Sudamérica y el sureste asiático. En estos países se producen las fases iniciales del procesado del cacao: la fermentación y el secado, para su posterior transporte a los países productores del chocolate.

El clima de estos países junto con las prácticas agrícolas, favorecen el crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas. La OTA es la principal micotoxina presente en el cacao (Mounjouenpou *et al.*, 2008).

En todas las etapas de la cadena de producción primaria pueden haber hongos y OTA presentes: en la recolección (generalmente manual), en la apertura de las bayas maduras para separar las semillas, durante la fermentación llevada a cabo en cajones o apilando las semillas sobre hojas de banano con objeto de eliminar la pulpa adherida a la semilla y de generar aromas, en el secado (solar o mecánico), en el almacenamiento y el transporte (en sacos de yute o en contenedores) y en la elaboración secundaria. No obstante, la mayor parte de la OTA presente en el cacao se concentra en las cáscaras de las semillas (Amezqueta *et al.*, 2005).

Una vez el grano de cacao está seco suele transcurrir un tiempo hasta

que es procesado en las industrias chocolateras; en estudios recientes se muestra un incremento de la OTA en las etapas posteriores de procesamiento, principalmente durante el almacenamiento. El grano de cacao seco es altamente higroscópico, de modo que durante el almacenamiento y el transporte puede absorber humedad (alcanzando valores de 10-12% de humedad) y así favorecer el crecimiento de hongos y consecuentemente la producción de micotoxinas (de Magalhães *et al.*, 2011).

De acuerdo con el documento de trabajo del Comité de Expertos sobre “contaminantes agrícolas” del Comité Científico de la Alimentación de la Comisión Europea, las propuestas de regulación de OTA en materia prima (granos de cacao, torta de cacao, cacao en polvo) eran de 2 µg/kg y de 1 µg/kg para productos de cacao de consumo (chocolate en polvo, chocolate, bebidas de chocolate) (FAO/OMS, 2007). Recientemente, la Comunidad Europea (Reglamento (UE) nº 105/2010) ha decidido que, basándose en la información disponible, no parece necesario establecer un contenido máximo de OTA en el cacao y productos del cacao, dado que no contribuyen significativamente a la exposición a la OTA y rara vez se han encontrado concentraciones elevadas de OTA en estos productos.

No obstante, y dado que en la elaboración del cacao la OTA no siempre se elimina totalmente, es necesario controlar sus niveles con independencia de que estén o no legislados.

Presencia de OTA en granos de cacao.

La incidencia de la contaminación por OTA en cacao en grano se recoge en la Tabla 41.

En Brasil, zona productora de cacao, Copetti *et al.* (2010) estudiaron la presencia de hongos ocratoxigénicos y la detección de OTA en grano de

cacao de origen brasileño en las distintas etapas de procesado. La OTA se ha encontrado en todas las etapas (post-cosecha, fermentación, secado al sol y almacenamiento) observando una mayor incidencia durante las últimas fases (51%). Este hecho podría explicarse porque en la etapa de secado, punto crítico del proceso, al perder agua el grano, se reduce el número de competidores, debido a la mayor sensibilidad de las bacterias y de las levaduras al bajo contenido de agua disponible, permitiendo el desarrollo de hongos productores de OTA. Sin embargo, solo dos muestras, del total de 221, presentaron valores superiores a 2 ng/g.

Tabla 41. Incidencia (%), concentración media y máxima de OTA (ng/g) en granos de cacao

País/referencia	Incidencia (%)	Media (ng/g)	Máximo (ng/g)
Brasil (Copetti <i>et al.</i> , 2010)	Antes fermentación 0 Fermentación 27 Secado al sol 51 Almacenamiento 52	< 0,01 0,05 0,13 0,10	<0,01 1,70 5,54 4,64
Brasil (de Magalhães <i>et al.</i> , 2011)	Convencional temprana 55 Convencional tardío 55 Orgánico temprana 77 Orgánico tardío 77 Cacao fino temprana 100 Cacao fino tardío 55,5	0,05 0,11 0,26 0,08 5,43 0,23	n.i.
Nigeria (Dongo <i>et al.</i> , 2008)	Cacao en grano 92	38	277,5
Camerún (Mounjounpou <i>et al.</i> , 2008)	Cacao seco fermentado procedente de vainas dañadas	n.i.	48
España (Amezqueta <i>et al.</i> , 2008)	Grano sin tostar 60	0,82	6,9

n.i.: no indicado

De Magalhães *et al.* (2011) determinaron la presencia de OTA en grano

de cacao seco de Brasil, fermentado y secado al sol, producido mediante tres modelos diferentes de cultivo en diferentes épocas de cosechado: convencional, orgánico y cacao fino de aroma (producido por ambos procesos), variedad esta última que se caracteriza por una fermentación y secado especial de sus granos para añadir una calidad química específica con un aroma y sabor superior. Los resultados indican que la contaminación de cacao brasileño por OTA es baja. Un 92,5% de las muestras (n=54) presentan niveles de OTA por debajo de 2 ng/g. La media de los niveles de OTA es de 0,45 ng/g y el mayor contenido de OTA se encuentra en cacao fino y de aroma cosechado en la época temprana (abril-agosto). También observaron una mayor incidencia en los cultivos orgánicos: el 77% frente a un 55,5% en el cultivo convencional. Estos resultados muestran que tanto el periodo de cosecha como el modelo de cultivo influye en el contenido de OTA.

Dongo *et al.* (2008) en Nigeria, estudiaron los niveles de contaminación por OTA en cacao en grano de este país, siendo los valores encontrados los más altos de todos los estudios anteriores, indicando que el cacao en grano en Nigeria puede contribuir a la ingesta diaria de OTA. En Camerún, Mounjouenpou *et al.* (2008) evaluaron como el tipo de tratamiento post-cosecha, en cajas o apilados, del cacao influye en el tipo de hongos filamentosos y su toxigenesis, observando que la integridad de la semilla repercute en el nivel de contaminación y que el cacao seco fermentado procedente de vainas de mala calidad era el más contaminado por OTA, con niveles de hasta 48 ng/g.

Se puede concluir que las variaciones estacionales, las prácticas de cultivo, las condiciones fitosanitarias, la cosecha, la fermentación y las condiciones de transporte pueden influir en el crecimiento de hongos y en la producción de OTA en el grano de cacao (Nwagu & Ire, 2011). Y que la contaminación por OTA de los granos de cacao varía en los diferentes estudios

si bien son pocas las muestras que superan el valor recomendado FAO/OMS (2007) de 2 ng/g.

Se han intentado aislar e identificar los hongos que producen OTA en las semillas de cacao. Mounjouenpou *et al.* (2008) observaron un alto contenido de OTA en muestras de cacao donde el *Aspergillus carbonarius* había sido aislado. También Coppetti *et al.* (2010) concluyeron que el *A. carbonarius* era la principal fuente de OTA en el cacao si bien otras especies ocratoxigénicas aisladas también podían contribuir a su formación. Sánchez-Hervás *et al.* (2008) examinaron muestras de granos de cacao procedentes de Sierra Leona, Guinea Ecuatorial y Ecuador, evidenciando que aunque existían diferentes especies productoras de OTA en el cacao, las cepas de *Aspergillus* eran los hongos principalmente aislados en los granos. Además, su capacidad para producir OTA fue alta, de un 44,7% las cepas de *A. niger agregado* y del 100% el *A. carbonarius*, pero la mayor cantidad de OTA era producida por *A. niger agregado*. En Amezqueta *et al.* (2008) identificaron los hongos presentes en chocolate en grano sin tostar de diferentes orígenes y su potencial toxigénico, no encontrando correspondencia entre los niveles de OTA y la presencia de hongos productores de OTA durante el almacenamiento, no obstante algunas muestras contenían *A. carbonarius* con una alta capacidad de producción de OTA. Coppetti *et al.* (2011) investigaron la microbiótica de los granos de cacao desde la granja hasta el chocolate, observando que el mayor número y la mayor diversidad de hongos se detectaron en las muestras recogidas en la producción primaria, especialmente durante el secado y almacenamiento. En cuanto a la presencia de especies potencialmente toxigénicas y los niveles de actividad de agua requerida para la multiplicación y producción de las micotoxinas, los datos encontrados en este estudio sugieren que la etapa de secado es crítica en la producción de micotoxinas.

Presencia de OTA en cacao y sus derivados.

Las semillas del cacao no se consumen directamente, sino se someten a una transformación industrial (elaboración secundaria). El grano de cacao fermentado y seco, se tuesta, se descascarilla y se muele, obteniendo la pasta o licor de cacao, un líquido viscoso que contiene alrededor de un 50% de grasa. La pasta/licor de cacao se puede mezclar con otros ingredientes o se puede prensar para obtener manteca de cacao y cacao en polvo. El procesado de la semilla de cacao influye en el contenido de OTA del producto final. Según el documento de debate sobre la OTA en el cacao de la Comisión del Codex Alimentarius un porcentaje variable de la OTA presente en las semillas se elimina físicamente al retirarse las cáscaras de las semillas (50%), el resto aparecerá en los derivados del cacao (FAO/OMS, 2011).

La presencia de OTA en los productos de cacao ha sido estudiada por distintos autores y se recoge en la Tabla 42.

Las incidencias detectadas en el cacao y sus derivados son altas, oscilan entre 60 y 100%. Sin embargo, los niveles de concentración media son relativamente bajos, salvo en Turcotte & Scott (2011) donde seis muestras de cacao en polvo presentaron un contenido de OTA $>2 \mu\text{g}/\text{kg}$. Estos datos son similares a los reflejados en el informe de la Tarea de Cooperación Científica 3.2.7. (C.E., 2002) donde un 81% de los productos de cacao analizados estaban contaminados por OTA, siendo el nivel de contaminación promedio de $0,23 \text{ ng}/\text{g}$.

En estos estudios se observa una tendencia de niveles crecientes de contaminación por OTA paralela al aumento del contenido de sólidos de cacao desengrasados o magros en los productos, lo que sugiere una afinidad de la OTA por la fracción de cacao libre de grasa (Copetti *et al.*, 2012). El cacao en polvo, que es el producto con una mayor cantidad de sólidos de

cacao en su composición, presenta los niveles más altos de contaminación. Según RD 1055/2003, del 1 agosto de 2003, R.T.S. sobre productos de cacao y chocolate destinados a alimentación humana, el chocolate negro y chocolate con leche deben tener en su composición un mínimo de 14 y 2,5% de sólidos de cacao magro, respectivamente y el chocolate blanco no presenta cacao libre de grasa en su composición, hecho que explicaría los niveles de OTA en estos chocolates (Copetti *et al.*, 2012)

Tabla 42. Incidencia (%), concentración media y máxima de OTA (ng/g) cacao y derivados

País/referencia	Incidencia (%)	Media (ng/g)	Máximo (ng/g)
Japón (Kumagai <i>et al.</i> , 2008)	Chocolate amargo 65	0,35	
Japon (Chung <i>et al.</i> , 2009)	100	0,37	1,7
Canada (Turcotte & Scott, 2011)	Cacao polvo alcalizado 100	2	7,8
	Cacao en polvo 100	0,89	2,6
	Cacao para cocinar 100	0,63	1,4
	Chocolate negro 100	0,38	0,88
	Chocolate con leche 71	0,11	0,19
Italia (Brera <i>et al.</i> , 2011)	60		
	Cacao en polvo 100	0,55	1,82
	Chocolate negro 76	0,20	0,74
	Dulces de chocolate 45	0,15	0,42
	Huevos pascua 33	0,20	0,50
	Chocolate con leche 26	0,15	0,26
Brasil (Copetti <i>et al.</i> , 2012)	Chocolate en polvo 100	0,39	0,92
	Chocolate negro 100	0,34	0,87
	Chocolate con leche 100	0,15	0,45
	Chocolate blanco 92	0,03	0,05
	Chocolate amargo 100	0,31	0,6
Hong Kong/ (FEHD, 2006)	100		
	Chocolate polvo para cocinar	0,94	1,66
	Chocolate polvo para beber (taza)	0,13	0,19
	Pasta de chocolate	0,47	0,93
	Chocolate negro	0,16	0,19
	Chocolate con leche	0,13	0,21
	Chocolate para untar	0,15	0,23

En los últimos años y dado que se ha estimulado el consumo de chocolate paralelamente al aumento de los niveles de cacao en las formulaciones (chocolates más puros) debido a la efectos beneficiosos que se le atribuyen para la salud, es necesario llevar a cabo un control continuo de la OTA en chocolate y aumentar los estudios orientados a prevenir la acumulación de esta micotoxina en la materia prima, ya que estos productos de alto contenido de cacao tienden a presentar la mayor cantidad de OTA, posiblemente debido a que esta micotoxina parece estar asociada a los sólidos de cacao libres de grasa.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de cacao.

La ingesta de OTA a través del consumo de cacao y sus derivados se determinó en grupos específicos de población (niños) en el informe C.E. (2002) y corresponde a una ingesta de OTA de 0,67 ng/Kg p.c./día en Reino Unido, y 0,66 ng/Kg p.c./ día en Alemania. El cacao y sus productos derivados contribuyen en un 4% en la ingesta semanal tolerable de OTA (4,8 ng/Kg p.c./semanal).

En la Tabla 43 se recoge los estudios donde se ha evaluado la ingesta de OTA por consumo de cacao y sus derivados.

En Brera *et al.* (2011) evaluaron la exposición a la OTA por consumo de productos derivados de cacao. La ingesta semanal más elevada de OTA se asoció al consumo de productos de chocolate a los huevos de Pascua por los niños (grupo de 0 a 10 años). En 2003, el Ministerio de Salud italiano, apelando al principio de prevención, estableció un límite legal para OTA en cacao y los productos de cacao: 0,5 µg/kg para los productos de chocolate y 2,0 µg/kg para el cacao en polvo (Circolare, 2003); que con posterioridad y en base a la evaluación de riesgos realizada por Brera *et al.* (2011), el Consejo Superior de la Salud de Italia decidió eliminar.

Tabla 43. Estimación de la ingesta de OTA por cacao y derivados

Referencia	Producto	Media OTA (ng/g)	Edad/ peso (años/Kg)	Datos consumo (g/día)	ID media OTA (ng/Kg p.c./día)
Italia (Brera <i>et al.</i> , 2011)	Cacao en polvo	0,55	10-17/ 57,1Kg masculino	2,9	0,02
	Chocolate y derivados	0,29	9-9,9/ 26,1 Kg	7,3	0,08
	Huevos pascua	0,20	0-10/ 25 Kg	1,7	0,01
Hong Kong (FEHD, 2006)	Chocolate	0,142	47 Kg	11,3	0,03

ID: ingesta diaria

Por todo ello y aunque el cacao no es un alimento importante dentro de la dieta, contribuye en el total de la ingesta alimentaria de OTA. Así mismo y dado que la base de datos actuales no incluyen a los niños, es necesario aportar más información para evaluar las tasas de exposición de este segmento de consumidores y de los que consumen grandes cantidades de determinadas especialidades regionales de productos derivados del cacao que pueden contener OTA (EFSA, 2006).

3.1.7. Presencia de OTA en frutos secos y frutas desecadas

3.1.7.1. Presencia de OTA en higos desecados

Son unas frutas desecadas que, junto con los orejones de albaricoque, de melocotón, las ciruelas y las uvas pasas, forma parte de la cocina tradicional. Tienen una gran valor nutritivo y pueden ser consumidos directa-

mente o como pasta de higos en diferentes postres y dulces. Los principales países productores se encuentran en la zona del Mediterráneo y en Asia Menor, hecho que está relacionado con el área de origen y la difusión del cultivo de la higuera.

Turquía fue el principal productor mundial de higos en el año 2010 con una producción de 254838 Tn, seguido de Egipto con una producción de 184972 Tn (FAOSTAT, 2010). En Turquía, los higos se producen principalmente en la región del Egeo, donde las prácticas de transformación y conservación de los frutos son muy propicias para el desarrollo de hongos y la producción de micotoxinas. Los principales importadores de higos desecados son los países integrantes de la Comunidad Económica Europea, en concreto, Francia seguido de Alemania.

Los frutos, una vez han alcanzado un grado de madurez adecuado, se recolectan y se secan directamente al sol en suelo, especialmente en las zonas rurales. Durante este proceso de secado, la humedad del fruto disminuye y se concentran los azúcares, creando un medio selectivo para especies de hongos como *Aspergillus niger* sección *nigri* (Zinedine *et al.*, 2007c).

Aunque no existe normativa en la UE que regule la presencia de OTA en higos secos (no está contemplada en el Reglamento (CE) nº 1881/2006), actualmente la mayoría de países europeos solicitan el análisis de OTA en higos a las empresas exportadoras y se toma como referencia el máximo nivel tolerable para uvas pasas (10 ng/g) (Pavon *et al.*, 2012). Países como Alemania han establecido un límite de 8 ng/g de OTA en los higos secos (Bircan, 2009).

Algunos estudios sobre la presencia de OTA en higos secos se recogen en la Tabla 44.

Tabla 44. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en higos desecados

País/referencia	Nº muestras	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Turquía (Karbancioglu- Güler & Heperkan, 2008)	115 (años 2003-2004)	47,8	0,12-15,3	0,52
Turquía (Bircan, 2009)	98	18	0,87-24,37	4,3
Turquía (Senyuva <i>et al.</i> , 2005)	n=58 año 2003 n=41 año 2004	14 15	máx.: 13 máx.: 26,3	n.i. n.i.
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2007c)	20	65	0,03-1,42	0,33
Brasil (Iamanaka <i>et al.</i> , 2005)	19	95	0,1-23,4	n.i.
España (Pavon <i>et al.</i> , 2012)	25	88,6	<0,1-277	n.i.

n.i.: no indicado, máx.: máximo

Incidencia de OTA en higos desecados.

La mayor incidencia de OTA en higos desecados se detecta en el estudio de Brasil, donde todos los higos analizados son importados (Iamanaka *et al.*, 2005). En Marruecos, donde la población marroquí es una importante consumidora de frutos secos, bien directamente o como ingrediente de los productos típicos, en especial en época del Ramadán, la incidencia de OTA en higos secos recogida en un estudio de Zinedine *et al.* (2007c) es también alta.

En Turquía se han llevado a cabo distintos estudios para conocer el grado de contaminación de las frutas desecadas. Senyuva *et al.* (2005) detectaron una menor incidencia de OTA en las muestras destinadas a exportación que

la reflejada en el trabajo de Karbancioglu-Güler & Heperkan (2008) para el mismo periodo de estudio (años 2003-2004), hecho que podría explicarse por la detección y eliminación de los higos secos potencialmente contaminados durante la clasificación llevada a cabo en el estudio. Senyuva *et al.* (2008) identificaron la presencia de hongos y sus micotoxinas en 50 higos rechazados, encontrándose en 32 higos niveles de 0,4 a 1710 ng/g y que un 50% de las muestras presentaban niveles por encima de 1 ng/g. Karbancioglu-Güler & Heperkan (2008) concluyeron que la OTA se produce en la etapa de secado y que en un 96,5% de las muestras el valor es inferior a 1 ng/g; pero que estos valores podían aumentar en las etapas siguientes: transporte, almacenamiento y procesado si las condiciones son favorables. Los hongos responsables de la producción de OTA en los higos de Turquía son el género *Aspergillus niger*, cuya temperatura optima de crecimiento es de 30° C y la Aw optima es de 0,98, temperatura que se alcanza entre agosto y septiembre en estas regiones y que por tanto favorece la producción de OTA.

Pavón *et al.* (2012) en España analizaron 35 muestras de higos secos adquiridas en supermercado y comercios minoristas, observando la presencia de OTA en un 88,6% de los muestras. En el informe de la C.E. (2002) la UE detecta un incidencia del 10% con máximo de 0,8 ng/g en higos importados por Reino Unido.

Niveles de contaminación de OTA en higos desecados.

En cuanto a los niveles de contaminación de los higos por OTA, Senyuva *et al.* (2008) encontraron los niveles más altos, alcanzándose hasta 1710 ng/g, si bien corresponden a muestra rechazadas presuntamente contaminadas por OTA. Bircan (2009) y Karbancioglu-Güler & Heperkan (2008) detectaron que alrededor de un 3% de las muestras presentaban niveles por

encima de 8 ng/g (nivel establecido por Alemania), encontrándose concentraciones máximas de 24,4 ng/g. En Zinedine *et al.* (2007c) todas las muestras se encontraban por debajo de 10 ng/g. Iamanaka *et al.* (2005) detectaron que un 26% de las muestras presentaban niveles por encima del 5 ng/g y un 16% superiores a 10 ng/g. Pavón *et al.* (2012) observaron que un 8,6% de las muestras analizadas contenían concentraciones superiores de OTA a las permitidas por la legislación europea para uva pasa (10 ng/g), valor tomado como referencia. Las concentraciones máximas determinadas, 247 ng/g y 275,7 ng/g de OTA, correspondían a muestras que habían sido elaboradas con técnicas tradicionales y adquiridas en el mercado ambulante.

Todos estos resultados muestran que, dada la incidencia y los niveles de concentración detectados en los higos desecados (máximos de 277 ng/g), es necesario controlar la calidad de estas frutas desecadas, así como todas sus etapas de producción.

3.1.7.2. Presencia de OTA en uvas pasas

Las pasas son un tipo de frutas desecadas obtenidas a partir de las uvas maduras, cosechadas y secadas de manera natural al sol en los paseros o de forma artificial en hornos o secadores. Existen diferentes variedades, entre otras, las pasas de Corinto, procedentes de uvas negras, las pasas sultanas obtenidas a partir de uvas blancas típicas de Turquía y las moscatel.

Las uvas en el proceso de secado pierden alrededor del 70% de su contenido de agua, disminuyendo la actividad de agua y aumentando la concentración de azúcares, de modo que se crean unas condiciones adecuadas y selectivas para el crecimiento de hongos productores de micotoxinas.

Tal como se refleja en la Tabla 45 las pasas suelen presentar contaminación por OTA; así mismo la cantidad de notificaciones de alerta por presen-

cia de OTA en estas frutas desecadas se ha incrementado desde el 2003 (Bircan, 2009). Por ello, en la UE se han establecidos límites máximos de 10 ng de OTA por gramo de pasas.

Tabla 45. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en uvas pasas

País/referencia	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Turquía (Meyvaci <i>et al.</i> , 2005)	68	0,02-54	3,4
Turquía (Aksoy <i>et al.</i> , 2007)	91	0,3-100	1,4
Turquía (Bircan, 2009)	53	0,5-58	5,2
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2007c)	30	0,05-4,95	0,96
Italia (Imperato <i>et al.</i> , 2011)	25	<1,5-9,9	n.i.
Brasil (Iamanaka <i>et al.</i> , 2005)	67	>30	n.i.
Argentina (Chulze <i>et al.</i> , 2006)	Uvas pasas blancas 88	7,5	4,4
	Uvas pasas negras 68	14	6,3
Argentina (Ponsone <i>et al.</i> , 2010)	60	0,26-20,8	1,07-14,5

n.i.: no indicado

Turquía es el segundo productor de pasas del mundo de las que el 90% son destinadas a exportación. Entre los estudios de OTA en pasas llevados a cabo en este país encontramos el de Meyvaci *et al.* (2005) sobre la producción pasas sultanas no procesadas durante varios años (1998-2004) en la región del Egeo, observando variaciones considerables en la incidencia y los niveles de OTA en los diferentes años, atribuibles a el efecto del procesa-

do, el número de muestras analizadas o las variaciones anuales. Las pasas sultanas producidas en el año 1998 y en el año 2000 mostraban una baja incidencia de contaminación, con un valor medio de 1 ng/g y 0,95 ng/g, respectivamente, mientras que en el año 2002 mostraban la mayor incidencia con un valor medio de 6,24 ng/g. En un 32% no se detectaba OTA; el 58% presentaban niveles comprendidos entre 0,02-10 ng/g, mientras que un 10% presentaban concentraciones superiores al 10 ng/g, siendo la concentración media en el total de las pasas no procesadas de 3,4 ng/g, observándose máximos de 54 ng/g.

Aksoy *et al.* (2007) estudiaron las pasas sultanas procesadas de Turquía en un periodo similar a Meyvaci *et al.* (2005), encontrando que en un 9,1% de la muestras no se detectaba OTA, el 90,3% presentaban un rango comprendido entre 0,3-10 ng/g y solo en un 0,6% de las pasas analizadas superaban los valores establecidos por la UE. La concentración de OTA media era de 1,4 ng/g, si bien se detectaban máximos de 100 ng/g. En este estudio, aunque el número de muestras donde se detecta OTA era superior al de Meyvaci *et al.* (2005) (90% vs 68%), la media observada era mucho más baja (1,4 ng/g frente a 3,4 ng/g), pudiendo deberse al proceso de selección de materia prima llevado a cabo en el estudio de Aksoy *et al.* (2007) donde se analizaban las pasas procesadas (rechazando la materia prima de baja calidad y procediendo a la selección óptica manual). No obstante, se apreciaba que las operaciones de procesado, si bien reducían el contenido de OTA, no eliminaban la contaminación, sino la tendencia era arrastrar la contaminación desde los viñedos a la producción final y también se observaba que la incidencia y el nivel de contaminación variaba en función de los años estudiados, siendo mayor en los años 1999 y 2002, años donde en ambos estudios se observan mayores niveles de OTA.

Bircan (2009) detectaron en las pasas sultanas de Turquía destinadas a exportación una menor incidencia que los anteriores trabajos (53%) y solo dos muestras (4%) presentan concentraciones superiores a 10 ng/g. Tanto en Zinedine *et al.* (2007c) como en Imperato *et al.* (2011) ninguna muestra supera 10 ng/g.

En Brasil Iamanaka *et al.* (2005) estudiaron pasas blancas y negras, encontrando una incidencia de OTA del 67%, donde un 17% de las pasas negras presentaban valores por encima de los límites establecidos por la UE, alcanzándose valores de 34 ng/g, mientras que en ninguna de las pasas blancas se observaron valores por encima de 10 ng/g. Esto podría deberse al diferente tratamiento al que se someten las pasas blancas en su proceso de elaboración.

En Argentina, Chulze *et al.* (2006) observaron una mayor incidencia en las pasas blancas que en las negras (88% vs 68%) pero el nivel de contaminación era superior en las pasas negras que en las blancas (la media en pasa negras era de 6,3 ng/g y el máximo de 14 ng/g frente a la media pasas blancas: 4,4 ng/g y el máximo de 7,5 ng/g).

En todos estos trabajos se evidencia que, si bien el porcentaje de muestras que superan los límites legislados en la UE es bajo, la tasa de contaminación detectada es elevada.

Por tanto, aunque la ingesta de las pasas es ocasional, constituyen una fuente de OTA, en concreto para personas con altos niveles de consumo, y en particular los niños, bien por su consumo directo o a través del consumo de otros alimentos, como cereales para desayuno o barritas, donde son uno de sus ingredientes. Así pues, pueden representar una importante vía de entrada de OTA en la cadena alimentaria.

3.1.7.3. Presencia de OTA en pistachos

Los pistachos son unos frutos secos originarios de regiones mediterráneas y de oriente medio tales como Irán, principal productor, Turquía, Grecia, Siria, Pakistán y Afganistán. Actualmente también se producen en California, Nuevo México y Australia.

Dependiendo de las condiciones climatológicas durante la maduración y cosechado del fruto, son numerosos los hongos que pueden colonizar y causar daño a los pistachos.

La presencia de OTA en pistachos se recoge en la Tabla 46.

Tabla 46. Incidencia (Inc. %), rango y concentración media de OTA (ng/g) en pistachos

País/referencia	Nº muestras	Inc. (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Túnez (Ghali <i>et al.</i> , 2008)	n.i.	16	0,1-3	n.i.
Túnez (Zaied <i>et al.</i> , 2010)	24	25	11-203	89
Marruecos (Zinedine <i>et al.</i> , 2007c)	10	n.d.	---	---
Argelia (Fernane <i>et al.</i> , 2010b)	31	3,2	170	---
España (Fernane <i>et al.</i> , 2010a)	50	2	0,67	---

n.i.: no indicado

Los valores más altos de incidencia y de contaminación se observan en Túnez, en el estudio de Zaied *et al.* (2010), donde todas las muestras contaminadas presentan niveles por encima de 10 ng/g. En el resto de los estudios el número de muestras de pistachos contaminadas por OTA era bajo.

En el estudio de Fernane *et al.* (2010a) de España solo una muestra está contaminada por OTA, con un nivel de 0,67 ng/g. Esto coincide con los datos publicados en Marruecos, donde la contaminación OTA en las muestras analizadas de pistachos están por debajo del LOD de 0,03 ng/g (Zinedine *et al.*, 2007c).

En Argelia, aunque la frecuencia de contaminación en las muestras de pistachos es relativamente baja, la única muestra donde se detecta contaminación presenta elevados niveles (Fernane *et al.*, 2010b).

Por ello, y dado que de manera puntual es posible encontrar elevados niveles de OTA en estos frutos secos que pueden contribuir a la ingesta total de esta micotoxina, es necesario impulsar esfuerzos orientados a minimizar la incidencia de OTA (Fernane *et al.*, 2010b).

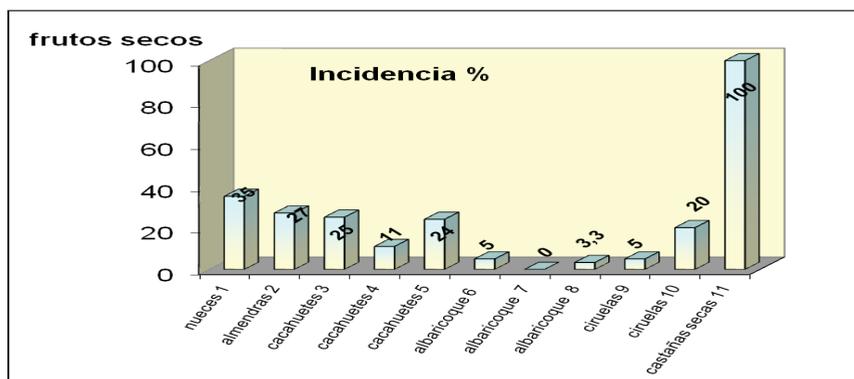
3.1.7.4. Presencia de OTA en otros frutos secos y frutas desecadas

A pesar de que el nivel de OTA ha sido legislado solo en pasas, podemos encontrar publicada numerosa literatura relativa a la presencia de esta micotoxinas en el resto de frutos secos. El informe de la C.E. (2002) indica que los frutos secos contribuyen en la ingesta total de OTA en un 3%.

En la Figura 11 se recoge información relativa a la presencia de OTA en frutos secos y frutas desecadas.

En esta Figura se observa que los frutos secos con cáscara, castañas, nueces, almendras y cacahuets, se encuentran más frecuentemente contaminados por OTA que las frutas desecadas (albaricoques, ciruelas desecadas, dátiles). Esta circunstancia se puede explicar por el tratamiento que sufren las frutas desecadas con dióxido de azufre, conservante y antiséptico empleado para evitar el oscurecimiento y el dañado por hongos.

Figura 11. Incidencia de OTA en frutos secos



1. Marruecos, Zinedine *et al.* (2007c); 2. Túnez, Zaid *et al.* (2010); 3. Marruecos, Zinedine *et al.* (2007c); 4. Túnez, Ghali *et al.* (2009); 5. Túnez, Zaid *et al.* (2010) 6. Turquía, Bircan (2009); 7. Brasil, Iamanaka *et al.* (2005); 8. Irán, Fakoor Janati *et al.* (2012); 9. Brasil, Iamanaka *et al.* (2005); 10. Irán, Fakoor Janati *et al.* (2012); 11. Italia, Pietri *et al.* (2012).

Cabe destacar la mayor incidencia detectada en las castañas en el estudio de Pietri *et al.* (2012) donde el 100% de las muestras analizadas presentan contaminación por OTA, con una niveles medios de 13,63 ng/g y un rango de entre 0,47 a 65 ng/g y en la harina de castaña una media de 12,38 ng/g y un rango de entre 1,02 a 50,367 ng/g.

En Túnez las almendras analizadas por Zaid *et al.* (2010) alcanzan valores de OTA de 266 ng/g; los cacahuetes presentan un media de 60 ng/g y valores máximos de 160 ng/g. Todas las muestras positivas de frutos secos en este país están por encima del nivel máximo tolerable de OTA en pasas (10 ng/g). Esta elevada contaminación es explicable porque las técnicas de conservación usadas en Túnez son todavía las tradicionales, prácticas que permiten condiciones óptimas (temperatura y humedad) para el crecimiento y producción de OTA. En Zinedine *et al.* (2007c), si bien la incidencia de OTA

en las nueces es elevada (35%), los niveles medios de OTA encontrados son de 0,11 ng/g. En Salem & Ahmad (2010) en Jordania un 47% de los frutos secos analizados se encontraban contaminados por OTA, pero el valor medio de OTA era bajo 5,6 ng/g y ninguna muestra presentaba valores por encima de 10 ng/g.

En Italia, Imperato *et al.* (2011) no detectaron la presencia de OTA en ninguna de las 176 muestras de frutos secos importados analizados (caca-huete, pasta de avellana, pistacho y hueso de albaricoque).

Magnoli *et al.* (2007) en Argentina encontraron OTA en 50% de las muestras analizadas de cacahuets con unos niveles entre 5,6 y 130 ng/g, valores que deben ser tenidos en cuenta dado que en este país el consumo de cacahuets y sus derivados es importante.

En el estudio de C.E. (2002) ninguna de las muestras de albaricoques analizadas se encontraron contaminadas y en un 10% de las muestras de dátiles se detectó OTA con una media de OTA de 0,10 ng/g.

En Hong Kong el estudio de Chung *et al.* (2009) refleja una incidencia de OTA en frutos secos del 38% y valores máximos de 2,09 ng/g.

En la Tabla 47 se recogen los valores máximos detectados en la bibliografía anterior en los frutos secos y frutas desecadas.

Tabla 47. Valores máximos de OTA (ng/g) detectados en frutos secos y frutas desecadas

Concentración máxima de OTA (ng/g)					
Nueces	Almendras	Cacahuets	Albaricoques	Ciruelas	Castaña
Zinedine <i>et al.</i> (2007c) 0,23	Zaied <i>et al.</i> (2010) 266	Zaied <i>et al.</i> (2010) 160	Fakoor Janati <i>et al.</i> (2012) 2,83	Fakoor Janati <i>et al.</i> (2012) 2,62	Pietri <i>et al.</i> (2012) 65,84

Por tanto, el nivel de contaminación por OTA en los frutos secos y frutas desecadas varía en función del tipo de fruto, de su origen y de las condiciones de conservación; pero, en general, pueden contribuir a la ingesta total de la micotoxina en un porcentaje importante.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de frutos secos y frutas desecadas.

En la Tabla 48 se recoge la estimación de la ingesta de OTA por consumo de frutos secos y frutas desecadas, considerando el consumo el reflejado en la AESAN (2011a) y las condiciones más adversas, es decir, tomando los valores máximos detectados en los estudios y para una persona de 60 kg.

Tabla 48. Estimación de ingesta de OTA por consumo de frutos secos y frutas desecadas

Producto	V. máximo OTA (ng/g)	Consumo (g/persona/día)	ID OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Higos desecados	277	0,48	2,2	12,8
Uvas pasas	100	0,24	0,4	2,3
Pistachos	203	0,29	0,98	5,7
Nueces	0,23	1,15	0,04	0,02
Almendras	266	0,78	3,5	20,1
Cacahuetes	160	0,44	1,2	6,8
Albaricoques	2,83	0,04	0,001	0,01
Ciruelas	2,62	0,04	0,002	0,1
Castañas	65,84	0,23	0,3	1,5

V.: valor, ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable

3.1.8. Presencia de OTA en uva y zumo de uva

Numerosos estudios reflejan la contaminación de la uva y sus productos derivados por micotoxinas. La presencia de OTA en la uva y el vino está ligada principalmente a la contaminación en el viñedo por las especies que pertenecen a la sección *Aspergillus nigri*. El *A. nigri* es considerado un patógeno oportunista que puede causar podredumbre en los racimos y hongos en las pasas. El *Aspergillus* es más resistente a la exposición del sol, al calor y la humedad (Lasram *et al.*, 2007).

Dentro del género *A. nigri*, la especie *A. carbonarius* es el hongo más toxigénico identificado en uva (Amezqueta *et al.*, 2012) seguido de otras especies que incluyen el agregado *A. niger*. En las regiones con climas más fríos puede crecer la especie *Penicillium* y producir micotoxinas en mosto y vino, pero pocas veces se encuentra en uva (Varga & Kozakiewicz, 2006).

En el Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, se establece el límite de OTA en 2 ng/ml en los vinos, mosto de uva y bebidas a base de uva. Algunos países como Finlandia también llevan a cabo sus controles de OTA y aplican sus propios límites.

3.1.8.1. Presencia de OTA en uvas

Existe muy poca información sobre la presencia de OTA en uvas en comparación con la existente de vinos. Se ha demostrado que el envero temprano y el tiempo de cosecha son periodos críticos en la acumulación de OTA en la uva y que esta contaminación está relacionada con varios factores: la zona geográfica, las condiciones climáticas, la localización del viñedo, la calidad y la variedad de las uvas (Ponsone *et al.*, 2010)

Los estudios de contaminación en uva se recogen en la Tabla 49.

Tabla 49. Incidencia (%), rango y concentración media de OTA (ng/g) en uvas

País/referencia	Incidencia (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Grecia (Meletis <i>et al.</i> , 2007)	86	0,53-2,69	1,1 uva negra 0,82 uva blanca
Italia (Lucchetta <i>et al.</i> , 2010)	30	>2	n.i.
Argentina (Chiotta <i>et al.</i> , 2009)	41	0,1-1,2	0,17-0,48

n.i.: no indicado

En Meletis *et al.* (2007) es donde se detectó una mayor incidencia de OTA en uvas. Si bien se observaron trazas en un 56% de las muestras y en un 4% de las uvas rojas cultivadas de manera ecológica. En Lucchetta *et al.* (2010), aunque la incidencia de OTA en uvas era menor, un 2,5% de las muestras superaban los niveles establecidos en la UE de 2 ng/g. En ambos trabajos no se apreciaban diferencias significativas entre la contaminación de las uvas rojas y las uvas blancas, aunque en Meletis *et al.* (2007) las uvas rojas presentaban un contaminación ligeramente superior a las blancas.

Lucchetta *et al.* (2010) y Chiotta *et al.* (2009) detectaron que aunque *A. niger* agregado era la cepa predominante, *A carbonarius* era la más frecuente en el sur de Italia y con mayor capacidad productora de OTA en Argentina (202 ng/g Vs 2,24 ng/g). También observaron que el año y las condiciones climáticas tenían una notable influencia en el desarrollo de la población de *Aspergillus* y que existía un gradiente de contaminación de norte a sur. Las muestras del sur Italia presentaban mayor incidencia y mayor concentración de OTA.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de uva.

La ingesta de OTA por consumo de uva de mesa, considerando que el consumo diario de uva es de 20-200 g en una persona de 60 Kg, equivale a 0,9-9 ng/Kg/día dependiendo de la cantidad ingerida (Meletis *et al.*, 2007). Si se considera como datos de consumo el recogido en AESAN (2011a) la ingesta diaria es inferior tal como se refleja en la Tabla 50.

Tabla 50. Estimación de ingesta de OTA por consumo de uva

Referencia	Valor máximo OTA (ng/g)	Consumo (g/ persona/ día)	ID OTA (ng/ Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Meletis <i>et al.</i> (2007)	2,69	20-200	0,9-9	5,2-52
AESAN (2011a)	2,69	2,32	0,1	0,6

ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable.

Estos trabajos muestran que la presencia y los niveles de OTA en la uva no se pueden considerar peligrosos para las salud.

3.1.8.2. Presencia de OTA en zumo de uva

El zumo de uva es susceptible de contaminación por OTA. Esta contaminación ha sido recogida en algunos estudios (Tabla 51) donde se ha detectado altos niveles de OTA en zumo de uva roja (Varga & Kozakiewicz, 2006).

Lasram *et al.* (2007) observaron que la cantidad de OTA en mosto se incrementa al aumentar la maduración de las uvas y que es el *A. carbonarius* la principal causa de contaminación de las uvas tunecinas. Ponsone *et al.* (2010), en Argentina, detectaron un bajo número de muestras contaminadas y bajos niveles de OTA que podrían estar relacionados con la baja incidencia

de las principales especies de *A. nigri* en las uvas.

Tabla 51. Incidencia (%), rango y concentración media de OTA (ng/g) en zumo de uva

País/referencia	Incidencia (%)	Rango (ng/g)	Media (ng/g)
Túnez (Lasram <i>et al.</i> , 2007)	37	0,59-2,57	1,1 uva negra 0,82 uva blanca
Argentina (Ponsone <i>et al.</i> , 2010)	9	0,1-0,6	0,12

En el informe C.E. (2002), los datos obtenidos de las muestras analizadas de zumo de uva presentan una incidencia de OTA del 83% en Alemania, 96% en Noruega, 100% en España y 95% en UK, que suponen incidencias mucho más altas que las recogidas en los estudios anteriormente mencionados. La concentración media oscilaba entre 0,04 - 0,74 ng/g.

Estimación de ingesta de OTA por consumo de zumo de uva.

Considerando las condiciones más adversas, el valor más alto de contaminación y el consumo el recogido en la AESAN (2011a), para una persona de 60 kg, la ingesta diaria se recoge en la Tabla 52.

Tabla 52. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de zumo de uva

Valor máximo OTA (ng/g)	Consumo (ml/persona/día)	ID OTA (ng/Kg p.c./ día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
2,57	0,08	0,03	0,02

ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable.

Por ello, es necesario más datos sobre la presencia de OTA en zumo de uva dado que los niños son unos de los principales consumidores.

3.1.9. Presencia de OTA en otros alimentos

3.1.9.1. Presencia de OTA en salsa de soja

La salsa de soja es un condimento obtenido de la fermentación de semillas de sojas con granos de cereales tostados. Es un alimento de consumo habitual en países orientales que desde la década de los 80 ha ido difundándose en el resto de mercados. Los ingredientes utilizados en su elaboración, tanto las semillas de soja como los cereales tostados, pueden ser una fuente de micotoxinas.

Blesa *et al.* (2004) estudiaron la presencia de OTA en la salsa de soja. El número de muestras analizadas eran 60 y en ninguna se detectó la presencia de OTA. Para explicar este hecho se aportan dos argumentos. En el primero indica que las materias primas son sustratos pobres para el crecimiento de hongos ocratoxigénicos. Además refleja que los cereales utilizados (trigo, arroz y cebada) suelen presentar bajos niveles de OTA y que su tostado puede reducir su contenido hasta un 50%. La segunda explicación sería que *A. oryzae* y *A. sojae*, debido a su metabolismo catabólico y a su competición con los hongos ocratoxigénicos, eliminan la producción de OTA.

3.1.9.2. Presencia de OTA en horchata

La horchata es una bebida refrescante, de aspecto lechoso, obtenida a partir de la chufa. Es un producto típico de España, originario de la costa levantina, que en los últimos años ha alcanzado una gran popularidad no solo a nivel nacional sino también internacional. Su proceso de elaboración es crítico debido a la posible presencia de numerosos contaminantes como los hongos. La chufa y su bebida derivada ha sido monitorizada por Rubert *et al.* (2011a), detectándose la presencia de OTA en 6 de las 48 muestras de chufa analizadas (12,5% de incidencia) con un rango entre 3,5 ng/g a 11

ng/g y una incidencia del 1% en la horchata (2/190 muestras) con un rango de OTA entre 2 ng/g a 2,4 ng/g.

En la horchata concentrada y la esterilizada no se detectó presencia de micotoxinas. En el primer tipo de horchata la ausencia de OTA puede ser atribuible al aumento de la concentración de los azúcares que pueden interferir en el crecimiento de los hongos y en la horchata esterilizada la alta temperatura a la que se somete puede reducir el crecimiento de los mohos.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de horchata.

Considerando las condiciones más adversas, el valor más alto de contaminación y el consumo el recogido en la AESAN (2011a), para una persona de 60 kg, la ingesta diaria se recoge en la Tabla 53.

Tabla 53. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de horchata

Valor máximo OTA (ng/g)	Consumo (ml/persona/día)	ID OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
2,4	0,96	0,04	0,22

ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable.

Aunque los niveles detectados son bajos, la exposición crónica puede tener un efecto adverso en el consumidor. Además es necesario tener en cuenta que en el verano el consumo de horchata aumenta, incrementándose la ingesta diaria de OTA (Rubert *et al.*, 2011a).

3.1.9.3. Presencia de OTA en el regaliz y sus derivados

El regaliz (*Glycyrrhiza glabra*) es uno de los condimentos más antiguos. Es una raíz de una pequeña planta perenne cultivada en el sur de Europa y

Oriente próximo. Europa suele importar regaliz de China, Egipto y Turquía. Sus usos son variados. En la industria alimentaria se utiliza por su poder edulcorante en la confección de alimentos y bebidas. La raíz seca se usa como ingrediente en infusiones. El extracto de regaliz, producto derivado de la regaliz obtenido por trituración y extracción de la raíz con agua en cámaras de vapor seguido de su concentración, se usa como agente aromático y/o edulcorante en diferentes sectores de la industria alimentaria tales como confitería, bebidas, en la cerveza irlandesa y en un licor italiano: sambuca. Las golosinas a base de regaliz pueden contener un 2-10% de extracto de regaliz.

La presencia de OTA en regaliz y sus derivados ha sido ampliamente estudiada, observándose en diversas ocasiones un contenido muy elevado de esta micotoxina (Trucksess & Scott, 2008). La selección de rizomas de regaliz basándose en la homogeneidad del color no consigue una reducción significativa de la contaminación por OTA; por el contrario, el pelado de las raíces y el procesamiento para la producción de extracto de regaliz y de regaliz en bloque puede disminuir el nivel de OTA. Sin embargo, estos procesos no eliminan el problema de la contaminación y una cantidad OTA no despreciable puede permanecer en el extracto de regaliz y por consiguiente en el regaliz que contienen los productos de confitería y los dulces muy consumidos por los niños (Pietri *et al.*, 2010).

Por ello, se ha establecido un contenido máximo para el regaliz en el Reglamento (UE) nº 105/2010 de la Comisión, de 5 de febrero de 2010, que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006. Para la raíz de regaliz, ingrediente para infusiones, se ha fijado el valor de 20 µg/Kg y para el extracto de regaliz para uso alimentario, especialmente en bebidas y confitería, se estableció un nivel de 80 µg/Kg, siendo este contenido máximo aplicado al

extracto puro y no diluido, obtenido a razón de 1 kg de extracto por cada 3 a 4 Kg de raíz de regaliz.

En España el regaliz ha sido estudiado por Ariño *et al.* (2007) y Herrera *et al.* (2009); ambos trabajos fueron publicados antes de establecerse los niveles de OTA en regaliz, pero confirman la presencia de micotoxina en esta raíz y sus productos derivados.

En el estudio de Ariño *et al.* (2007) todas las muestras de regaliz y sus derivados contenían OTA y algunas de ellas presentaban elevadas concentraciones (252 ng/g). Los más altos niveles de OTA eran encontrados en la raíz seca de regaliz, con valores medios de 63,6 ng/g, mientras que en la raíz fresca de regaliz el contenido medio era de 9,2 ng/g. La OTA también se detectó en sus derivados, en el extracto líquido de regaliz (16,6 ng/g), en dulces de regaliz (3,8 ng/g) y en regaliz en bloque de (39,5 ng/g) hecho que indica que la OTA resiste al proceso de extracción al que se somete la raíz para obtener sus derivados. En esta publicación se estudió la transferencia de OTA desde la raíz de regaliz a la bebida de te preparada por dos métodos: infusión y decocción, observándose que un 5% de la OTA presente en la raíz es transferido al te obtenido por decocción y solo un 1% de la OTA es extraído en la infusión de té.

En el estudio de Herrera *et al.* (2009) se han analizado 44 dulces de regaliz: 16 golosinas duras y 28 golosinas blandas. La incidencia de OTA variaba entre 75% y 39% y la media variaba desde 2,96 ng/g a 0,34 ng/g para las duras y las blandas respectivamente, diferencia que puede ser atribuida a la diferente proporción de extracto de regaliza en cada tipo de golosina. La incidencia de OTA en el total de las muestras era del 52% y la media total: 1,29 ng/g y un rango de entre 1,8 ng/g y 12,0 ng/g. Estas golosinas están formadas por distintos ingredientes, pero la fuente más probable de OTA es

el extracto de regaliz.

Pietri *et al.* (2010) estudiaron 82 muestras, 28 muestras de extracto de regaliz seca y 54 muestras de dulces de regaliz (2-10% de regaliz) hechas y adquiridas en puntos de venta de Italia. La OTA estuvo presente en 61 muestras, con una incidencia de 74,4%. En todas las muestras de extracto de regaliz seca se detectó OTA y un 17,8% mostraron una concentración superior a 80 ng/g con un valor máximo de 990,1 ng/g. Estos datos coinciden con Ariño *et al.* (2007) donde en todas las muestras de regaliz y sus derivados se encontró la micotoxina. Sin embargo en las golosinas de regaliz la contaminación por OTA era muy baja, con una incidencia de 61%, una media de 0,96 ng/g y valores máximos de 4 ng/g (Pietri *et al.*, 2010).

La estimación de la ingesta de OTA debida al consumo de regaliz reflejada en el trabajo de Herrera *et al.* (2009) se recoge en la Tabla 54.

Tabla 54. Evaluación de la ingesta de OTA por consumo de regaliz

Edad / Peso	consumo (g/día*)	V. medio OTA (ng/g)	ID OTA (ng/p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Niño 30 kg	1,2	1,29	0,05	0,3
Adulto 70 kg	1,2	1,29	0,022	0,13

*Los datos de consumo anuales por persona en España de productos de confitería utilizados son los recogidos en informe de CAOBISCO 2006 y corresponden a: 3,3 Kg. Se considera que un 13% de estas golosinas contienen de extracto de regaliz, por lo que el consumo diario es de 1,2 g.

V.: Valor, ID: Ingesta de OTA, IDT: Ingesta diaria tolerable

Pietri *et al.* (2010) también estimaron la ingesta de OTA por consumo de productos a base de regaliz. Los datos se recogen en la tabla 55.

Tabla 55. Evaluación del ingesta de OTA por consumo de regaliz y productos derivados

Tipo producto	Consumo (g/día*)	Mediana OTA (ng/g)	ID OTA (ng//día)	ID OTA (ng/ p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./ día)
Extracto seco	0,75	26,3	19,7	Niños, 30 Kg 0,66	3,8
				Adultos, 70 Kg 0,28	1,6
Golosinas	6,8	0,17	1,1	Niños, 30 Kg 0,04	0,2
				Adultos, 70 Kg 0,016	0,1

ID: Ingesta de OTA, IDT: Ingesta diaria tolerable.

Estos valores indican que la exposición a golosinas de regaliz es muy baja, coincidiendo con los obtenidos por Herrera *et al.* (2009). No obstante, cuando el consumo de extractos de regaliz es regular, la ingesta de OTA no es despreciable si se considera que la micotoxina puede estar presente en muchos otros alimentos.

3.1.9.4. Presencia de OTA en aceitunas

En los olivos son capaces de desarrollarse muchas cepas de hongos. Por ello las aceitunas, tanto frescas como procesadas, pueden aparecer contaminadas de forma natural por gran variedad de hongos incluyendo *A. parasiticus* y *A. ochraceus* y sus esporas (Ghitakou *et al.*, 2006). Sin embargo, las aceitunas no constituyen un sustrato donde los hongos pueden crecer con facilidad y la presencia de otros microorganismos puede restringir su crecimiento y posiblemente la producción de micotoxinas. No obstante, si el almacenamiento es prolongado y las condiciones no son las adecuadas pueden desarrollarse mohos y producirse OTA.

En Marruecos El Adlouni *et al.* (2005) observaron que todas las muestras

de aceitunas analizadas contenían OTA desde LOQ a 1,02 ng/g y que el 50% y el 25% de las muestras de los minoristas y los supermercados respectivamente estaban contaminadas por más de 0,65 ng/g.

En Grecia, Ghitakou *et al.* (2006) no detectaron presencia de OTA en las aceitunas sin tratamiento, con su flora natural, pero un 17% de las muestras de oliva y pasta de oliva tomadas en el mercado griego se encontraban contaminadas, de ellas solo dos muestras presentaban niveles de 1,18 ng/g y 1,86 ng/g y el resto presentaban trazas de OTA, confirmando los resultados detectados en aceitunas no tratadas.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de aceitunas.

Considerando las condiciones más adversas, el valor más alto de contaminación y el consumo el recogido en la AESAN (2011a), para una persona de 60 kg, la ingesta diaria se recoge en la Tabla 56.

Por tanto, aunque los niveles de OTA detectados en las aceitunas son bajos, pueden contribuir a la ingesta diaria de OTA dado que son un componente importante dentro de la dieta mediterránea.

Tabla 56. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de aceitunas

Valor máximo OTA (ng/g)	Consumo (g/persona/día)	ID OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
1,86	3,48	0,11	0,63

ID: Ingesta de OTA, IDT: Ingesta diaria tolerable

3.1.9.5. Presencia de OTA en aceite de oliva

El aceite de oliva se extrae por presión de la aceitunas y es uno de los

componentes más importantes de la dieta mediterránea. Si las aceitunas de donde procede se encuentran contaminadas, dicha contaminación será transferida al aceite.

El riesgo de detección de micotoxinas en aceite de oliva ha sido muy poco estudiado. Existen pocas referencias relativas a la contaminación del aceite de oliva por OTA (Ferracane *et al.*, 2007).

En Grecia Papachristou & Markaki (2004) encontraron que un 88% de las muestras de aceite de oliva estaban contaminadas por OTA, con valores medios de las muestras positivas de 0,27 ng/g y máximos de 1,03 ng/g. Las muestras más contaminadas procedían de aceite del sur de Grecia (valores por encima de 0,5 ng/g), dato que coincide con resultados obtenidos en otros productos procedentes del sur de Europa donde se observa un incremento de niveles de OTA respecto a productos originarios del norte de la UE, debido fundamentalmente a que las altas temperaturas y la humedad proporcionan condiciones óptimas para el crecimiento de hongos productores de OTA. En este estudio, a diferencia de otros trabajos, las muestras procedentes de la agricultura ecológica no se encontraban contaminadas por OTA.

En el estudio de Ferracane *et al.* (2007) en Italia se han estudiado 30 muestras de aceite de oliva, detectándose una frecuencia de OTA del 80% con un rango de 0,1 a 17 ng/g y una media de 2,09 ng/g. Además las muestras no etiquetadas presentaban niveles más altos que las etiquetadas (media 2,47 vs 0,66 ng/g).

La evaluación del riesgo derivado de la ingesta de aceite con OTA se recoge en la Tabla 57.

Tabla 57. Evaluación de la ingesta de OTA por consumo de aceite

Referencia	Consumo (g/día*)	Valor medio OTA (ng/g)	ID OTA (ng/Kg. p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg. p.c./día)
Papachristou & Markaki (2004)	15-100	0,160 1,03 a	0,04-0,26 0,25-1,71	0,23-1,5 1,5-9,9
Ferracane <i>et al.</i> (2007)	33	0,66 2,47 a	0,3 1,3	1,7 7,5

ID: Ingesta de OTA, IDT: Ingesta diaria tolerable, * Persona de 60 Kg; a: muestras más contaminadas.

Si se considera el consumo de aceite de oliva de 23,03 ml/día (AESAN, 2011a), la ingesta de OTA diaria, para un adulto de 60 kg tomando el valor más alto (2,47 ng/g), sería de 0,95 ng/p.c.

En ambos estudios la exposición a OTA derivada del consumo de aceite es muy baja en comparación con otras fuentes, no obstante, es necesario considerar que en la zona mediterránea el aceite de oliva es la principal fuente de grasa y que, por tanto, su consumo frecuente, aunque presenten niveles bajos de contaminación, puede contribuir significativamente a la ingesta total de OTA.

En la Tabla 58 se recoge un resumen de valores más altos de OTA encontrados en otros alimentos.

Tabla 58. Valores más altos de OTA (ng/g) encontrados en distintos alimentos

Concentración de OTA (ng/g)				
Salsa de soja	Horchata	Regaliz	Aceitunas	Aceite
n.d.	Chufa: 11 Horchata: 2,4	Extracto: 990 Bloque sólido: 39 Dulces: 12	1,86	2,47

n.d.: no detectado.

3.1.10. Presencia de OTA en productos alimentarios de origen animal

La OTA es un contaminante generalizado en los productos de origen animal, especialmente en carne, leche y sangre. En el informe de la Comisión Europea (C.E., 2002) se hace referencia a que la contribución de los productos de origen animal a la exposición humana es de un 3% del total de la ingesta de OTA. No obstante, la EFSA (2006) considera que el riesgo asociado al consumo de alimentos procedentes de animales alimentados con piensos es casi despreciable. Sin embargo, los alimentos de origen animal merecen especial atención dado que la presencia de OTA en pienso es impredecible e inevitable y su transferencia desde los piensos a los productos animales ha sido confirmada. Determinados grupos de población son grandes consumidores de algunos de ellos, pudiendo estar expuestos a niveles de OTA mayores (Duarte *et al.*, 2011a). Son numerosos los estudios donde se recoge la presencia de OTA en estos alimentos.

3.1.10.1. Presencia de OTA en leche de vaca

En principio la leche de vaca no se considera una fuente de OTA, dado que datos experimentales demuestran que los rumiantes son menos susceptibles que otras especies animales a los efectos adversos asociados con la exposición a micotoxinas. Este supuesto se basa en el hecho de que la flora del rumen puede convertir una serie de micotoxinas en metabolitos menos potentes o biológicamente inactivos. Este es el caso de la OTA que puede hidrolizarse en el rumen a un metabolito menos tóxico: OTA alfa y solo una pequeña cantidad de OTA intacta es absorbida (Fink-Gremmels, 2008).

En la Tabla 59 se recogen estudios donde se han detectado bajos niveles de OTA en la leche.

En el estudio de C.E. (2002) en Alemania no se detectó OTA en 69 mues-

tras de leche, en Noruega para n=165, la incidencia fue de 7,9% y en Suecia para n=36 la incidencia fue de 13,8%.

Tabla 59. Incidencia (%), media y rango (ng/ml) de OTA en leche de vaca

País/referencia	Muestras	Incidencia (%)	Media (ng/ml)	Rango (ng/ml)
España (Basarán <i>et al.</i> , 2007)	Leche desnatada 8 Leche entera 4	0	--	--
España (González-Os-naya <i>et al.</i> , 2008)	61	n.d.	--	---
Sudán (Elzupir <i>et al.</i> , 2009)	Leche a granel n:5	20	2,73	
Italia (Pattono <i>et al.</i> , 2011)	Leche granjas orgánicas n: 63 Leche granja convencional n: 20	4,8 0	---	0,07-0,11

n.d.: no detectado

Pattono *et al.* (2011) estudiaron el contenido de OTA en leche producida en granjas orgánicas y convencionales. En la leche procedente de granjas orgánicas se detectó OTA, pero en la procedente de una granja convencional no. Son numerosos los factores que pueden explicar la presencia de OTA en leche orgánica; tales como la diferencia en el tipo de ración consumida; en la granja convencional el 75% de la ración consiste en concentrados y ensilados (con un mayor contenido proteico y mas tasa energética) y en las granjas ecológicas se consume principalmente pastos, heno y raíces, circunstancia que implica un menor contenido de flora protozoaria (responsable de la degradación de OTA); cambios en el pH rumial, contaminación significativa del pienso por micotoxinas o bien la suma de los distintos factores.

Estimación de la ingesta de OTA por consumo de leche.

En este estudio, asumiendo que el consumo leche de un adulto de 60 kg

de peso, es 191,48 ml (AESAN, 2011a), la ingesta diaria de OTA es de 0,22 a 0,35 ng/Kg p.c., valores menores que la IDT: 17 ng/Kg p.c./día.

Por tanto, tal como se refleja en estos estudios, la leche puede ser una fuente de OTA y por tanto, pequeñas cantidades de OTA en este alimento pueden ser de gran importancia en los grandes consumidores, en particular, en los niños.

Meucci *et al.* (2010) estudiaron fórmulas a base de leche de vaca para lactantes (leches para prematuros y leche de inicio para bebés de cero a seis meses, tanto listas para usar como en polvo) comercializadas en Italia, detectando OTA en 72% muestras, con concentraciones con un rango de 0,035 a 0,689 ng/ml, observando que la contaminación por OTA fue del 80% en el producto listo para usar y en 63% en las muestras en polvo. No existían diferencias significativas entre los distintos tipos de fórmulas y distintas formas de presentación, si bien las fórmulas “pre-term” (prematuros en polvo y lista para consumo) mostraban una tendencia a niveles ligeramente más altos de OTA que las fórmulas “starter” (leches de iniciación) (80% de incidencia y una media 0,106 ng/ml frente 68% de incidencia y media 0,069 ng/ml), diferencias atribuibles principalmente a los distintos ingredientes de las fórmulas.

Meucci *et al.* (2010) calcularon la ingesta alimentaria diaria y semanal de OTA para los niños utilizando como consumo el establecido en las tablas recogidas en el etiquetado de cada marca. En fórmulas listas para usar, para prematuros y de iniciación, las ingestas diarias fueron de 16,08 y 12,29 ng/Kg p.c., respectivamente y las ingestas semanales fueron de 112,56 y 86,03 ng/Kg p.c. La ingesta media diaria y semanal de la fórmula de iniciación en polvo fueron 10,67 y 74,69 ng/Kg/ p.c., respectivamente. Los niveles de OTA en fórmulas de prematuros listas para utilizar eran muy próximos a los esta-

blecidos en la IST (120 ng/Kg p.c. /semana)

Los resultados señalan la necesidad de realizar programas de prevención, especialmente cuando se trata de identificar marcadores de riesgo de la calidad de la alimentación infantil. El análisis de las fórmulas a base de leche de vaca para lactantes puede servir como marcador de exposición a la OTA, al mismo tiempo los niveles de OTA indican la exposición de los recién nacidos, que deben tenerse en cuenta en la caracterización del riesgo en general (Meucci *et al.*, 2010).

3.1.10.2. Presencia de OTA en quesos

El queso es producto de origen animal obtenido a partir de la leche y que por ello puede contener OTA. En el estudio de Dall'Asta *et al.* (2008) detectaron OTA en varias muestras de queso azul que había sido inoculado por *Penicillium roquefort* (no productor de OTA): en 23 de las 54 muestras de queso gorgonzola de Italia, con una media de 0,71 ng/g y un rango de concentraciones de entre 0,2 a 3.0 ng/g y en siete de las 14 muestras de roquefort, con un nivel medio de OTA de 0,63 ng/g y un rango de entre 0,1 a 1,4 ng/g; por otra parte, en siete muestras la contaminación estaba por debajo de 0,25 ng/g, pero era detectable. En este estudio se investigó el origen de la contaminación por OTA, para ello se analizó las partes blancas y las partes verdes del queso. Los datos demostraron que la contaminación no se debía a la leche contaminada, dada la ausencia de OTA en las partes blancas, sino que estaba asociada con las áreas azules y verdes de mohos y que se incrementó durante el almacenamiento. La presencia no homogénea de altos niveles de OTA en diferentes zonas apoyaba la hipótesis de que las cepas productoras de OTA estaban presentes y que podía proceder del proceso de elaboración.

A pesar que los niveles de contaminación de OTA en el queso azul son muy bajos y no suponen un peligro para los consumidores, es necesario evaluar el riesgo, determinar el origen de la contaminación y establecer medidas para prevenirlo.

3.1.10.3. Presencia de OTA en huevos

Los huevos son una fuente potencial casi despreciable de OTA. Es necesaria una alta contaminación de los piensos para transferir la OTA a los huevos. Tangni *et al.* (2009) no detectaron OTA en huevos producidos bajo condiciones estándar.

3.1.10.4. Presencia de OTA en derivados cárnicos.

El informe C.E. (2002) recoge que el nivel medio global de la OTA en productos cárnicos fue de 0,2 µg/Kg y que la contribución de la carne al promedio de la ingesta alimentaria total en Europa es del 1%. La Comisión Europea (CE) no ha establecido límites máximos de OTA en carne ni en otros productos de origen animal, sin embargo países como Dinamarca ha fijado 10 µg/kg en riñón de cerdo, Eslovenia ha establecido 5 µg/Kg en carne, e Italia ha establecido como recomendación el valor de 1 µg//Kg de OTA en carne cerdo y sus productos derivados.

Los cerdos son especialmente sensibles a la acumulación de OTA, mostrando el siguiente patrón de distribución de OTA en sus tejidos: riñón >hígado >tejido muscular >grasa (Pietri *et al.* 2011). La presencia de OTA en estos productos puede ser atribuida a la transmisión indirecta desde los animales por ingestión de piensos contaminados con OTA, o, según otros autores, por contaminación directa debido a la presencia de cepas productoras de OTA en el aire de la habitaciones de maduración o por su crecimiento en la superficie de los productos.

Monaci *et al.* (2005) determinaron la presencia de OTA en salami, encontrando que el 43% de las muestras analizadas estaban contaminadas por OTA con niveles comprendidos entre 0,06 y 0,4 ng/g, siendo el valor más alto detectado de 0,4 ng/g. Toscani *et al.* (2007) estudiaron productos cárnicos curados de cerdo, analizando las capas externas e internas del producto por separado. Los resultados mostraron una mayor frecuencia y niveles de OTA en las capas superficiales (valor máximo de 7,3 ng/g) que en las capas internas (valor máximo 1,52 ng/g), hechos que están de acuerdo con la posible contaminación directa por cepas de hongos productoras de OTA en las capas externas del jamón.

Iacumin *et al.* (2009) también detectaron la presencia de OTA en la superficie de salchichas, tanto artesanales como industriales, y no en su interior. La OTA se detectó en 45% de las muestras, con rango de 3 a 18 ng/g y una media de entre 4,5 a 8 ng/g. Todas las muestras superaban el valor recomendado y no se apreciaba diferencias significativas en la concentración de OTA entre las salchichas artesanales e industriales. Sugirieron que el cepillado y lavado de salchichas, que se efectúa previamente a su venta, podía reducir el contenido de OTA, considerando que los altos niveles de OTA detectados eran debidos al crecimiento de hongos toxigénicos en la tripas de las salchichas.

Por ello, es necesario controlar la temperatura y la humedad durante la producción de las salchichas, así como controlar las especias, la carne y la microflora de fermentación que se utiliza en su elaboración y que pueden ser fuentes de OTA. Iacumin *et al.* (2011) investigaron la presencia de OTA y los hongos productores de esta micotoxina en la superficie de salchichas tradicionales del norte de Italia, observando que un 24% de las muestras de salchichas eran positivas a OTA, si bien esta micotoxina solo estaba presen-

te en las tripas de las salchichas. Las concentraciones de OTA detectadas oscilaban entre un mínimo de 0,11 ng/g y un máximo de 625 ng/g, variando la media entre 0,25 ng/g y 78,01 ng/g. Los principales hongos aislados fueron *Penicillium verrucosum*, *Penicillium nordicum* y *Aspergillus ochraceus*. La prácticas del cepillado y del lavado redujeron la concentración de OTA en las tripas por debajo del valor recomendado Italiano 1 ng/g y el tratamiento con aire ozonizado en las cámaras de secado y maduración eliminó el crecimiento de hongos y la presencia de OTA.

Iacumin *et al.* (2009 y 2011) no detectaron OTA en la carne del producto, hecho que podría justificarse bien porque la envoltura no permite la difusión de la OTA al interior de la salchicha o bien por la inestabilidad de OTA en el mezclado de carne en el tiempo, atribuible a las bacterias ácido lácticas, las cuales fermentan la salchichas. Es posible un “efecto de dilución”. La concentración de OTA se puede diluir en el interior la carne cuando penetra en la envoltura. El hongo no puede crecer en la carne debido a la falta de oxígeno y, por consiguiente, no puede producir esta micotoxinas.

Dall’Asta *et al.* (2010), con el objeto de evaluar la contribución de las diferentes vías de contaminación (directa e indirecta) en el total de la contaminación por OTA de los productos y preparados cárnicos, realizaron un estudio de productos derivados de cerdos controles y cerdos tratados con pienso contaminado con 0,68 mg/OTA/día durante 40 días. La micotoxina solo se encontró en todas las muestras obtenidas a partir de animales alimentados con piensos contaminados con OTA, con una concentración media de 2,2 ng/g (si bien en algunas muestras de jamón curado y salami procedente de cerdos control también se encontró OTA, pero los valores eran despreciables). En el salami no se observaron diferencias significativas entre el contenido de OTA de las partes internas y las externas (la capa interna presentaba

un valor medio de 2,65 ng/g y valor máximo de 3,14 ng/g y la capa externa (1,5 cm profundidad) un valor medio de 2,915 ng/g y valor máximo de 3,32 ng/g) probablemente a causa de la presencia de la envoltura que actuaba como un sistema de protección contra la contaminación externa durante la maduración. En cambio, en el jamón seco-curado, procedente tanto de cerdos controles como tratados, se observó que la contaminación por OTA se producía en la superficie, lo que podría ser explicado por el crecimiento de hongos toxigénicos en esta capa durante la maduración y posiblemente por la falta de envoltura del jamón seco curado. Para demostrar la contribución medioambiental en la contaminación total por OTA, se analizaron 110 jamones curados secos del mercado, mostrando los niveles más altos de OTA en la parte exterior (media exterior 0,98 ng/g frente 0,24 ng/g en interior) pero por debajo de las recomendaciones italianas. No obstante, y dado que detectaron altos niveles en la capa exterior: 12,51 ng/g y a pesar de que estas capas exteriores no suelen ser comestibles en el caso del jamón curado, es necesario controlar la higiene ambiental en las plantas de maduración.

Sorensen *et al.* (2010) detectaron, entre los 22 productos cárnicos analizados, una muestra de jamón de Parma con altos niveles de OTA (56-158 ng/g), de modo que si se consumiera 10 g/día de este jamón durante una semana se alcanzaría la IST para una persona de 70 Kg. Las altas concentraciones detectadas indican una contaminación superficial en el jamón analizado.

Estimación de la ingesta OTA por consumo derivados de carne

La estimación se ha calculado tomando los valores más altos de OTA detectados en los derivados cárnicos y los datos de consumo recogidos por la AESAN (2011a) considerando un adulto de 60 kg (Tabla 60).

Si una persona de 60 kg de peso consumiera 12,4 g/día (AESAN 2011a)

de jamón de Parma con el valor más alto detectado por Sorensen *et al.* (2010): 158 ng/g, casi duplicaría la IDT recomendada por EFSA (2006).

Tabla 60. Estimación de la ingesta de OTA por consumo de derivados cárnicos.

Producto	Valor máximo OTA (ng/g)	Consumo (g/día)	ID OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Salami	0,4	3,28	0,022	0,13
Jamón curado	1,52	12,4	0,314	1,8
Salchichas	18	3,04	0,912	5,3

ID: Ingesta diaria, IDT: Ingesta diaria tolerable.

Estos datos demuestran que la OTA es un contaminante generalizado de productos de origen animal. Por ello, aunque su importancia es limitada frente a otras fuentes, como los cereales, no hay que menospreciar su aportación al consumo total de OTA, ya que su presencia en productos está confirmada y en ocasiones su aparición es inevitable.

3.2. PRESENCIA DE OTA EN PIENSOS

La OTA es un contaminante natural de los piensos de animales de granja, dado que los cereales, uno de sus ingredientes más importante, pueden estar contaminados por esta micotoxina. El reconocido deterioro de la salud y del rendimiento de los animales de granja debido a esta micotoxina no sólo es importante desde la perspectiva de la salud animal, sino también desde el punto de vista humano, por la potencial exposición indirecta a través del consumo de alimentos de origen animal. Además, esta contaminación supone un problema relevante porque no hay manera de predecirla ni de evitarla

(Duarte *et al.*, 2011b).

No obstante, aunque la OTA se considera una sustancia indeseable en la alimentación animal, la Comisión solo ha fijado valores orientativos para determinar la aceptabilidad de los piensos compuestos y de los cereales y los productos a base de cereales destinados a la alimentación animal en la Recomendación 2006/576/CE, del 17 de agosto de 2006 (C.C.E., 2006a), siendo estos valores de 250 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ para cereales y productos derivados de cereales y en los piensos complementario y completos de 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ para cerdos y 100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ para aves de corral.

Aunque tradicionalmente se ha estudiado la contaminación en piensos para animales destinados a la producción de alimentos, como las aves de corral, cerdos y vacas, recientemente se ha cuestionado la necesidad de prestar especial atención a los piensos destinados a la alimentación de pescado, debido al uso en los mismos de ingredientes vegetales (El Sayed *et al.*, 2009).

3.2.1. Presencia de OTA en piensos para aves

La contaminación fúngica de los piensos para aves puede tener un origen interno o externo. Es externo cuando el cereal utilizado para su elaboración se ha contaminado en la siembra, en la cosecha o durante el almacenamiento, mientras que es interno cuando la contaminación se produce durante el procesado, mezclado o el almacenado en silos del pienso compuesto. La OTA se produce en el pienso para gallinas en condiciones de humedad y temperatura elevadas.

Beg *et al.* (2006) en Kuwait realizaron un estudio de la contaminación por OTA en materia prima para piensos de las aves de corral, en maíz, harina de soja, salvado de trigo, así como en los preparados: piensos complemen-

tarios y completos para aves de corral, para gallinas ponedoras (mezclas) y para pollos de engorde. El número de muestras positivas para OTA fue elevado (incidencia entre 71,4 y 100%) y el promedio concentración fue >5 ppb en la mayoría de los casos (4,6-9,6 ppb). La más alta concentración media de OTA se encontró en las mezclas para gallinas ponedoras (9,6 ppb) y en una muestra de soja en materia prima a base de cereales con un valor máximo superior a 40 ppb.

En Brasil, Fraga *et al.* (2007) evaluaron la presencia natural de OTA en 144 muestras en diferentes etapas del procesado del pienso, observando que el 100% de las muestras estaban contaminadas por OTA con niveles de 17 a 197 ng/g (valor medio: 98,2 ng/g). También concluyeron que aunque, en la etapa del granulado, dentro del proceso de producción de pienso, se produce una importante reducción de los hongos, no disminuyen los niveles de micotoxinas.

Schiavone *et al.* (2008) en Italia realizaron un estudio de OTA en pienso y en suero de las granjas avícolas convencionales y ecológicas situadas al norte de Italia. Todas las muestras estaban contaminadas con valores en un rango de 0,04 a 6,50 µg/Kg, pero ninguna muestra estaba por encima de límites recomendados por la EU en pienso para pollos (100 µg/Kg). No se detectaron diferencias significativas entre las granjas orgánicas y convencionales, ni entre granjas de aves ponedoras y granjas de pollos de engorde. No obstante, la media cuadrática global de contaminación de OTA encontrada en piensos de granjas ecológicas era numéricamente más alta que la observada en granjas convencionales. La OTA se detectó en el 53% de las muestras de suero de los animales con rango entre 0,003 y 0,165 ng/ml y no se apreciaban diferencias significativas entre los valores detectados en las granjas orgánicas y en las granjas convencionales.

Figueroa *et al.* (2009) en Venezuela evaluaron la presencia de OTA en 50 muestras de piensos concentrados. Los ingredientes usados en estas muestras eran principalmente cereales (50%). El 94% de las muestras estaban contaminadas por OTA y el rango de contaminación oscilaba entre 2,56 y 31,98 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Estos valores tan elevados sugieren que quizás los cereales usados en la fabricación de los piensos fueran la principal fuente de contaminación fúngica y por tanto de la producción de micotoxinas.

En la Tabla 61 se recoge un resumen de la incidencia (%), valor medio y máximo de OTA ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) piensos para aves.

Tabla 61. Incidencia (%), valor medio y máximo de OTA ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) en piensos para aves.

País/referencia	Incidencia (%)	Media OTA ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	V. máximo OTA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Kuwait (Beg <i>et al.</i> , 2006)	71-100	4,6-9,6	> 40
Brasil (Fraga <i>et al.</i> , 2007)	100	98,2	197
Italia (Schiavone <i>et al.</i> 2008)	100	n.i.	6,5
Venezuela (Figueroa <i>et al.</i> 2009)	94	n.i.	31,9

V.: valor, n.i.: no indicado,

3.2.2. Presencia de OTA en pienso para cerdos

Entre los animales de granja, los cerdos son particularmente sensibles a la acumulación de OTA ya que la vida media de OTA en su suero es relativamente alta, pudiendo llegar a 72-120 h (Pozzo *et al.*, 2010). La Comisión Europea emitió una recomendación que establece un nivel máximo tolerable de 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de OTA para la alimentación de cerdos.

En la Tabla 62 se recoge estudios de la incidencia de OTA en piensos para cerdos.

Tabla 62. Incidencia (%), valor medio y máximo de OTA ($\mu\text{g}/\text{Kg}$) en piensos para cerdos

País/referencia	Incidencia (%)	Media OTA ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	V. máximo OTA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Italia (Pozzo <i>et al.</i> , 2010)	100	0,81	38
Brasil (Rosa <i>et al.</i> , 2009)	Maíz 44 g. cervecedores 13 pienso 31	n.i.	224 139 120
Argentina (Pereyra <i>et al.</i> , 2010)	Pienso 100	0,259	n.i.

V.: valor; n.i.: no indicado; g.: granos

Pozzo *et al.* (2010), en Italia, investigaron la presencia de OTA en muestras de pienso y suero recogidas entre 2006 y 2009 en granjas de cerdos con alimentación orgánica y convencional. Todas las muestras de pienso resultaron estar contaminadas por OTA con niveles entre 0,22 a 38 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (media 0,81 $\mu\text{g}/\text{Kg}$). Las concentraciones de OTA encontradas en el pienso orgánico eran significativamente más altas que las encontradas en el pienso convencional (media OTA orgánico 2,68 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ vs media OTA convencional 0,61 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), pero ningún valor superaba los límites recomendados por la UE. En el suero también los niveles de OTA detectados en cerdos de granjas orgánicas eran más elevados que los encontrados en granjas convencionales.

Rosa *et al.* (2009) en Brasil estudiaron 74 muestras: (32) maíz, (16) granos cervecedores (subproducto industria cervecera utilizados por su alto contenido en proteínas) que se utilizan como ingredientes para la fabricación de piensos y (26) piensos de cerdos, que se recogieron entre 2005 y 2006 de

diferentes fábricas de Río de Janeiro. El 44% de las muestras de maíz estaban contaminadas por OTA con valores de entre 42 a 224 $\mu\text{g/Kg}$, los granos de cerveza mostraban una incidencia del 13% y valores comprendidos entre 28 y 139 $\mu\text{g/Kg}$ y el pienso acabado presentaba una contaminación de 31% con valores de 36 a 120 $\mu\text{g/Kg}$.

Pereyra *et al.* (2010) en Argentina evaluaron los hongos y los niveles de contaminación de OTA en materias primas y piensos terminados destinados a las cerdas en las diferentes etapas reproductivas. La OTA no se detectó en las materias primas, mientras que todas las muestras destinadas a cerdas jóvenes no embarazadas estaban contaminadas con bajos niveles de OTA (media de 0,259 $\mu\text{g/Kg}$).

3.2.3. Presencia de OTA en el pienso para ganado vacuno

Los rumiantes son menos sensibles a los efectos adversos de la OTA, que los animales monogástricos, gracias a la flora del rumen. Sin embargo, la degradación de esta micotoxina no es completa y su presencia en los alimentos de origen animal (en la carne de vaca y en la leche) y en el suero humano, indica la continua y generalizada exposición del ganado a esta toxina.

Rosa *et al.* (2008) estudiaron 133 muestras consistentes en materia prima usada como ingrediente para elaborar pienso y en pienso acabado destinado a las vacas procedentes de industrias de Río de Janeiro, detectando que un 25% de las muestras de pienso acabado eran positivas a la contaminación por OTA, con niveles entre 12 y 324 $\mu\text{g/Kg}$. Un 31% del maíz y un 21,6% de la cebada estaban contaminados por OTA con niveles que variaron desde 4,9 hasta 132 $\mu\text{g/kg}$ y desde 19,6 a 637 $\mu\text{g/Kg}$, respectivamente. Las muestras de granos cerveceros fueron las más contaminadas (45%) mostrando valores entre 26,8 y 439 $\mu\text{g/kg}$. La harina de algodón y

las muestras de pulpa de cítricos no mostraron niveles detectables de OTA contaminación. En este estudio numerosas muestras presentaban niveles de OTA superior a límites recomendables.

3.2.4. Presencia de OTA en otros estudios de piensos para animales

Magnoli *et al.* (2005) en Argentina evaluaron la incidencia de OTA en pienso, detectando la presencia de esta micotoxina en un 15%, un 10% y 12% de las muestras de pienso para cerdos, gallinas y conejos respectivamente. Los niveles medios encontrados oscilaban entre 15 a 25 ng/g en los tres tipos de piensos. Klaric *et al.* (2009) detectaron en piensos una incidencia de contaminación por OTA del 15,4%, con una media de 9,2 ppb y un rango comprendido entre n.d. y 12,9 ppb.

Estos estudios muestran que la frecuencia de contaminación por OTA es muy elevada, en la mayoría de casos superior a 90%, pero los niveles detectados son inferiores a los recomendadas por la Comisión Europea. Los resultados son controvertidos en cuanto al tipo de sistema de crianza. Algunos estudios revelaron una mayor contaminación en la alimentación orgánica de cerdos que en la alimentación convencional (Pozzo *et al.*, 2010), mientras que en otros la contaminación por OTA en piensos derivados de sistemas agrícolas orgánicos no era mayor que la detecta en piensos procedentes de sistemas agrícolas convencionales según el estudio de Schiavone *et al.* (2008).

En cuanto a las concentraciones de OTA detectadas en suero animal los valores más altos se observan en los cerdos (Pozzo *et al.*, 2010). Esta diferencia podría ser explicada por la toxicocinética de la OTA, que difiere de un animal a otro. La vida media de la OTA en el suero de cerdo es de hasta 20-30 veces más larga que la del suero de aves de corral, lo que conduce a

una mayor contaminación e incidencia por OTA en el cerdos. Sin embargo, las especies de aves de corral parecen eliminar la OTA más rápidamente que los mamíferos, logrando una menor acumulación de OTA en sangre.

Se puede concluir que los piensos, tanto en la materia prima como en el pienso acabado, son una fuente de OTA y que es necesario adoptar programas que fomenten la calidad del forraje y garanticen piensos libres de micotoxinas para prevenir las micotoxicosis en la producción animal, reducir costes económicos y minimizar los riesgos potenciales para la salud humana.

3.3. Presencia de OTA en muestras biológicas de seres humanos

3.3.1. Contenido de OTA en muestras de orina

La OTA es uno de los contaminantes humanos más prevalentes en la cadena alimentaria. Su presencia, en el cuerpo humano, es debida principalmente a la ingestión de pequeñas cantidades presentes en una gran variedad de productos alimenticios y bebidas. De ahí que los esfuerzos de los investigadores y de las autoridades se hayan centrado normalmente en evaluar incidencia de las micotoxinas en los alimentos para determinar los niveles de contaminación. Sin embargo, las variaciones en la elaboración de alimentos, la ingesta de alimentos, los niveles de contaminación, la absorción intestinal, la distribución y la excreción de la toxina con lleva variaciones individuales en los niveles de toxina (Rubert *et al.*, 2011b).

Por ello, la medida de biomarcadores en fluidos biológicos: sangre, orina y leche materna es un forma de evaluar la exposición humana a las micotoxinas (Solfrizzo *et al.*, 2011).

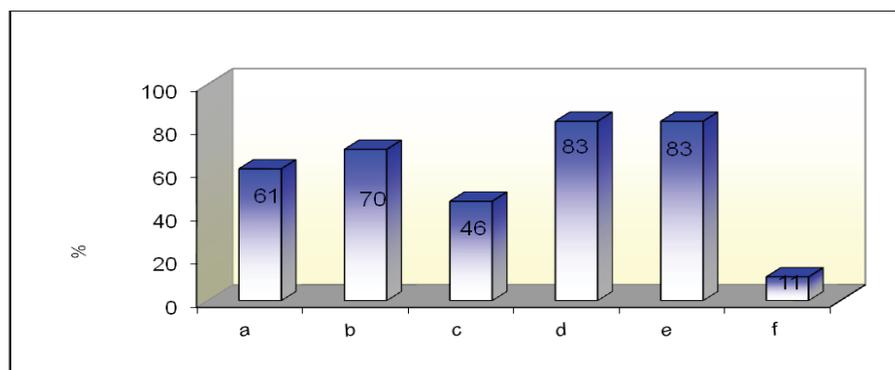
La exposición a la OTA se ve incrementada debido a la larga vida media de estas micotoxinas en el suero como resultado de su capacidad para

unirse a las proteínas plasmáticas, a su circulación enterohepática y a su reabsorción en la orina (Manique *et al.*, 2008), lo que permite que la concentración de OTA en sangre sea un buen biomarcador.

No obstante, recientemente se ha demostrado que la correlación entre la concentración urinaria de la OTA y la ingesta alimentaria parece ser más fuerte que la relación correspondiente entre el nivel plasmático de la OTA y el consumo (Fazekas *et al.*, 2005b).

En la Figura 12 se recoge la frecuencia de detección de OTA en muestras de orina encontradas en diversos estudios.

Figura 12. Incidencia (%) de OTA en orina



a: Fazekas *et al.* (2005b), b: Pena *et al.* (2006), c: Manique *et al.* (2008) Portugal, d: Manique *et al.* (2008) España, e: Akdemir *et al.* (2010), f: Rubert *et al.* (2011b)

Fazekas *et al.* (2005b) estudiaron el contenido de OTA en las muestras de orina de 88 personas sanas de Hungría. La OTA se detectó en el 61% de las muestras con una concentración media de 0,013 ng/ml (rango: 0.006-0.065 ng/ml). Las diferencias de concentraciones de OTA en la orina de las muestras de hombres y mujeres no fueron significativas. Estos resultados indican que la OTA está presente de manera regular en los alimentos con-

sumidos por la población humana. Pena *et al.* (2006) analizaron un total de 60 muestra de orina de habitantes de Coímbra y en el 70% de las muestras se confirmó la presencia de OTA en concentraciones cuyo rango osciló entre 0,02 y 0,105 ng/ml (media de 0,027 ng/ml). Manique *et al.* (2008) evaluaron los niveles de contaminación de las muestras de orina recogidas por la mañana y por la tarde en dos poblaciones en Coímbra y en Valencia. En ambas poblaciones se detectaron diferencias significativas entre los niveles de contaminación de las mañanas y las tardes. La población española presentaba mayor frecuencia de detección (81-84%) y concentraciones más altas de OTA tanto en la mañana como en la tarde. Las diferencias regionales detectadas en los niveles de OTA en los líquidos biológicos puede estar relacionada con diversos factores: condiciones climáticas, hábitos de consumo diferentes, deficientes técnicas de conservación de los alimentos, etc.

Akdemir *et al.* (2010) detectaron una incidencia de OTA en el 83% de las muestras de orina, frecuencia similar a la encontrada en la población valenciana por Manique *et al.* (2008). Rubert *et al.* (2011b) analizaron orina de 27 voluntarios, detectando solo trazas de OTA en tres muestras de orina (11,1%) con una concentración menor al LOQ (1,5 ng/ml). La frecuencia de detección es menor en el estudio de Rubert *et al.* (2011b) que la recogida en los otros estudios similares; esta diferencia podría ser atribuida a que el trabajo es de monitorización multi-micotoxinas hecho que puede comprometer la sensibilidad del método.

Si se comparan los niveles de contaminación, la media de concentración en Hungría (Fazekas *et al.*, 2005b): 0,013 ng/ml es la más baja, seguido de la detectada en Coímbra por Manique *et al.* (2008): 0,019 ng/ml. Se observan similares concentraciones en el estudio de Pena *et al.* (2006): 0,027 ng/ml, y Manique *et al.* (2008) en la población Valenciana: 0,03 ng/ml. Akdemir

et al. (2010) en Ankara detectaron valores medios de OTA de 14,309 ng/g en creatinina y máximos de 75 ng/g en creatinina.

Se puede concluir que la determinación de los niveles urinarios de OTA es un enfoque adecuado para evaluar la exposición humana a la OTA con la ventaja de ser menos invasiva que la vigilancia de la sangre.

3.3.2. Contenido de OTA en muestras de sangre

Existen numerosos estudios en donde se ha detectado la presencia de OTA en sangre (plasma y suero). Estos resultados indican una continua y amplia exposición humana a esta micotoxina. Sin embargo esta exposición no es uniforme, variando de entre países e individuos.

En la Tabla 63 se recogen algunos trabajos de niveles de OTA en plasma y suero de diferentes países del mundo con dos clases de participantes: personas sanas y personas que sufren nefropatías.

Los resultados, en general, reflejan altas frecuencias (% de muestras positivas) de contaminación de la sangre humana por OTA, aunque los niveles (ng OTA/ml de plasma o suero) son bajos, mostrando una amplia exposición humana a esta micotoxina.

La incidencia de contaminación de sangre por OTA se encuentra en el rango de 28 a 100%, diferencias que pueden ser atribuibles a los distintos LOD y LOQ usados en el análisis de las muestras de suero o plasma en cada estudio.

Tal como se refleja en la Tabla 63 la menor presencia de OTA en plasma humano (63%) se encontró en Argentina (incidencia más baja que en Chile) y, contrariamente a lo esperado, el LOQ del método empleado (0.019 ng/ml) no era el más alto en comparación con el resto de estudios considerados.

Tabla 63. Incidencia (%), concentración media, valor máximo de OTA (ng/ml) y LOD (ng/ml) en muestras de sangre

País/referencia	Líquido biológico	Incidencia (%)	Media (ng/ml)	Máximo (ng/ml)	LOD (ng/ml)
España (Coronel <i>et al.</i> , 2009)	Plasma	98,6	0,86	8,68	0,075
España (Medina <i>et al.</i> , 2010)	Plasma	100	1,09	5,71	0,01
Italia (Di Giuseppe <i>et al.</i> , 2011)	Plasma	99,1	0,229	>0,5	0,025
Chile (Muñoz <i>et al.</i> , 2006) Colbún San Vicente Tagua	Plasma	70 (total)	n.i.	n.i.	0,1
		50	0,44	2,75	
		90	0,77	2,12	
Argentina (Pacin <i>et al.</i> , 2008) Mar del Plata General Rodriguez	Plasma	63 (total)	n.i.	n.i.	0,012
		63,8	0,15	47,6	
		62,3	0,43	74,8	
Portugal (Lino <i>et al.</i> , 2008) Coimbra Ereira Verride	Suero	100 (total)	n.i.	2,49	0,1*
			0,42	0,96	
			0,44	1,91	
			0,78	2,49	
Portugal (Dinis <i>et al.</i> , 2007) Coimbra Aveiro	Suero pacientes	100	n.i.	n.i.	0,05*
			0,5	1,52	
			0,49	1,03	
Italia (Biasucci <i>et al.</i> , 2011)	Suero cordón umbilical	99	0,4998	>0,5	0,025
Turquía (Erkekoglu <i>et al.</i> , 2010)	Suero	81a 98b	0,137a 0,312b	1,496a 0,887b	0,025
Túnez (Karima <i>et al.</i> , 2010)	Suero	28	0,49	11,67	0,1
Túnez (Zaied <i>et al.</i> , 2011)	Suero	49c 76d	3,3c 18d	8,5c 65d	0,05

n.i.: no indicado; *LOQ (ng/ml), a: invierno, b: verano, c: donantes, d: pacientes

La máxima incidencia de OTA en plasma se recoge en el estudio de España (Medina *et al.* 2010) donde en el 100% de las muestras se encontró esta micotoxina. En cuanto a las concentraciones de OTA el valor máximo (74,8 ng/ml) se detectó en Argentina (Pacin *et al.*, 2008).

En suero se observa la misma tendencia, la menor incidencia se detecta en Túnez (Karima *et al.*, 2010) con un 28% (LOQ 0,2 ng/ml) y la mayor incidencia se recoge en Dinis *et al.* (2007) con un 100% (LOQ: 0,05 ng/ml) y en Lino *et al.* (2008) con un 100% (LOQ: 0,1ng/ml).

En algunos estudios intentan establecer posibles diferencias en los niveles de OTA en sangre atendiendo a la región donde vivía la población objeto de análisis, a la estación el año en que se tomaron las muestras, así como diferencias atribuibles al sexo y la edad.

Relación genero/ contaminación por OTA de la sangre.

Muñoz *et al.* (2006) observaron que la media de los niveles de OTA en las mujeres era significativamente más alta que la de los hombres en la zona de San Vicente de Tagua. En el estudio de Lino *et al.* (2008) los niveles de OTA en dos poblaciones rurales Verride y Ereira de Portugal eran más altos en los hombres que en las mujeres.

Pacin *et al.* (2008) estudiaron las concentraciones de OTA en el ciudades de Mar del Plata y General Rodríguez de Argentina, encontrando diferencias significativas entre hombres y mujeres en General Rodríguez, siendo los hombres quienes tenían concentraciones más altas.

Di Giuseppe *et al.* (2011) detectaron diferencias significativas en la concentración OTA ajustada por edades en hombres y mujeres (0,271 ng/ml vs 0,194 ng/ml). Karima *et al.* (2010) en un estudio de Túnez observaron que los hombres tenían valores medios de OTA significativamente más altos

(0,77 n/ml) que las mujeres (0,24 ng/ml).

No obstante, existen estudios donde no se aprecian diferencias significativas entre el género y los niveles de esta micotoxina. Coronel *et al.* (2009) no observaron diferencias significativas en la concentración de OTA en plasma de mujeres y hombres. Medina *et al.* (2010) apreciaron que en los niveles de OTA en plasma no se encontraban diferencias significativas entre ambos sexos. Dinis *et al.* (2007) observaron que en Coímbra y en Aveiro no se aprecian diferencias significativas entre genero.

Por tanto, los datos sobre la relación de los niveles de OTA en sangre humana y el género participantes son contradictorios, si bien se observa que en algunos casos la población masculina presenta los valores más altos (Coronel *et al.*, 2010).

Relación edad/ contaminación por OTA de fluidos.

Solo unos pocos estudios han mostrado una relación entre la edad de la participantes y los niveles de OTA en sangre.

Lino *et al.* (2008) estudiaron tres poblaciones: la ciudad de Coímbra y las zonas rurales de Verride y Ereira, encontrando que las más altas concentraciones de OTA se detectaban en las personas mayores de 40 años de las dos zonas rurales estudiadas. Pacin *et al.* (2008) compararon cuatro grupos de edad (21-30, 31-40, 41-50, 51-60 años) de las ciudades argentinas de Mar del Plata y General Rodríguez, encontrando diferencias significativas entre todos grupos de edad de ambas ciudades. En Mar de la Plata se detectaron los mayores niveles en el grupo de 31-40 años y en General Rodríguez los valores más elevados se observaron en la población comprendida entre los 51 a los 61 años. Coronel *et al.* (2009) estudiaron tres grupos de edad (edades comprendidas entre 18 a 29, 30-44 y 45 años o más) y los

valores medios más altos se encontraron en el grupo de personas mayores de 45 años o más, detectando diferencias significativas entre los tres grupos de edad. Cuanto mayor era la edad de los participantes, mayores eran los niveles de OTA en el plasma.

Estos resultados no coinciden con los obtenidos por Medina *et al.* (2010) donde no se encontraron diferencias entre los grupos de edad. Tampoco con los del estudio de Erkekoglu *et al.* (2010) en Turquía donde se estudió las poblaciones de dos regiones (Mar Negro y Mediterráneo en invierno y verano) cuya edad estaba comprendida entre los 6 a los 80 años, dividiéndola en tres grupos: niños, adultos y edad avanzada. La mayor concentración de OTA se determinó en el verano en los niños que vivían en la región del Mar Negro (0,877 ng/ml). Los niveles de OTA en niños eran más altos que los encontrados en otros grupos de edad en verano, pero la diferencia no era estadísticamente significativa. En la región mediterránea, los niveles de OTA en las muestras de sangre recogidas de población de edad avanzada (0,405 ng/ml) en verano fueron más altos que la de otros grupos en el misma región. No hubo diferencias significativas entre los grupos de edad en el período de invierno.

Por tanto, la relación entre la edad de la población y los niveles de OTA no está clara y en aquellos estudios donde se observa, no coinciden los grupos de edad.

Relación entre localización geográfica/contaminación OTA.

En estos estudios se intentaba relacionar la localización geográfica con la presencia de OTA en sangre. En Chile, los niveles de OTA en plasma fueron estudiados en dos zonas agrícolas diferentes: Colbún y San Vicente de Tagua siendo en esta última significativamente mayores que los niveles encontrados en Colbún (Muñoz *et al.*, 2006). Lino *et al.* (2008) compararon los

niveles de OTA en suero de los habitantes de la ciudad de Coímbra y de dos aldeas agrícolas (Verride y Ereira). Las poblaciones rurales estaban más expuestas a esta micotoxina que las zonas urbanas y presentaban mayores concentraciones de OTA en sangre. Los niveles más altos se detectaron en la población rural de Verride. Estos datos podían estar relacionados con las diferencias climatológicas entre las zonas estudiadas. Verride y Ereira se encuentran situadas en el valle de Mondego donde el grado de humedad es mayor, factor que contribuye a la deficiente conservación de productos agrícolas; otra razón podría ser los diferentes hábitos de consumo: la mayor ingesta de bebidas alcohólicas y el consumo de comidas regionales pueden contribuir a esta situación.

Pacin *et al.* (2008) observaron diferencias significativas entre dos ciudades de Argentina atribuibles a diversos factores, uno de ellos es el diferente periodo en que se obtuvieron las muestras y otro factor podría ser las diferencias poblacionales entre General Rodríguez (media: 0,24 ng/ml) que presenta un nivel socioeconómico más bajo que las de Mar del Plata (media: 0,11 ng/ml), diferencia que podría implicar la ingesta de alimentos de menor calidad. Karima *et al.* (2010) observaron también diferencias entre la incidencia y concentración de OTA en el suero entre regiones de Túnez, detectando los más altos valores de OTA en el área de Sahal.

Sin embargo, Dinis *et al.* (2007) no encontraron diferencias entre los niveles de OTA en pacientes con nefropatía de Coímbra con los de Aveiro. Erkekoglu *et al.* (2010) no observaron diferencias significativas en los niveles de OTA en suero entre las dos regiones estudiadas de Turquía. Pero la frecuencia de las muestras con concentraciones superiores a 1 ng OTA/ml fue del 12% en la región del Mar Negro y el 5% en el Mediterráneo.

Por tanto, se ha observado que la distribución de OTA en sangre varía entre

regiones dentro de un país, influyendo en estas variaciones factores como los hábitos dietéticos y el clima de cada región.

Relación variaciones estacionales/ contaminación por OTA.

Existen estudios que relacionan las concentraciones de OTA con las variaciones estacionales. Erkekoglu *et al.* (2010) observaron valores más altos de OTA en las muestras de suero recogidas durante el verano, existiendo diferencias significativas entre estas muestras y las tomadas en invierno, diferencias que podrían estar relacionadas con las condiciones particulares del clima y las variaciones estacionales de los hábitos alimentarios.

En estos estudios la mayoría de los donantes son personas sanas que no son representativas del total de la población. Algunos de estos trabajos estudia pacientes con problemas renales, observando que sus niveles de OTA en plasma fueron mayores.

Zaied *et al.* (2011) midieron los niveles séricos de OTA en varios grupos de pacientes que tenían diferentes enfermedades renales. En el grupo sano, el 49% de los individuos mostraron concentraciones de OTA comprendidas entre 1,7 y 8,5 ng/ml y un valor medio de 3,3 ng/ml, sin embargo, entre los pacientes con nefropatías, en el grupo con nefropatía intersticial crónica con etiología desconocida CIN se detectó la de mayor incidencia (76%), con valores que oscilaban entre 1,8 hasta 65 ng/ml y con una media 18 ng/ml, confirmando la relación entre los niveles de OTA en sangre y el desarrollo de la patología renal. Por el contrario, en el estudio de Dinis *et al.* (2007) los niveles de OTA en suero de los paciente estudiados sometidos a diálisis fue similar a los que se detectó en una anterior estudio en donantes sanos.

Estimación de la ingesta OTA.

En estos estudios se estima la ingesta de OTA por medio de los niveles

de la micotoxina en plasma y suero utilizando la ecuación propuesta Klaassen (1986).

$$K_0 = CL_p \times C_p / A$$

Siendo:

K_0 : ingesta de OTA (ng/Kg p.c./día).

CL_p : aclaramiento plasmático (ml/kg de p.c./día).

C_p : concentración plasmática de la OTA (ng/ml).

A: biodisponibilidad de la OTA.

La mayoría de autores asumen una biodisponibilidad de alrededor de un 50% y los valores del aclaramiento plasmático varía según la fuente utilizada. En la Tabla 64 se recoge datos de ingesta a partir de concentraciones en sangre.

Tal como se refleja en la Tabla 64 los valores obtenidos en la estimación de la ingesta media de OTA son notablemente inferiores a la ingesta diaria tolerable establecida por la EFSA (2006): 17,2 ng/kg p.c./día.

En algunos estudios también se estima la ingesta diaria de OTA basándose en los datos de consumo de alimentos obtenidos por medio de cuestionarios y combinados con los valores de la contaminación de alimentos recogidos en la literatura, intentando buscar la relación entre el consumo de determinados alimentos y los niveles de OTA en sangre.

Coronel *et al.* (2009) detectaron diferencias significativas entre la ingesta de OTA basada en el consumo de alimentos y la estimada en base a concentraciones plasmáticas (no existía correlación entre consumo de alimentos potencialmente contaminados por OTA y niveles de OTA en sangre). La media de ingesta estimada a partir de los datos de alimentos (1,96 ng/Kg p.c./día) fue mayor que la calcula a partir de plasma. Medina *et al.* (2010) no

observaron correlación entre los niveles plasmáticos de la OTA y el consumo individual de 26 grupos de alimenticios potencialmente contaminados por esta micotoxina. Di Giuseppe *et al.* (2011) observaron que los coeficientes de correlación entre consumo de alimentos y niveles plasmáticos de OTA eran débiles, si bien la carne procesada y el cordero eran los ítems que más contribuían a la variación de OTA en plasma. El consumo de cereales, vino, cerveza, mermelada y miel se correlacionaron positivamente con los niveles de OTA en sangre.

Tabla 64. Ingesta de OTA a partir de datos de OTA en sangre

Referencia	País	Líquido biológico	ID (OTA plasma) (ng/kg p.c/día)
Coronel <i>et al.</i> (2009)	España	Plasma	1,69 a
Medina <i>et al.</i> (2010)	España	Plasma	2,16 a 1,47 b
Di Giuseppe <i>et al.</i> (2011)	Italia	Plasma	0,45 a
Muñoz <i>et al.</i> (2006)	Chile Colbún San Vicente Tagua	Plasma	0,84 a 1,40 a
Pacin <i>et al.</i> (2008)	Argentina Mar del Plata General Rodríguez	Plasma	0,15b 0,32b
Lino <i>et al.</i> (2008)	Portugal Coímbra Ereira Verride	Suero	0,56 b 0,59 b 1,05 b
Dinis <i>et al.</i> (2007)	Portugal Coímbra Aveiro	Suero pacientes	n.i. 0,67 b 0,65 b
Biasucci <i>et al.</i> (2011)	Italia	Suero cordón umbilical	0,98 a
Erkekoglu <i>et al.</i> (2010)	Turquía	Suero	0,182b invierno 0,408b verano
Zaied <i>et al.</i> (2011)	Túnez	Suero	4,42b donantes 26b pacientes CIN

a: ecuación de Klassen con valores de A: 50% y aclaramiento renal 0,99ml/kg, $K_0 = 0,99 \times C_p / 0,50 = 1,97 \times C_p$; b: ecuación de Breitholtz: con valores de A: 50% y aclaramiento renal 0,67ml/kg, $K_0 = 0,67 \times C_p / 0,50 = 1,34 \times C_p$. ID: Ingesta diaria.

Muñoz *et al.* (2006) pusieron de manifiesto que la correlación entre niveles plasmáticos de OTA y el consumo de alimentos no era significativa, con excepción del consumo de cereales en hombres en Colbún y el consumo de pollo en San Vicente de Tagua donde se detectaba una ligera relación. Biasucci *et al.* (2011) observaron una correlación significativa entre el nivel de OTA en el suero e ingesta de carne de cerdo, refrescos, los dulces y el vino tinto. A diferencia de anteriores estudios los cereales no mostraban correlación con la presencia de OTA en sangre. Zaied *et al.* (2011) consideraron que los altos niveles de contaminación en los alimentos de Túnez (Zaied *et al.*, 2009) estaban relacionados con los altos niveles de OTA en sangre en este país. Erkekoglu *et al.* (2010) detectaron diferencias significativas entre la ingesta de OTA estimada en invierno y en verano.

En general los estudios coinciden en que la correlación entre los niveles plasmáticos de OTA y la ingesta estimada es muy débil o no existe, si bien algunos autores relacionan el consumo de determinados alimentos con los niveles sanguíneos de la OTA.

3.3.3. Contenido de OTA en leche materna

La lactancia materna es muy importante en el primer año de vida de los bebés. Sin embargo, la leche materna puede estar contaminada por OTA. El contenido de OTA en la leche materna es aproximadamente una décima parte o menor que el contenido de esta micotoxina en la sangre humana y la concentración de OTA en el suero fetal es el doble que el nivel de la madre (Gürbay *et al.*, 2010). Si la madre está expuesta a altas concentraciones de OTA, cabe esperar altos niveles de OTA en la leche materna.

En la Tabla 65 se recoge estudios de contaminación de leche materna por OTA.

Tabla 65. Incidencia (%), concentración media y rango de OTA (ng/ml) en leche materna

País/referencia	Incidencia (%)	Media (ng/l)	Rango (ng/l)
Italia (Galvano <i>et al.</i> , 2008)	74	0,03	<0,005-0,405
Italia (Biasucci <i>et al.</i> , 2011)	79	0,01*	0,011->0,10
Egipto (Hassan <i>et al.</i> , 2006)	72	1,89	n.i.
Slovenia (Dostal <i>et al.</i> , 2008)	30	n.i.	0,002-0,06
Turquía (Gürbay <i>et al.</i> , 2010)	100	n.i.	0,620-13,1

*sólo las positivas, n.i.: no indicado

Galvano *et al.* (2008) en Italia analizaron OTA en 82 muestras de leche materna, detectándose diferencias en los niveles de OTA atendiendo a los hábitos de consumo y de bebida. Los niveles de OTA fueron significativamente mayores en la leche materna de las consumidoras habituales de productos de pan, de panadería y la carne de cerdo curada. No existían diferencias estadísticamente significativas entre las consumidoras habituales de pasta, galletas y zumos (aunque los valores medios de contaminación de OTA eran más altos) y las consumidoras moderadas. Biasucci *et al.* (2011) no observaron correlación entre niveles de OTA en suero y leche materna, no obstante, cuando consideraban solo las muestras positivas de leche, se detectaba una correlación lineal entre niveles de OTA en suero y el cociente entre OTA suero / OTA leche. Los dulces, el aceite de semillas y los refrescos mostraban un correlación significativa con los niveles de OTA en leche materna y el consumo de pescado estaba inversamente relacionado con los

niveles de OTA en leche. Hassan *et al.* (2006) en Egipto observaron que el 72% de las madres y todos sus bebés amamantados habían sido contaminados con OTA. Los niveles medios detectados en madres en suero eran de 4,28 ng/ml y en la leche eran de 1,89 ng/ml. En los lactantes los niveles medios en suero detectados eran de 1,26 ng/ml. Los análisis mostraron que había una correlación significativa entre presencia de OTA en el suero de los lactantes y microalbuminuria en orina. Dostal *et al.* (2008) en Eslovenia estudiaron la presencia de OTA en leche materna, determinando que el valor de la IDT para un bebé de 4 kg que ingiere 630 ml de leche materna, era de 20 ng/4kg de p.c. Gürbay *et al.* (2010) analizaron la leche materna de madres de Turquía, siendo los valores detectados en este estudio los más elevados, hecho que indica la alta exposición de las madres a la OTA y el peligro potencial que representa esta micotoxina a los recién nacidos.

Galvano *et al.* (2008) sugieren en su trabajo que los buenos hábitos alimenticios en general, como puede ser la dieta mediterránea, se encuentran entre los factores que pueden contribuir a la reducción de la ingesta de OTA.

Por lo tanto debido a la gran susceptibilidad de los recién nacidos, se deben considerar seriamente estrategias de reducción de la ingesta dietética de estas toxinas y proceder a la vigilancia de los niveles de OTA en la leche materna y sus efectos nocivos.

3.4. Estimación de la ingesta diaria de OTA en población española

El cálculo de la IDE de OTA en la población española se ha realizado a partir de los valores mínimos y máximos de OTA encontrados en los diferentes estudios nacionales y los valores de consumo recogidos en la ENIDE (AESAN, 2011a) para una persona de 60 kg. La IDE se recoge en la Tabla 66.

3. Resultados y discusión

Tabla 66. Estimación de la IDE de OTA por consumo de diferentes alimentos

Producto	Valor mínimo-máximo OTA (ng/g)	Consumo (g/persona/día)	IDE OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Arroz ₁	4,3-27,3	15,22	1,1-6,9	6,3- 40,12 (2,34 x IDT)
Otros cereales ₂	6,8-27,1	0,52	0,06-0,23	0,34-1,37
Cereales desayuno ₃	0,06-1,2	5,53	0,06-0,11	0,033-0,64
Pan blanco ₄	0,04-19,6	77,14	0,05-25,2	0,3- 146,5 (8,5 x IDT)
Cerveza ₅	0,007-0,147	99,21	0,01-0,24	0,06-1,413
Vino mesa ₆	0,004-0,179	35,90	0,002-0,11	0,011-0,62
Vino dulce ₇	27,79	0,37	0,17	0,99
Pimentón dulce ₈	0,1-281	0,04	0,0001-0,18	0,004-1,09
Café tostado ₉	1,21-4,21	56,95	1,15-3,99	0,023-23,3 (1,4 x IDT)
Cacao en polvo ₁₀	0,55-1,82	2,70	0,02-0,08	0,1-0,4
Higos desecados ₁₁	0,1-277	0,48	0,001-2,2	0,006-12,9
Uvas pasas ₁₂	0,3-100	0,24	0,0012-0,4	0,007-2,3
Pistachos ₁₃	11-203	0,29	0,05-0,98	0,3-5,7
Nueces ₁₄	0,04-0,23	1,15	0,001-0,004	0,006-0,025
Almendras ₁₅	11-266	0,78	0,14-3,5	0,8-20,1
Cacahuetes ₁₆	15-160	0,44	0,1-1,2	0,6-6,9
Albaricoques ₁₇	2,83	0,04	0,002	0,01
Ciruelas ₁₈	0,22-2,62	0,04	0,001-0,002	0,001-0,1
Castañas ₁₉	0,47-65,84	0,23	0,002-0,3	0,01-1,5
Zumo de uva ₂₀	0,59-2,57	0,08	0,001-0,003	0,001-0,02

Tabla 66. Estimación de la IDE de OTA por consumo de diferentes alimentos

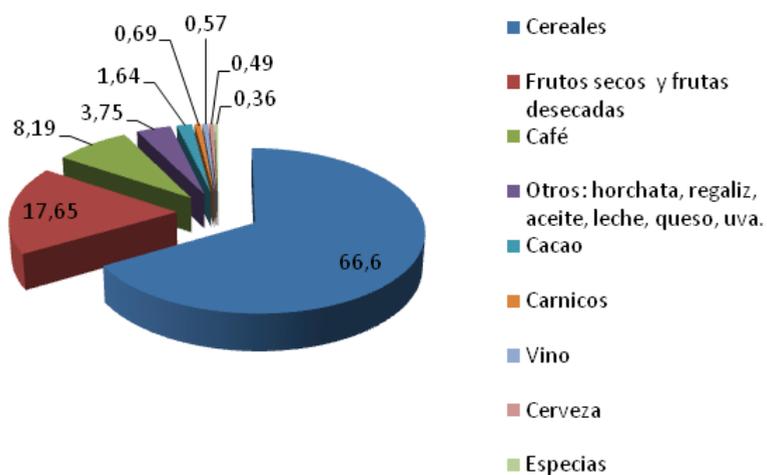
Producto	Valor mínimo-máximo OTA (ng/g)	Consumo (g/persona/día)	IDE OTA (ng/Kg p.c./día)	% IDT (17,2 ng/Kg p.c./día)
Uva ₂₁	0,53-2,69	2,32	0,02-0,1	0,12-0,58
Horchata ₂₂	2-2,4	0,96	0,03-0,04	0,17-0,22
Regaliz ₂₃	1,8-12	0,69 golosinas	0,02-0,14	0,12-0,8
Aceitunas ₂₄	1,18-1,86	3,48	0,07-0,11	0,04-0,63
Aceite ₂₅	0,1-2,47	23,3	0,04-0,96	0,23-5,6
Leche ₂₆	0,07-0,11	191,48	0,2-0,35	1,3-2,04
Queso ₂₇	0,2-3	2,56	0,01-0,13	0,06-0,7
Salami ₂₈	0,06-0,4	3,28	0,004-0,02	0,02-0,13
Jamón curado ₂₉	0,28-1,52	12,40	0,06-0,32	0,35-1,86

1: González *et al.* (2006), 2: Juan *et al.* (2008a), 3: Ibáñez-Vea *et al.* (2011), 4: González-Osnaya *et al.* (2007), 5: Medina *et al.* (2005), 6: Quintela *et al.* (2011), 7: Valero *et al.* (2008) 8: Santos *et al.* (2010), 9: Coronel *et al.* (2011), 10: Brera *et al.* (2011), 11: Pavon *et al.* (2012), 12: Askoy *et al.* (2007), 13. Zaied *et al.* (2010), 14: Zinedine *et al.* (2007c) ,15: Zaied *et al.* (2010), 16: Zaied *et al.* (2010), 17: Fakoor Janati *et al.* (2012), 18: Fakoor Janati *et al.* (2012), 19: Pietri *et al.* (2012), 20: Lasram *et al.* (2007), 21: Meletis *et al.* (2007), 22: Rubert *et al.* (2011a), 23: Herrera *et al.* (2009), 24: Ghitakou *et al.* (2006), 25: Ferracane *et al.* (2007), 26: Pattono *et al.* (2011), 27: Dall'Asta *et al.* (2008), 28. Monaci *et al.* (2005), 29: Toscani *et al.* (2007).

Se observa que, según los datos recogidos en la Tabla 66, las principales fuentes de exposición de OTA son el pan y el arroz. El café también es una posible fuente de exposición a esta micotoxina.

Si se agrupan los valores máximos de la IDEs por tipo de alimento se confirma que tal como se refleja en la Figura 13, la fuente de exposición más importante proviene de los cereales (66%) seguida de la de los frutos secos y frutas desecadas que incluye las uvas pasas.

Figura 13. Porcentajes de contribución de cada grupo de alimentos a la exposición global de OTA



4. CONCLUSIONES

Conclusiones

Primera.- La fuente de exposición más importante para ocratoxina A son los cereales, los frutos secos, frutas desecadas y café.

Segunda.- El trigo es el cereal más comúnmente contaminado por OTA y el sorgo es el que presenta niveles de contaminación más altos. La contaminación por OTA es mayor en los cereales ricos en fibra.

Tercera.- En el pan la contaminación por OTA varía en función del cereal utilizado como materia prima, si bien el pan de maíz suele presentar una mayor contaminación que el de trigo.

Cuarta.- Los frutos secos y las frutas desecadas pueden ser una fuente adicional de OTA. En uvas pasas el porcentaje de muestras que superan los límites legislados es bajo, pero aunque la ingesta de las pasas es ocasional, constituyen una fuente de OTA por su consumo directo o a través de la ingesta de otros alimentos que las contienen, en ciertos grupos de población.

Quinta.- La OTA es la principal micotoxina encontrada en el café. El café verde es una de las materias primas más susceptibles de contaminación por OTA alcanzando el 98% de muestras contaminadas. Los niveles y el grado de contaminación son similares en el café verde y procesado.

Sexta.- La cerveza no constituye un factor importante para la exposición de OTA en la población, si bien es una fuente adicional que es necesario tener en cuenta y controlar.

Séptima.- La gran variedad de vinos existentes y los diferentes métodos de análisis utilizados en la determinación de la OTA hacen difícil unificar resultados. Si bien, se observa mayor contenido de OTA en el vino tinto, siendo siempre menor al valor legislado.

Octava.- Las muestras de especias contaminadas por OTA son muy diversas, pero se encuentra principalmente en el pimentón dulce y la pimienta negra.

Novena.- La OTA es la principal micotoxina presente en el cacao, no obstante son pocas las muestras que superan el valor recomendado.

Décima.- Ocasionalmente el regaliz y sus derivados presentan un elevado contenido de OTA.

Onceava.- Los niveles de OTA detectados en las aceitunas y en el aceite son bajos, pero pueden contribuir a la ingesta diaria de OTA dado que son alimentos importantes dentro de la dieta mediterránea.

Doceava.- La ingesta de OTA por el consumo de productos de origen animal es limitada frente a otras fuentes, como los cereales, no obstante, debe recomendarse su control en piensos, dado que son una fuente indirecta de OTA para los humanos a través del consumo de alimentos de origen animal.

Decimotercera.- Los resultados, en general, reflejan altas frecuencias de contaminación de la sangre humana por OTA. La población rural está más expuestas que la población urbana y presenta mayor concentración en sangre.

Decimocuarta.- La dieta mediterránea supone un riesgo de exposición a OTA si se considera el consumo de cereales, cerveza, vino, café, pasas, aceite y aceitunas entre otros alimentos, porque además de estimar la exposición a OTA, debería tenerse en cuenta las interacciones con otras micotoxinas presentes en los alimentos, con objeto de realizar una mejor evaluación del riesgo de exposición a micotoxinas.

5. BIBLIOGRAFÍA

Referencias

AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición) (2011a). Encuesta nacional de ingesta dietética española. (ENIDE). Disponible: http://www.aesan.msc.es/AESAN/docs/docs/evaluacion_riesgos/datos_consumo/ENIDE.pdf

AESAN (2011b). Informe resumen estudio sobre presencia de ocratoxina A en pimentón.

Akdemir, C., Ulker, O. C., Basaran, A., Ozkaya, S., & Karakaya, A. (2010). Estimation of ochratoxin A in some Turkish populations: An analysis in urine as a simple, sensitive and reliable biomarker. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 877-882.

Aksoy, U., Eltem R., Meyvaci, K.B., Altindisli, A., & Karabat, S. (2007). Five-year survey of ochratoxin A in processed sultanas from turkey. *Food Additives and Contaminants*, 24(3), 292-296.

Almela, L., Rabe, V., Sanchez, B., Torrella, F., López-Pérez, J. P., Gabaldon, J. A., *et al.* (2007). Ochratoxin A in red paprika: Relationship with the origin of the raw material. *Food Microbiology*, 24(4), 319-327.

Alvito, P. C., Sizoo, E. A., Almeida, C M. M., & Van Egmond H. P. (2010). Occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in baby foods in Portugal. *Food Analytical Methods*, 3(1), 22–30.

Amezqueta, S., González-Peñas, E., Murillo, M., & López de Cerain, A. (2005). Occurrence of ochratoxin A in cocoa beans: Effect of shelling. *Food Additives and Contaminants*, 22(6), 590-596.

Amezqueta, S., González-Penas, E., Dachoupankan, C., Murillo-Arbizu, M., López de Cerain, A., & Guiraud, J. P. (2008). OTA-producing fungi isolat-

ed from stored cocoa beans. *Letters in Applied Microbiology*, 47(3), 197-201.

Amezqueta, S., González-Peñas, E., Murillo-Arbizu, M., & López de Cerain, A. (2009). Ochratoxin A decontamination: A review. *Food Control*, 20(4), 326-333.

Amezqueta, S., Schorr-Galindo, S., Murillo-Arbizu, M., González-Peñas, E., López de Cerain, A., & Guiraud, J. P. (2012). OTA-producing fungi in foodstuffs: A review. *Food Control*, 26(2), 259-268.

Araguas, C., González-Penas, E., & López de Cerain, A. L. (2005). Study on ochratoxin A in cereal-derived products from Spain. *Food Chemistry*, 92(3), 459-464.

Aresta, A., Vatinno, R., Palmisano, F., & Zambonin, C. G. (2006). Determination of ochratoxin A in wine at sub ng/ml levels by solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1115(1-2), 196-201.

Ariño, A., Herrera, M., Estopañan, G. & Juan, T. (2007). High levels of ochratoxin A in licorice and derived products. *International Journal of Food Microbiology*, 114(3), 366-369.

Arroyo-Manzanares, N., Gamiz-Gracia, L., Garcia-Campana, A. M., Soto-Chinchilla, J. J., & Garcia-Ayuso, L. E. (2010). On-line preconcentration for the determination of aflatoxins in rice samples by micellar electrokinetic capillary chromatography with laser-induced fluorescence detection. *Electrophoresis*, 31(13), 2180-2185.

Ayalew, A., Fehrmann, H., Lepschy, J., Beck, R., & Abate, D. (2006). Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. *Mycopathologia*, 162(1), 57-63.

Aziz, N. H., Moussa, L. A. A., & Far, F. M. E. (2004). Reduction of fungi and mycotoxins formation in seeds by gamma-radiation. *Journal of Food Safety*, 24(2), 109-127.

Bacaloni, A., Cavaliere, C., Faberi, A., Pastorini, E., Samperi, R., & Lagana, A. (2005). Automated on-line solid-phase extraction-liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry method for the determination of ochratoxin A in wine and beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(14), 5518-5525.

Bansal, J., Pantazopoulos, P., Tam, J., Cavlovic, P., Kwong, K., Turcotte, A.M., *et al.* (2011). Surveys of rice sold in Canada for aflatoxins, ochratoxin A and fumonisins. *Food Additives & Contaminants: Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 28(6), 767-774.

Bascarán, V., de Rojas, A. H., Chouciño, P., & Delgado, T. (2007). Analysis of ochratoxin A in milk after direct immunoaffinity column clean-up by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1167(1), 95-101.

Batista, L.R., Chalfoun, S.M., Silva, C.F., Cirillo, M., Varga, E. A., & Schwan, R. F. (2009). Ochratoxin A in coffee beans (*coffea arabica L.*) processed by dry and wet methods. *Food Control*, 20(9), 784-790.

Battilani, P., Magan, N., & Logrieco, A. (2006). European research on ochratoxin A in grapes and wine. *International Journal of Food Microbiology*, 111(1), S2-S4.

Bayman, P. & Baker, J.L. (2006). Ochratoxins: A global perspective. *Mycopathologia*, 162(3), 215–223.

Beg, M., Al-Mutairi, M., Beg, K.R., Al-Mazeedi, H.M., Ali, L.N., & Saeed, T. (2006). Mycotoxins in poultry feed in kuwait. *Archives of Environmental*

Contamination and Toxicology, 50(4), 594-602.

Bêlakova, S., Benesova, K., Mikulikova, R., & Svoboda, Z. (2011). Determination of ochratoxin A in brewing materials and beer by ultra performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Food Chemistry*, 126(1), 321-325.

Bennet, J.W. & Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology*, 16(3), 497-516.

Bento, J. M. V., Pena, A., Lino, C. M., & Pereira, J. A. (2009). Determination of ochratoxin A content in wheat bread samples collected from the Algarve and Bragança regions, Portugal: Winter 2007. *Microchemical Journal*, 91(2), 165-169.

Berente, B., Moricz, A., H-Otta, K., Zaray, G., Leko, L., & Racz, L. (2005). Determination of ochratoxin A in Hungarian wines. *Microchemical Journal*, 79(1-2), 103-107.

Berthiller, F., Sulyok, M., Krska, R., & Schuhmacher, R. (2007). Chromatographic methods for the simultaneous determination of mycotoxins and their conjugates in cereals. *International Journal of Food Microbiology*, 119(1-2), 33-37.

Bertuzzi, T., Rastelli, S., Mulazzi, A., Donadini, G., & Pietri, A. (2011). Mycotoxin occurrence in beer produced in several European countries. *Food Control*, 22(12), 2059-2064.

Biasucci, G., Calabrese, G., Di Giuseppe, R., Carrara, G., Colombo, F., Mandelli, *et al.* (2011). The presence of ochratoxin A in cord serum and in human milk and its correspondence with maternal dietary habits. *European Journal of Nutrition*, 50(3), 211-218.

Bircan, C. (2009). Incidence of ochratoxin A in dried fruits and co-occurrence with aflatoxins in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 1996-2001.

Blesa, J., Soriano, J. M., Molto, J. C., & Manes, J. (2004). Absence ochratoxin A in soy sauce. *International Journal of Food Microbiology*, 97(2), 221-225.

Brera, C., Soriano, J. M., Debegnach, F., & Miraglia, M. (2005). Exposure assessment to ochratoxin A from the consumption of Italian and Hungarian wines. *Microchemical Journal*, 79(1-2), 109-113.

Brera, C., Debegnach, F., Minardi, V., Prantera, E., Pannunzi, E., Faleo, S., *et al.* (2008). Ochratoxin A contamination in Italian wine samples and evaluation of the exposure in the Italian population. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10611-10618.

Brera, C., Debegnach, F., De Santis, B., Iafrate, E., Pannunzi, E., Berdini, C., *et al.* (2011). Ochratoxin A in cocoa and chocolate products from the Italian market: Occurrence and exposure assessment. *Food Control*, 22(10), 1663-1667.

Bryden, W. L. (2007) Mycotoxins in the food chain: Human health implications. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 16(1), 95-101.

Burdaspal, P., & Legarda, T. (2007). Occurrence of ochratoxin A in sweet wines produced in Spain and other countries. *Food Additives and Contaminants*, 24(9), 976-986.

Burger, H., Lombard, M. J., Shephard, G. S., Rheeder, J. R., van der Westhuizen, L., & Gelderblom, W. C. A. (2010). Dietary fumonisin exposure in a rural population of South Africa. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), 2103-2108.

Cairns, V., Hope, R., & Magan, N. (2003). Environmental factors and competing microflora affect growth and ochratoxin production by *Penicillium verucosum* on wheat grain. *Aspects Applied Biology*, 68, 81-90.

Carpone, L., Piccinelli, A. L., Aliberti, L., & Rastrelli, L. (2009). Application of pressurized liquid extraction in the analysis of aflatoxins B-1, B-2, G (1) and G(2) in nuts. *Journal of Separation Science*, 32(21), 3837-3844.

Castellanos-Onorio, O., González-Rios, O., Guyot, B., Fontana, T. A., Guiraud, J. P., Schorr-Galindo, S., *et al.* (2011). Effect of two different roasting techniques on the ochratoxin A (OTA) reduction in coffee beans (*coffea arabica*). *Food Control*, 22(8), 1184-1188.

Castillo, M.A., Montes, R., Navarro, A., Segarra, R., Cuesta, G. & Hernandez, E. (2008). Occurrence of deoxynivalenol and nivalenol in Spanish corn-based food products. *Journal of Food Composition and Analysis* 21(5), 423-427.

Chiodini, A. M., Scherpenisse, P., & Bergwerff, A. A. (2006). Ochratoxin A contents in wine: Comparison of organically and conventionally produced products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(19), 7399-7404.

Chiotta, M. L., Ponsone, M. L., Combina, M., Torres, A. M., & Chulze, S. N. (2009). *Aspergillus* section *nigri* species isolated from different wine-grape growing regions in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 136(1), 137-141.

Chulze, S. N., Magnoli, C. E., & Dalcerro, A. M. (2006). Occurrence of ochratoxin A in wine and ochratoxigenic mycoflora in grapes and dried vine fruits in South America. *International Journal of Food Microbiology*, 111(1), S5-S9.

Chung, St. W., Kwong, K. P., Tang, A., S.P. & Yeung, S., T.K. (2009).

Ochratoxin A levels in foodstuffs marketed in Hong Kong. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7-8), 756-761.

C.C.E. (2006a) Comisión de las Comunidades Europeas. Recomendación 2006/576/EC on the presence of deoxynivalenol, zearalenone, ochratoxin A, T-2 and HT-2 and fumonisins in products intended for animal feeding. off. Official Journal of the European Union. 2006; L229-7-L229/9.

C.C.E. (2006b) Comisión de las Comunidades Europeas. 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. (DOCE 2006/583/CE).

C.E. (1999). Reglamento (CE) nº 1493/1999 del Consejo, de 17 de mayo de 1999, por el que se establece la organización común del mercado vitivinícola (DOCE L179, 14.07.1999).

C.E. (2002). Assessment of dietary intake of ochratoxin A by the population of EU member states, reports on tasks for scientific cooperation, task 3.2.7., publisher: SCOOP Directorate-General Health and Consumer Protection.

C.E. (2010) The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF) Annual Report 2010. Health and Consumer Protection Directorate-General, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.

Circolare (2003) del 28 novembre 2003, nº 6. Valori massimi ammissibili di ocratossina A nel cacao. Gazzetta Ufficiale Della Repubblica Italiana N, 286, 48, del 10.

Copetti, M. V., Pereira, J. L., Iamanaka, B. T., Pitt, J. I. & Taniwaki, M. H. (2010). Ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in cocoa during farm processing. *International Journal of Food Microbiology*, 143(1-2), 67-70.

Copetti, M. V., Iamanaka, B. T., Frisvad, J. C., Pereira, J. L. & Taniwaki, M. H. (2011) Mycobiota of cocoa: From farm to chocolate. *Food Microbiology* 28(8), 1499-1504

Copetti, M. V., Iamanaka, B.T., Pereira, J. L., Lemes, D. P., Nakano, F. & Taniwaki, Ma. H. (2012). Co-occurrence of ochratoxin A and aflatoxins in chocolate marketed in Brazil. *Food Control*, 26(1), 36-41.

Coronel, M. B., Sanchis, V., Ramos, A. J., & Marin, S. (2009). Assessment of the exposure to ochratoxin A in the province of Lleida, Spain. *Food and Chemical Toxicology*, 47(11), 2847-2852.

Coronel, M.B., Sanchis, V., Ramos, A.J. & Marin S. (2010). Review. Ochra-toxin A: Presence in human plasma and intake estimati3n. *Food Science and Technology International*, 16(1), 5-18.

Coronel, M. B., Marin, S., Cano, G., Ramos, A. J., & Sanchis, V. (2011). Ochratoxin A in Spanish retail ground roasted coffee: Occurrence and as-sessment of the exposure in Catalonia. *Food Control*, 22(3-4), 414-419.

Covarelli, L., Beccari, G., Marini, A., & Tosi, L. (2012). A review on the occurrence and control of ochratoxigenic fungal species and ochratoxin A in dehydrated grapes, non-fortified dessert wines and dried vine fruit in the mediterranean area. *Food Control*, 26(2), 347-356.

D'Arco, G., Fern3ndez-Franz3n, M., Font, G., Damiani, P., & Mañes, J. (2008). Analysis of fumonisins B1, B2 and B3 in corn-based baby food by pressurized liquid extraction and liquid chromatography/tandem mass spec-trometry. *Journal of Chromatography A*, 1209(1-2), 188-194.

Dalie, D.K.D., Deschamps, A.M., & Richard-Forget F. (2010). Lactic acid bacteria – potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21(4), 370–380.

Dall'Asta, C., De Dea Lindner, J., Galaverna, G., Dossena, A., Neviani, E., & Marchelli, R. (2008). The occurrence of ochratoxin A in blue cheese. *Food Chemistry*, 106(2), 729-734.

Dall'Asta, C., Galaverna, G., Bertuzzi, T., Moseriti, A., Pietri, A., Dossena, A., *et al.* (2010). Occurrence of ochratoxin A in raw ham muscle, salami and dry-cured ham from pigs fed with contaminated diet. *Food Chemistry*, 120(4), 978-983.

de Almeida, A. P., Alaburda, J., Shundo, L., Ruvieri, V., Navas, S. A., Larmardo, L. C. A., *et al.* (2007). Ochratoxin A in Brazilian instant coffee. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 300-303.

de Magalhães, J. T., Sodré, G. A., Viscogliosi, H., & Grenier-Loustalot, M. (2011). Occurrence of ochratoxin A in Brazilian cocoa beans. *Food Control*, 22(5), 744-748.

De Smet, D., Monbaliu, S., Dubruel, P., Van Peteghem, C., Schacht, E., & De Saeger, S. (2010). Synthesis and application of a T-2 toxin imprinted polymer. *Journal of Chromatography A*, 1217(17), 2879-2886.

di Giuseppe, R., Bertuzzi, T., Rossi, F., Rastelli, S., Mulazzi, A., Capraro, J., *et al.* (2011). Plasma ochratoxin A levels, food consumption, and risk biomarkers of a representative sample of men and women from the molise region in Italy. *European Journal of Nutrition*, 51(7), 851-860.

Dinis, A. M. P., Lino, C. M., & Pena, A. S. (2007). Ochratoxin A in nephropathic patients from two cities of central zone in Portugal. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 44(2), 553-557.

Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 7 de mayo de 2002, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal (DOCE L140/10).

Directiva 93/67/CEE de la Comisión, de 20 de julio de 1993, por la que se fijan los principios de evaluación del riesgo, para el ser humano y el medio ambiente, de las sustancias notificadas de acuerdo con la directiva 67/548/CEE del consejo (DOCE L 227 de 08/09/1993 P. 0009 – 0018).

Dongo, L., Bandyopadhyaya, R., Kumar M., & Ojiambo, P.S., (2008). Occurrence of ochratoxin A in Nigerian ready for sale cocoa beans. *Agricultural Journal*, 3(1), 4-9.

Dostal, A., Jakusova, L., Cajdova, J. & Hudeckova, H. (2008) Results of the first studies of occurrence of ochratoxin A in human milk in Slovakia. *Bratisl Lek Listy* 109(6), 276- 278.

Duarte, S. C., Bento, J.M.V., Pena, A., & Lino, C.M. (2009). Estimation of ochratoxin A exposure of Lisbon inhabitants through analysis of bread and urine in winter 2007/2008. *Food Additives and Contaminants*, 29(10), 1411-1420.

Duarte, S. C., Tanello, A., Pena, A., Lino, C. M., Matos, C. D. & Oliveira, M. B. P. P., *et al.* (2010). Evaluation of ochratoxin A exposure degree in two Portuguese cities through wheat and maize bread consumption during the winter 2007. *Food Control*, 21(5), 702-707.

Duarte, S.C., Lino C.M., & Pena A. (2011a). Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products, review. *The Veterinary Journal*, 192(3) 286-292.

Duarte, S. C., Lino, C. M., & Pena, A. (2011b). Ochratoxin A in feed of food-producing animals: An undesirable mycotoxin with health and performance effects. *Veterinary Microbiology*, 154(1-2), 1-13.

Duris, D., Mburu, J. K., Durand, N., Clarke, R., Frank, J. M., & Guyot, B. (2010). Ochratoxin A contamination of coffee batches from Kenya in relation

to cultivation methods and post-harvest processing treatments. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 27(6), 836-841.

EFSA (2006) Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the food chain on a request from the Commission related to ochratoxin A in food (EFSA-Q-2005-154).

EFSA (2009). Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: Mode of action, efficacy and feed/food safety. *External Scientific Report submitted to EFSA*. (CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01)

EFSA (2010a). Guidance document for competent authorities for the control of compliance with EU legislation on aflatoxins.

EFSA (2010b): Scientific/Technical report: Occurrence data of trichothecene mycotoxins T-2 toxin and HT-2 toxin in food and feed in Europe, 1-43. (Q-2010-0949).

El Adlouni, C., Tozlovanu, M., Naman, F., Faid, M., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2005). Preliminary data on the presence of mycotoxins (ochratoxin A, citrinin and aflatoxin B1) in black table olives "greek style" of Moroccan origin conference: Euro-maghrebin symposium on biological chemical contaminants and food safety location: Fez, Morocco. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(6), 507–512.

Elika (2005). Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Que es la evaluación del riesgo? Disponible en:<http://www.elika.net/datos/articulos/Archivo139/13>. Evaluación del riesgo.

El-Sayed, Y. S., Khalil, R. H., & Saad, T. T. (2009). Acute toxicity of ochratoxin-A in marine water-reared sea bass (*dicentrarchus labrax* L.). *Chemosphere*, 75(7), 878-882.

Elzupir, A. O., Makawi, S. Z. A., & Elhussein, A. M. (2009). Determination of aflatoxins and ochratoxin A in dairy cattle feed and milk in Wad Medani, Sudan. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(12), 2508-2511.

Erkekoglu, P., Sabuncuoğlu, S., Aydın, S., Şahin, G., & Giray, B. (2010). Determination of seasonal variations in serum ochratoxin A levels in healthy population living in some regions of Turkey by enzyme-linked immunosorbent assay. *Toxicon*, 55(2-3), 507-513.

Fabiani, A., Corzani, C., & Arfelli, G. (2010). Correlation between different clean-up methods and analytical techniques performances to detect ochratoxin A in wine. *Talanta*, 83(1), 281-285.

Fakoor Janati, S., Beheshti, H., Asadi, M., Mihanparast, S., & Feizy, J. (2012). Preliminary survey of aflatoxins and ochratoxin A in dried fruits from Iran. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(3), 391-395.

FAO (1996). Basic facts on the world cereal situation. *Food Outlook*, 5/6, Rome.

FAO (2003). Manual sobre la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y de Puntos de Críticos de Control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas. *Estudio FAO Alimentación y Nutrición*, n° 73, Roma.

FAO (2004). Reglamento a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las regiones en el año 2003. *Estudio FAO: Alimentación y Nutrición*. n° 81, Roma.

FAO (2012). Reducción de la OTA en el café. Disponible: <http://www.coffee-ota.org>.

FAO/OMS. (1995). Aplicación del análisis de riesgos a cuestiones de nor-

mas alimentarias. Informe de la consulta mixta FAO/OMS de expertos. Ginebra, 13-17 de marzo de 1995

FAO/OMS (2007). Comisión del Codex Alimentarius. Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del Codex sobre contaminantes de los alimentos. 1ª reunión Beijing (China), 16 - 20 de abril de 2007. Documento debate sobre la OTA en el cacao. CX/CF 07/1/19.

FAO/OMS. (2011). Comisión del Codex Alimentarius. Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del Codex sobre contaminantes de los alimentos. 5ª reunión. La Haya, Países Bajos, 21 – 25 de marzo de 2011. Documento de debate sobre la ocratoxina A en el cacao. CX/CF 11/5/12.

FAO/OMS. (2012). Codex Alimentarius, prevención y reducción de la contaminación de los alimentos y piensos. Roma 2012.

FAO/WHO. (2006). Food safety risk analysis. A guide for national Food Safety Authorities. Paper 87.

FAO/WHO (2009) Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food. (Environmental health criteria; 240)

FAOSTAT (2010). Disponible <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> (consultada en junio 2012).

Fazekas, B., Tar, A., & Kovacs, M. (2005a). Aflatoxin and ochratoxin A content of spices in Hungary. *Food Additives and Contaminants*, 22(2), 856-863.

Fazekas, B., Tar, A., & Kovacs, M. (2005b). Ochratoxin A content of urine samples of healthy humans in Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 53 (1), 35-44.

Fernane, F., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., Marín, S., & Ramos A.J. (2010a). Aflatoxins and ochratoxin A in pistachios sampled in Spain: Occurrence and presence of mycotoxigenic fungi. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 3:3, 185-192.

Fernane, F., Sanchis, V., Marin, S., & Ramos, A. J. (2010b). First report on mould and mycotoxin contamination of pistachios sampled in Algeria, *Mycopathologia*, 170(6), 423–429.

Ferracane, R., Tafuri, A., Logieco, A., Galvano, F., Balzano, D., & Ritieni, A. (2007). Simultaneous determination of aflatoxin B-1 and ochratoxin A and their natural occurrence in Mediterranean virgin olive oil. *Food Additives and Contaminants*, 24(2), 173-180.

Figuroa, S., Centeno, S., Calvo, M.A., Rengel, A., & Adelantado, C. (2009). Mycobiota and concentration of ochratoxin A in concentrated poultry feed from Venezuela. *Pakistan Journal Biological Sciences*, 12(7), 589–594.

FSA (Financial Services Authority). (2005). Survey of spices for aflatoxins and ochratoxin A. 73/05. Disponible: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/fsis7305.pdf>

Fink-Gremmels, J. (2008). Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review. *Food Additives and Contaminants*, 25(2), 172-180.

Flajs, D., Domijan, A., Ivić, D., Cvjetković, B., & Peraica, M. (2009). ELISA and HPLC analysis of ochratoxin A in red wines of Croatia. *Food Control*, 20(6), 590-592.

FEHD (2006) Food and Environmental Hygiene Department Centre for Food Safety, Government of Hong Kong Special Administrative Region. Risk assessment studies. Report n° .23. Ochratoxin A in food.

Fraga, M., Curvello, F., Gatti, M., Cavaglieri, L., Dalcerro, A., & da Rocha Rosa, C. (2007). Potential aflatoxin and ochratoxin A production by *aspergillus* species in poultry feed processing. *Veterinary Research Communications*, 31(3), 343-353.

Galvano, F., Pietri, A., Bertuzzi, T., Gagliardi, L., Ciotti, S., Luisi, S., *et al.* (2008). Maternal dietary habits and mycotoxin occurrence in human mature milk. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52(4), 496-501.

Ghali, R., Hmaissia-Khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K., & Hedili, A. (2008). Incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in Tunisian foods. *Food Control*, 19(9), 921-924.

Ghali, R., Hmaissia-Khlifa, K., Ghorbel, H., Maaroufi, K., & Hedili, A. (2009). HPLC determination of ochratoxin A in high consumption Tunisian foods. *Food Control*, 20(8), 716-720.

Ghitakou, S., Koutras, K., Kanellou, E., & Markaki, P. (2006). Study of aflatoxin B-1 and ochratoxin A production by natural microflora and *aspergillus parasiticus* in black and green olives of greek origin. *Food Microbiology*, 23(7), 612-621.

González, L., Juan, C., Soriano, J. M., Molto, J. C., & Manes, J. (2006). Occurrence and daily intake of ochratoxin A of organic and non-organic rice and rice products. *International Journal of Food Microbiology*, 107(2), 223-227.

González-Osnaya, L., Soriano, J. M., Moltó, J. C., & Mañes, J. (2007). Dietary intake of ochratoxin A from conventional and organic bread. *International Journal of Food Microbiology*, 118(1), 87-91.

González-Osnaya, L., Soriano, J. M., Moltó, J. C., & Mañes, J. (2008). Simple liquid chromatography assay for analyzing ochratoxin A in bovine

milk. *Food Chemistry*, 108(1), 272-276.

González-Peñas, E., Leache, C., López de Cerain, A., & Lizarraga, E. (2006). Comparison between capillary electrophoresis and HPLC-FL for ochratoxin A quantification in wine. *Food Chemistry*, 97(2), 349-354.

Gopinandhan, T. N., Kannan, G. S., Panneerselvam, P., Velmourougane, K., Raghuramulu, Y., & Jayarama. (2008). Survey on ochratoxin A in Indian green coffee destined for export. *Food Additives & Contaminants Part B-Surveillance*, 1(1), 51-57.

Goryacheva, I. Y., De Saeger, S., Lobeau, M., Eremin, S. A., Barna-Vetró, I., & Van Peteghem, C. (2006). Approach for ochratoxin A fast screening in spices using clean-up tandem immunoassay columns with confirmation by high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (HPLC–MS/MS). *Analytica Chimica Acta*, 577(1), 38-45.

Gürbay, A., Girgin, G., Atasayar Sabuncuolu S., Sahin, G., Yurdakök, M., Yigit, S., *et al.* (2010). Ochratoxin A: Is it present in breast milk samples obtained from mothers from Ankara, Turkey? *Journal of Applied Toxicology*, 30(4), 329-333.

Han, Z., Zheng, Y., Luan, L., Ren, Y., & Wu, Y. (2010). Analysis of ochratoxin A and ochratoxin B in traditional Chinese medicines by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry using [¹³C₂₀]-ochratoxin A as an internal standard. *Journal of Chromatography A*, 1217(26), 4365-4374.

Hassan, A. M., Sheashaa, H. A., Fattah, M. F. A., Ibrahim, A. Z., Gaber, O. A., & Sobh M.A. (2006). Study of ochratoxin A as an environmental risk that causes renal injury in breast-fed Egyptian infants. *Pediatric Nephrology*, 21(1), 102–105.

He, J., Zhou, T., Young, J. C., Boland, G. J., & Scott, P. M. (2010). Chemical and biological transformations for detoxification of trichothecene mycotoxins in human and animal food chains: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(2), 67-76.

Hernández, M. J., García-Moreno, M. V., Durán, E., Guillén, D., & Barroso, C. G. (2006). Validation of two analytical methods for the determination of ochratoxin A by reversed-phased high-performance liquid chromatography coupled to fluorescence detection in musts and sweet wines from Andalusia. *Analytica Chimica Acta*, 566(1), 117-121.

Herrera, M., Herrera, A., & Ariño, A. (2009). Estimation of dietary intake of ochratoxin A from liquorice confectionery. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 2002-2006.

Heshmati, A., & Milani, J. M. (2010). Contamination of UHT milk by aflatoxin M1 in Iran. *Food Control*, 21(1), 19-22.

Hope, R., & Magan, N. (2003). Two dimensional environmental profiles of growth, deoxynivalenol and nivalenol production by *Fusarium culmorum* on a wheat-based substrate. *Letters Applied Microbiology*, 37(1), 70-74.

Iacumin, L., Chiesa, L., Boscolo, D., Manzano, M., Cantoni, C., Orlic, S., et al. (2009). Moulds and ochratoxin A on surfaces of artisanal and industrial dry sausages. *Food Microbiology*, 26(1), 65-70.

Iacumin, L., Milesi, S., Pirani, S., Comi, G., & Chiesa, L. M. (2011). Ochratoxigenic mold and ochratoxin A in fermented sausages from different areas in northern Italy: Occurrence, reduction or prevention with ozonated air. *Journal of Food Safety*, 31(4), 538-545.

Iamanaka, B., Taniwaki, M., Menezes, H., Vicente, E., & Fungaro, M. (2005). Incidence of toxigenic fungi and ochratoxin A in dried fruits sold in

Brazil. *Food Additives and Contaminants*, 22(12), 1258-1263.

IARC (2010) Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer. Disponible:<http://www.iarc.fr>

Ibáñez-Vea, M., Martínez, R., González-Peñas, E., Lizarraga, E., & López de Cerain, A. (2011). Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearale-none in breakfast cereals from Spanish market. *Food Control*, 22(12), 1949-1955.

Imperato, R., Campone, L., Piccinelli, A. L., Veneziano, A., & Rastrelli, L. (2011). Survey of aflatoxins and ochratoxin A contamination in food products imported in Italy. *Food Control*, 22(12), 1905-1910.

IBCE (Instituto Boliviano de Comercio Exterio) (2010). Mercado de especias y hierbas en la Unión Europea. Disponible: http://www.santacruztrade.com.bo/images/publicaciones/resumen_mercado_hierbas_especies.pdf

Instituto Portugûes do Consumidor. (2005). Disponible: www.consumidor.pt.

Institut National de la Statistique, Tunes, (2005): Enquêtes nationales sur le budget et la consommation des ménages. <http://www.tunisie-statistiques.tn>

Jalili, M., Jinap, S., & Radu, S. (2010). Natural occurrence of ochratoxin A contamination in commercial black and white pepper products. *Mycopathologia*, 170(4), 251-258.

Jalili, M., & Jinap, S. (2012). Natural occurrence of aflatoxins and ochratoxin A in commercial dried chili. *Food Control*, 24(1-2), 160-164.

JECFA (2001a). Safety evaluations of certain mycotoxins in food. *Prepared by the 56th meeting of the Food Additives*. Series n° 47; Joint Expert

Committee on Food Additives (JECFA). WHO Food Additives Series 47, pp 281–387. World Health Organisation, Geneva, Switzerland.

JECFA (2001b): Evaluation of certain mycotoxins in food: *fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO*. Expert Committee on Food Additives. (WHO technical report series; 906)

Jiménez, C. C. & León, P.D. (2009). Biosensores. Aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae*, 16(1) 144-154

Juan, C., González, L., Soriano, J.M., Moltó J.C. & Mañes, J. (2005). Accelerated solvent extraction of ochratoxin A from rice samples. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53(24), 9348-9351

Juan, C., Lino, C. M., Pena, A., Molto, J. C., Manes, J. & Silveira, I. (2007). Determination of ochratoxin A in maize bread samples by LC with fluorescence detection. *Talanta*, 73(2), 246-250.

Juan, C., Moltó, J. C., Lino, C. M., & Mañes, J. (2008a). Determination of ochratoxin A in organic and non-organic cereals and cereal products from Spain and Portugal. *Food Chemistry*, 107(1), 525-530.

Juan, C., Pena, A., Lino, C., Molto, J. C., & Manes, J. (2008b). Levels of ochratoxin A in wheat and maize bread from the central zone of Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, 127(3), 284-289.

Juan, C., Zinedine, A., Idrissi, L., & Manes, J. (2008c). Ochratoxin A in rice on the Moroccan retail market. *International Journal of Food Microbiology*, 126(1-2), 83-85.

Kabak, B. (2009a). Ochratoxin A in cereal-derived products in Turkey: Occurrence and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 47(2),

348-352.

Kabak, B. (2009b). The fate of mycotoxins during thermal food processing. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 89(4), 549–554.

Karbancioglu-Güler, F., & Heperkan, D. (2008). Natural occurrence of ochratoxin A in dried figs. *Analytica Chimica Acta*, 617(1-2), 32-36.

Karbancioglu-Güler, F., & Heperkan, D. (2009). Natural occurrence of fumonisin B1 in dried figs as an unexpected hazard. *Food and Chemical Toxicology*, 47(2), 289-292.

Karima, H., Ridha, G., Zied, A., Chekib, M., Salem, M., & Abderrazek, H. (2010). Estimation of ochratoxin A in human blood of healthy tunisian population. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 62(5), 539-542.

Kirin Institute of Food and Lifestyle. (2010). Global beer consumption by country in 2010. Report.33.Disponible:

http://www.kirinholdings.co.jp/english/news/2011/1221_01.html

Klaassen C.D. (1986). Distribution, excretion, and absorption of toxicants. In: Klaassen C.D., Amaur M.O. and Doull J. (eds), Caserett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. New York: Macmillan Publishing, pp. 33_63.

Klaric, M.S., Cvetnić, Z., Pepeljnjak, S., & Kosalec, I. (2009). Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A, fumonisins, and zearalenone in cereals and feed, determined by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay and thin-layer chromatography. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 60(4), 427-434.

Kuiper-Goodman, T., Hilts, C., Billiard, S. M., Kiparissis, Y., Richard, I. D. K., & Hayward, S. (2010). Health risk assessment of ochratoxin A for all

age-sex strata in a market economy. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 27(2), 212-240.

Kumagai, S., Nakajima M., Tabata, S., Ishikuro, E., Tanaka, T., Norizuki, H., *et al.* (2008). Aflatoxin and ochratoxin A contamination of retail foods and intake of these mycotoxins in Japan. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 25(9), 1100-1106.

Kumar, V., Basu, M. S., & Rajendran, T. P. (2008). Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. *Crop Protection*, 27(6), 891-905.

Labrinea, E.P., Natskoulis, P.I., Spiropoulos, A.E., Magan & N; Tassou, C.C. (2011): A survey of ochratoxin A occurrence in Greek wines *Food Additives & Contaminants Part B-Surveillance*, 4(1) 61-66

Laca, A., Mousia, Z., Diaz, M., Webb, C., & Pandiella, S.S. (2006). Distribution of microbial contamination within cereal grains. *Journal of Food Engineering*, 72(4), 332-338.

Lacey J. (1991). *Mycotoxins and Animal Foods*. Smith, J.E. & Henderson, R.S. (Ed.). London. pp. 363-397.

Laitila, A., Alakomi, H. L., Raaska, L., Mattila-Sandholm, T., & Haikara, A. (2002). Antifungal activities of two *Lactobacillus plantarum* strains against *Fusarium* moulds in vitro and in malting of barley. *Journal of Applied Microbiology*, 93(4) 566–576.

Lanyasunya, T.P., Wamae, L.W., Musa, H.H., Olowofeso, O., & Lokwaleput, I.K. (2005). The risk of mycotoxins contamination of dairy feed and milk on smallholder dairy farms in kenya. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(3), 162–169.

Lasram, S., Bellí, N., Chebil, S., Nahla, Z., Ahmed, M., Sanchis, V., *et al.* (2007). Occurrence of ochratoxigenic fungi and ochratoxin A in grapes from a Tunisian vineyard. *International Journal of Food Microbiology*, 114(3), 376-379.

Lattanzio, V. M.T., Pascale, M., & Visconti, A. (2009). Current analytical methods for trichothecene mycotoxins in cereals. *Trends in Analytical Chemistry*, 28(6), 758-768.

Laval, R. E. (2004). Sobre las epidemias del fuego de San Antonio. *Revista Chilena de Infectología*, 21(1), 74-76.

Lino, C., Baeta, L., Pena, A., & Silveira, I. (2006). Determination of ochratoxin A in coriander (*Coriandrum sativum L.*) by hpcl/fluorescence detection. *Quimica Nova*, 29(3), 436-439.

Lino, C. M., Baeta, M. L., Henri, M., Dinis, A. M. P., Pena, A. S., & Silveira, M. I. N. (2008). Levels of ochratoxin A in serum from urban and rural Portuguese populations and estimation of exposure degree. *Food and Chemical Toxicology*, 46(3), 879-885.

López de Cerain, A., Jiménez, AM., Ezpeleta, O., & Bello, J., (2000). Efectos tóxicos de la ocratoxina A. *Revista toxicológica*, 17: 61-69.

Lucchetta, G., Bazzo, I., Dal Cortivo, G., Stringher, L., Bellotto, D., Borgo, M., *et al.* (2010). Occurrence of black aspergilli and ochratoxin A on grapes in Italy, 2(4), 840-855.

Magnoli, C., Hallak, C., Ponsone, L., Astoreca, A., Chiacchiera, S., & Palacio, G., (2005). Surveillance of toxigenic fungi and ochratoxin A in feedstuffs from Córdoba province, Argentina. *Veterinary Research Communications*, 29(5), 431-445.

Magnoli, C., Astoreca, A., Ponsone, M. L., Fernández-Juri, M. G., Barberis, C., & Dalcero, A. M. (2007). Ochratoxin A and aspergillus section nigri in peanut seeds at different months of storage in Córdoba, Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 119(3), 213-218.

MAGRAMA (2011) (Ministerio de agricultura, alimentacion y medio ambiente). Gobierno de España. Informe nacional 2011 agricultura ecológica estadísticas.

Disponible: http://www.magrama.gob.es/estadistica/pags/anuario/2011/AE_2011_15_11_01.pdf.

MAGRAMA (2012). Denominaciones de origen protegidas (D.O.P.). Indicaciones geográficas protegidas (I.G.P.). Disponible Http://www.magrama.gob.es/es/_tcmLinkfilter.aspx?tcmuri=141862

Mahnine, N., Meca, G., Elabidi, A., Fekhaoui, M., Saoiabi, A., Font, G., et al. (2011). Further data on the levels of emerging fusarium mycotoxins enniatins (A, A1, B, B1), beauvericin and fusaproliferin in breakfast and infant cereals from Morocco. *Food Chemistry*, 124(2), 481-485.

Manique, R., Pena, A., Lino, C. M., Moltó, J. C., & Mañes, J. (2008). Ochratoxin A in the morning and afternoon portions of urine from Coimbra and Valencian populations. *Toxicon*, 51(7), 1281-1287.

Maragos, C. M., & Appell, M. (2007). Capillary electrophoresis of the mycotoxin zearalenone using cyclodextrin-enhanced fluorescence. *Journal of Chromatography A*, 1143(1-2), 252-257.

Maragos, C. M. (2009). Recent advances in the development of novel materials for mycotoxin analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(5), 1205-1213.

Maragos, C. M., & Busman, M. (2010). Rapid and advanced tools for mycotoxin analysis: A review. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 27(5), 688-700.

Marin, S., Magan, N., Serra, J., Ramos, A.J., Canela, R., & Sanchis, V. (1999). Fumonisin B₁ production and growth of *fusarium moniliforme* and *fusarium proliferatum* in maize, wheat, and barley grain. *Journal of Food Science*, 64(5), 921-924.

Marina Martins, H., Almeida, I., Marques, M. F., & Guerra, M. M. (2008). Fumonisin and deoxynivalenol in corn-based food products in Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 46(7), 2585-2587.

McKean, C., Tang, L., Billam, M., Tang, M., Theodorakis, C.W., Kendall, R.J. & Wang, J.-S. (2006). Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B1 and T-2 toxin in animals and immortalized human cell lines. *Journal of Applied Toxicology*, 26(2), 139–147.

Medina, A., Jimenez, M., Gimeno-Adelantado, J. V., Valle-Algarra, F. M., & Mateo, R. (2005). Determination of ochratoxin A in beer marketed in Spain by liquid chromatography with fluorescence detection using lead hydroxyacetate as a clean-up agent. *Journal of Chromatography A*, 1083(1-2), 7-13.

Medina, Á., Valle-Algarra, F. M., Gimeno-Adelantado, J. V., Mateo, R., Mateo, F., & Jiménez, M. (2006). New method for determination of ochratoxin A in beer using zinc acetate and solid-phase extraction silica cartridges. *Journal of Chromatography A*, 1121(2), 178-183.

Medina, Á., Mateo, E.M., Roig, R.J., Blanquer, A., & Jiménez, M. (2010). Ochratoxin A levels in the plasma of healthy blood donors from Valencia and estimation of exposure degree: Comparison with previous national Spanish data. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 27(9), 1273-1284.

Meletis, K., Meniades-Meimaroglou, S., & Markaki, P. (2007). Determination of ochratoxin A in grapes of Greek origin by immunoaffinity and high-performance liquid chromatography. *Food Additives and Contaminants*, 24(11), 1275-1282.

Mercasa (2006). Bread. Disponible: http://www.mercasa.es/nueva/revista/pdfs_05/pan.pdf2006).

Meucci, V., Razzuoli, E., Soldani, G., & Massart, F. (2010). Mycotoxin detection in infant formula milks in Italy. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 27(1), 64-71.

Meyvaci, K., Altindisli, A., Aksoy, U., Eltem, R., Turgut, H., Arasiler, Z., et al. (2005). Ochratoxin A in sultanas from Turkey I: Survey of unprocessed sultanas from vineyards and packing-houses. *Food Additives and Contaminants*, 22(11), 1138-1143.

Mitchell, D., Aldred, D., & Magan, N. (2003). Impact of ecological factors on growth and ochratoxin A production by *aspergillus carbonarius* from different regions of Europe. *Aspects Applied Biology*, 68, 109–116.

Molinié, A., Faucet, V., Castegnaro, P., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2005). Analysis of some breakfast cereals on the french market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B-1: Development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin. *Food Chemistry*, 92(3), 391-400.

Monaci, L., Palmisano, F., Matrella, R., & Tantillo, G. (2005). Determination of ochratoxin A at part-per-trillion level in Italian salami by immunoaffinity clean-up and high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography a*, 1090(1-2), 184-187.

Mounjouenpou, P., Gueule, D., Fontana-Tachon, A., Guyot, B., Tondje, P.

R., & Guiraud, J. (2008). Filamentous fungi producing ochratoxin A during cocoa processing in Cameroon. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 234-241.

Muñoz, K., Vega, M., Rios, G., Muñoz, S., & Madariaga, R. (2006). Preliminary study of ochratoxin A in human plasma in agricultural zones of Chile and its relation to food consumption. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1884-1889.

Murillo-Arbizu M., Amezceta, S., González-Peñas, E. & López de Cerain, A. (2009). Occurrence of patulin and its dietary intake through apple juice consumption by the Spanish population. *Food Chemistry*, 113(2), 420–423.

Murillo-Arbizu, M.T., Amezceta, S., González-Peñas, E. & López de Cerain, A. (2010). Occurrence of ochratoxin A in southern Spanish generous wines under the denomination of origin "jerez-xerez-Sherry and manzanilla Sanlúcar de Barrameda". *Toxins*, 2(5) 1054-1064.

Murphy, P.A., Hendrich, S., Landgre, C. & Bryant, C.M. (2006). Food mycotoxins: An update. *Journal of Food Science*, 71(5), 51-65.

Nguyen, M. T., Tozlovanu, M., Tran, T. L., & Pfohl-Leszkowicz, A. (2007). Occurrence of aflatoxin B1, citrinin and ochratoxin A in rice in five provinces of the central region of Vietnam. *Food Chemistry*, 105(1), 42-47.

Noonim, P., Mahakarnchanakul, W., Nielsen, K. F., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2008). Isolation, identification and toxigenic potential of ochratoxin A-producing aspergillus species from coffee beans grown in two regions of Thailand. *International Journal of Food Microbiology*, 128(2), 197-202.

Nwagu, T.N.T. & Ire. F.S. (2011). Ochratoxin in cocoa, health risks and methods of detoxification. *International Journal of Agricultural Research*, 6(2), 101-109.

OEMV (2012) Observatorio Español del Mercado del Vino. El vino en cifras, estudio elaborado para wines from Spain – ICEX, edición actualizada a 30-03-2012. Disponible: www.winesfromspain.com.

OIV (2012). International Organisation of Vine and Wine. Organización Intergubernamental. Analisis de la coyuntura mundial, marzo, 2012. Disponible: <http://www.oiv.int/oiv/cms/index>

Pacin, A. M., Ciancio Bovier, E. V., Motta, E., Resnik, S. L., Villa, D., & Olsen, M. (2008). Survey of Argentinean human plasma for ochratoxin A. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 25(5), 635- 641.

Pacin, A., Ciancio Bovier, E., Cano, G., Taglieri, D., & Hernandez Pezzani, C. (2010). Effect of the bread making process on wheat flour contaminated by deoxynivalenol and exposure estimate. *Food Control*, 21(4), 492-495.

Pallaroni, L. von Holst, C., Eskilsson, C. Björklund, E. (2002). Microwave-assisted extraction of zearalenone from wheat and corn. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374(1), 161-166.

Pallaroni, L. & von Holst, C. (2003). Comparison of alternative and conventional extraction techniques for the determination of zearalenone in corn. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 376(6), 908-912.

Panini, N. V., Bertolino, F. A., Salinas, E., Messina, G. A. & Raba, J. (2010). Zearalenone determination in corn silage samples using an immunosensor in a continuous-flow/stopped-flow systems. *Biochemical Engineering Journal* 51(2), 7–13

Papachristou, A., & Markaki, P. (2004). Determination of ochratoxin A in virgin olive oils of greek origin by immunoaffinity column clean-up and high-performance liquid chromatography. *Food Additives and Contaminants*, 21(1), 85-92.

Park, J., Chung, S., & Kim, Y. (2005). Ochratoxin A in Korean food commodities: Occurrence and safety evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(11), 4637-4642.

Pattono, D., Gallo, P. F., & Civera, T. (2011). Detection and quantification of ochratoxin A in milk produced in organic farms. *Food Chemistry*, 127(1), 374-377.

Pavon, M. A., González, I., de la Cruz, S., Martín, R., & García Lacarra, T. (2012). The use of high-performance liquid chromatography to detect ochratoxin A in dried figs from the Spanish market. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1), 74-77.

Pena, A., Cerejo, F., Lino, C., & Silveira, I. (2005). Determination of ochratoxin A in Portuguese rice samples by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(5), 1288-1293.

Pena, A., Seifrtová, M., Lino, C., Silveira, I., & Solich, P. (2006). Estimation of ochratoxin A in Portuguese population: New data on the occurrence in human urine by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Food and Chemical Toxicology*, 44(9), 1449-1454.

Pena, A., Cerejo, F., Silva, L. J. G., & Lino, C. M. (2010). Ochratoxin A survey in Portuguese wine by LC-FD with direct injection. *Talanta*, 82(4), 1556-1561.

Peraica, M., Radic, B., Lucić P & Pavlovic, M. (1999). Toxic effects of mycotoxins in humans. *Bulletin of the World Health Organization: the International Journal of Public Health*; 77(9), 754-766.

Pereyra, C.M., Cavaglieri, L.R., Chiacchiera, S.M., & Dalcero, A.M., (2010). Fungi and mycotoxins in feed intended for sows at different repro-

ductive stages in Argentina. *Veterinary Medicine International*, 2010, 1–7.

Pérez-Torrado, E., Blesa, J., Moltó, J. C., & Font, G. (2010). Pressurized liquid extraction followed by liquid chromatography–mass spectrometry for determination of zearalenone in cereal flours. *Food Control*, 21(4), 399-402.

Pestka, J.J., (2010). Deoxynivalenol: mechanisms of action, human exposure, and toxicological relevance. *Archives of toxicology*, 84(9) 663–679.

Pietri, A., Rastelli S., & Bertuzzi, T. (2010). Ochratoxin A and aflatoxins in liquorice products. *Toxins*, 2(4), 758-770.

Pietri A., Gualla A., Rastelli S. & Bertuzzi T. (2011). Enzyme-assisted extraction for the HPLC determination of ochratoxin A in pork and dry-cured ham, *Food Additives and Contaminants: Part A*, 28(12), 1717-1723.

Pietri, A., Rastelli, S., Mulazzi, A., & Bertuzzi, T. (2012). Aflatoxins and ochratoxin A in dried chestnuts and chestnut flour produced in Italy. *Food Control*, 25(2), 601-606.

Ponsone, M. L., Chiotta, M. L., Combina, M., Torres, A., Knass, P., Dalcero, A., *et al.* (2010). Natural occurrence of ochratoxin A in musts, wines and grape vine fruits from grapes harvested in Argentina. *Toxins*, 2(8), 1984-1996.

Pozzo, L., Cavallarin, L., Nucera, D., Antoniazzi, S., & Schiavone, A. (2010). A survey of ochratoxin A contamination in feeds and sera from organic and standard swine farms in northwest Italy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(9), 1467-1472.

Prandini, A., Sigolo, S., Filippi, L., Battilani, P., & Piva, G. (2009). Review of predictive models for fusarium head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology*, 47(5), 927-931.

Prieto-Simón, B., Noguer, T., & Campàs, M. (2007). Emerging biotools for assessment of mycotoxins in the past decade. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 26(7), 689-702.

Quintela, S., Villarán, M. C., López de Armentia, I., & Elejalde, E. (2011). Occurrence of ochratoxin A in Rioja Alavesa wines. *Food Chemistry*, 126(1), 302-305.

Quintela, S., Villarán, M. C., López de Armentia, I., & Elejalde, E. (2012). Ochratoxin A in Spanish exportation wine market. *Food Control*, 25(2), 501-504.

Rao, G.H.R. & Anders, M.W. (1973). Aflatoxin detection by high speed liquid chromatography and mass-spectrometry. *Journal of Chromatography*. 84(2) 402-406.

Real Decreto 1055/2003, de 1 de Agosto de 2003 por el que se aprueba la Reglamentación Técnico-Sanitaria sobre los productos de cacao y chocolate destinados a la alimentación humana. (B.O.E. 05.08.2003).

Reglamento (CE) nº 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2003, sobre los aditivos en la alimentación animal (DOUE L268,99)

Reglamento (CE) nº 401/2006, de 23 de febrero de 2006, de la Comisión por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios. (DOCE L70, 12).

Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la Comisión, del 19 de diciembre de 2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. (DOUE L364/5).

Reglamento (CE) nº 1126/2007 de la Comisión de 28 de septiembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de *fusariu* en el maíz y los productos del maíz. (DOUE L255/14).

Reglamento (CE) nº 1152/2009 de la Comisión, de 27 de noviembre de 2009 , por el que se establecen condiciones específicas para la importación de determinados productos alimenticios de algunos terceros países debido al riesgo de contaminación de dichos productos por aflatoxinas y se deroga la decisión 2006/504/CE. (DOUE L313 /40).

Reglamento (CE) nº 386/2009 de la Comisión, de 12 de mayo de 2009, que modifica el Reglamento (CE) nº 1831/2003 del parlamento europeo y del consejo estableciendo un nuevo grupo funcional de aditivos para piensos. (DOUE L118/66)

Reglamento (UE) nº 105/2010 de la Comisión de 5 de febrero de 2010 que modifica el Reglamento (CE) nº1881/2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a la ocratoxina A. (DOUE L50/8).

Reglamento (EU) nº 165/2010 de la Comisión de 26 de febrero de 2010 que modifica, en lo que respecta a las aflatoxinas, el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. (DOUE L50/8).

Reglamento (UE) nº 178/2010 de la Comisión de 2 de marzo de 2010 por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 401/2006 en lo que respecta a los cacahuetes y otras semillas oleaginosas, a los frutos de cáscara arbóreos, a los huesos de albaricoque, al regaliz y al aceite vegetal. (DOUE L52/32).

Reglamento (UE) nº 594/2012 de la Comisión de 5 de julio de 2012 por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 de la comisión, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, en lo concerniente a los contenidos máximos de los contaminantes ocratoxina A, PCBs no similares a las dioxinas y melamina en los productos alimenticios. (DOUE, L 176/43).

Reglamento (UE) nº 1058/2012 de la Comisión de 12 de noviembre de 2012 por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de aflatoxinas en los higos secos. (DOUE L 313/14)

Rocha, O., Ansari, K., Doohan, F. M. (2005). Effects of trichothecene mycotoxins on eukaryotic cells: A review. *Food Additives and Contaminants*, 22(2), 369-378.

Romagnoli, B., Ferrari, M., & Bergamini, C. (2010). Simultaneous determination of deoxynivalenol, zearalenone, T-2 and HT-2 toxins in breakfast cereals and baby food by high-performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 45(9), 1075-1080.

Romero-González, R., Frenich, A. G., Vidal, J. L. M., & Aguilera-Luiz, M. M. (2010). Determination of ochratoxin A and T-2 toxin in alcoholic beverages by hollow fiber liquid phase microextraction and ultra high-pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Talanta*, 82(1), 171-176.

Rosa, C.A.R., Cavaglieri, L.R., Ribeiro, J.M.M., Keller, K.M., Alonso, V.A., Chiacchiera S. M. *et al.* (2008). Mycobiota and naturally-occurring ochratoxin A in dairy cattle feed from Rio de Janeiro state, Brazil. *World Mycotoxin Journal*, 1(195), 195-201.

Rosa, C. A. R., Keller, K. M., Keller, L.A. M., González Pereyra, M.L., Pereyra, C.M., Dalcero, A.M., *et al.* (2009). Mycological survey and ochratoxin A natural contamination of swine feedstuffs in Rio de Janeiro state, Brazil. *Toxicon*, 53(2), 283-288.

Roscoe, V., Lombaert, G. A., Huzel, V., Neumann, G., Melietio, J., Kitchen, D., *et al.* (2008). Mycotoxins in breakfast cereals from the Canadian retail market: A 3-year survey. *Food Additives and Contaminants*, 25(3), 347-355.

Rubert, J., Sebastià, N., Soriano, J. M., Soler, C., & Mañes, J. (2011a). One-year monitoring of aflatoxins and ochratoxin A in tiger-nuts and their beverages. *Food Chemistry*, 127(2), 822-826.

Rubert, J., Soriano, J. M., Mañes, J., & Soler, C. (2011b). Rapid mycotoxin analysis in human urine: A pilot study. *Food and Chemical Toxicology*, 49(9), 2299-2304.

Rubert, J., Soler, C., Mañes, J. (2011c) Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-mycotoxin determination in different flours using LC MS/MS. *Talanta*, 85(1), 206–215

Rubert, J., Soler, C., & Manes, J. (2012) Application of an HPLC-MS/MS method for mycotoxin analysis in commercial baby foods. *Food Chemistry*, 133(1), 176-183.

Ruiz, M.J., Petra, M., Juan-García, A. & Font, G. (2011a) Cytotoxic effects of mycotoxin combinations in mammalian kidney cells. *Food and Chemical Toxicology*, 49(10), 2718–2724.

Ruiz, M.J., Franzova, P., Juan-Garcia, A. & Font, G., (2011b). Toxicological interactions between the mycotoxins beauvericin, deoxynivalenol and T-2 toxin in CHO-K1 cells in vitro. *Toxicon*, 58 (4), 315–326

Saha, D., Acharya, D., Roy, D., Shrestha, D., & Dhar, T. K. (2007). Simultaneous enzyme immunoassay for the screening of aflatoxin B1 and ochratoxin A in chili samples. *Analytica Chimica Acta*, 584(2), 343-349.

Salem, N. M., & Ahmad, R. (2010). Mycotoxins in food from Jordan: Preliminary survey. *Food Control*, 21(8), 1099-1103.

Sánchez-Hervás, M., Gil, J.V., Bisbal, F., Ramón, D., & Martínez-Culebras, P. V. (2008). Mycobiota and mycotoxin producing fungi from cocoa beans. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 336-340.

Sanchis V., & Magan N., (2004). Environmental conditions affecting mycotoxins. *Mycotoxins in Food: Detección y Control. Magan and Oldensen, M. (Ed.) Cambridge. Pp 174- 189,*

Sant'Ana, AS., Rosenthal, A., & de Massaguer, P. R. (2008). The fate of patulin in apple juice processing: A review. *Food Research International*, 41(5), 441-453.

Santos, L., Marín, S., Sanchis, V., & Ramos, A. J. (2009). Screening of mycotoxin multicontamination in medicinal and aromatic herbs sampled in Spain. *Journal of the Science of food and agriculture*, 89(10), 1802-1807.

Santos, L., Marín, S., Sanchis, V., & Ramos, A. J. (2010). Co-occurrence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in capsicum powder samples available on the Spanish market. *Food Chemistry*, 122(3), 826-830.

Schiavone, A., Cavallero, C., Girotto, L., Pozzo, L., Antoniazzi, S., & Cavallarín, L. (2008). A survey on the occurrence of ochratoxin A in feeds and sera collected in conventional and organic poultry farms in northern Italy. *Italian Journal of Animal Science*, 7(4), 495-503.

SCF (1998) C.E.: Opinion on of the Scientific Committee on Food on

ochratoxin A. Expressed on 17 September 1998.

Sedmikova, M., Reisnerova, H., Dufkova, Z., Barta, I., & Zilek, F., (2001). Potential hazard of simultaneous occurrence of aflatoxin B1 and ochratoxin A. *Veterinarni Medicina*, 46(6), 169-174.

Senyuva, H., Gilbert, J., Ozcan, S., & Ulken, U. (2005). Survey for co-occurrence of ochratoxin A and aflatoxin B, in dried figs in turkey by using a single laboratory-validated alkaline extraction method for ochratoxin A. *Journal of Food Protection*, 68(7), 1512-1515.

Senyuva, H. Z., Gilbert, J., Samson, R. A., Ozcan, S., Ozturkoglu, S., & Onal, D. (2008). Occurrence of fungi and their mycotoxins in individual Turkish dried figs. *World Mycotoxin Journal*, 1(1), 79-86.

Shah, H. U., Simpson, T. J., Alam, S., Khattak, K. F., & Perveen, S. (2010). Mould incidence and mycotoxin contamination in maize kernels from swat valley, north west frontier province of Pakistan. *Food and Chemical Toxicology*, 48(4), 1111-1116.

Shephard, G. S. (2008). Determination of mycotoxins in human foods. *Chemical Society Reviews*, 37(11), 2468-2477.

Shephard, G. S. (2009). Aflatoxin analysis at the beginning of the twenty-first century. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(5), 1215-1224.

Sherif, O. S., Salama, E. E., & Abdel-Wahhab, M. A. (2009). Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 212(4), 347-368.

Shundo, L., de Almeida, A. P., Alaburda, J., Lamardo, L. C. A., Navas, S. A., Ruvieri, V., et al. (2009). Aflatoxins and ochratoxin A in brazilian paprika. *Food Control*, 20(12), 1099-1102.

Silva, L., Fernández-Franzón, M., Font, G., Pena, A., Silveira, I., Lino, C. *et al.* (2009) Analysis of fumonisins in corn-based food by liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometry detectors. *Food Chemistry* 112(4) 1031–1037.

Solfrizzo, M., Gambacorta, L., Lattanzio, V., Powers, St., Visconti, A. (2011). Simultaneous LC–MS/MS determination of aflatoxin M₁, ochratoxin A, deoxynivalenol, de-epoxydeoxynivalenol, α and β -zearalenols and fumonisin B₁ in urine as a multi-biomarker method to assess exposure to mycotoxins. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(9), 2831–2841.

Sorensen, L. M., Mogensen, J., & Nielsen, K. F. (2010). Simultaneous determination of ochratoxin A mycophenolic acid and fumonisin B₂ in meat products. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 398(3), 1535–1542.

Soriano J.M., Molto J.C., Mañes J. (2007). Introducción, factores determinantes de la producción de micotoxinas, trazabilidad y descontaminación, toxicidad y evaluación, *en: Micotoxinas en alimentos*. (Soriano del Castillo (Ed.) Diaz Santos. Madrid.

Spadaro, D., Lorè, A., Garibaldi, A., & Gullino, M. L. (2010). Occurrence of ochratoxin A before bottling in DOC and DOCG wines produced in Piedmont (northern Italy). *Food Control*, 21(9), 1294–1297.

Sulyok, M., Berthiller, F., Krska, R. & Schuhmacher, R., (2006). Development and validation of a liquid chromatography/tandem mass spectrometric method for the determination of 39 mycotoxins in wheat and maize. *Rapid Communication in Mass Spectrometry*, 20(18), 2649–2659.

Tangni, E. K., Waegeneers, N., Van Overmeire, I., Goeyens, L., & Pussemier, L. (2009). Mycotoxin analyses in some home produced eggs in Belgium reveal small contribution to the total daily intake. *Science of the Total*

Environment, 407(15), 4411-4418.

Tardieu, D., Bailly, J., Skiba, F., Grosjean, F., & Guerre, P. (2008). Toxicokinetics of fumonisin B1 in Turkey poults and tissue persistence after exposure to a diet containing the maximum European tolerance for fumonisins in avian feeds. *Food and Chemical Toxicology*, 46(9), 3213-3218.

Thomson, C., & Henke, S.E. (2000). Effects of climate and type of storage container on aflatoxin production in corn and its associated risks to wildlife species. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(1), 172-179.

Toscani, T., Moseriti, A., Dossena, A., Dall'Asta, C., Simoncini, N., & Virgili, R. (2007). Determination of ochratoxin A in dry-cured meat products by a HPLC-FLD quantitative method. *Journal of Chromatography B*, 855(2), 242-248.

Trucksess, M.W., Weaver, C.M., Oles, C.J., Rump, L.V., White, K.D., Betz J.M. *et al.* (2007). The use of multi-toxin immunoaffinity columns for determination of aflatoxins and ochratoxin A in ginseng and ginger. *Journal of AOAC International*, 90(4)1042-1049.

Trucksess, M. W., & Scott, P. M. (2008). Mycotoxins in botanicals and dried fruits: A review. *Food Additives and Contaminants*, 25(2), 181-192.

Turcotte, A.M. & Scott, P.M. (2011). Ochratoxin A in cocoa and chocolate sampled in Canada. *Food Additives and Contaminants: Part A*, 28(6), 762-766.

Turner, N. W., Subrahmanyam, S., & Piletsky, S. A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*, 632(2), 168-180.

Urraca, J. L., Dolores Marazuela, M., & Moreno-Bondi, M. C. (2006). Mo-

lecularly imprinted polymers applied to the clean-up of zearalenone and alpha-zearalenol from cereal and swine feed sample extracts. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(7), 1155-1161.

Valero, A., Marín, S., Ramos, A. J., & Sanchis, V. (2008). Survey: Ochratoxin A in European special wines. *Food Chemistry*, 108(2), 593-599.

Van der Gaag, B., Spath, S., Dietrich, H., Stigter, E., Boonzaaijer, G., Van Osenbruggen T., *et al.* (2003). Biosensors and multiple mycotoxin analysis. *Food Control*, 14(4), 251-254.

Van der Merwe, K.J., Steyn, P.S., Fourie, L.; Scott, D.B. & Theron, J.J. (1965). Ochratoxin A, a toxic metabolite produced by *Aspergillus ochraceus*. *Nature*, 205(4976), 1112-1113.

Van Egmond, H., Schothorst, R. C., Jonker, M.A. (2007). Regulations relating to mycotoxins in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(1), 147-157.

Var, I., & Kabak, B. (2007). Occurrence of ochratoxin A in Turkish wines. *Microchemical Journal*, 86(2), 241-247.

Varga, J., Kiss, R., Matrai, T., Matrai, T., & Teren, J. (2005). Detection of ochratoxin A in Hungarian wines and beers. *Acta Alimentaria*, 34(4), 381-392.

Varga, J., & Kozakiewicz, Z. (2006). Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science & Technology*, 17(2), 72-81.

Vatinno, R., Aresta, A., Zambonin, C.G., & Palmisano F. (2008). Determination of ochratoxin A in green coffee beans by solid-phase microextraction and liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, 1187(1-2), 145-150.

Vega, M., Muñoz, K., Sepúlveda, C., Aranda, M., Campos, V., Villegas, R.,

et al. (2009). Solid-phase extraction and HPLC determination of ochratoxin A in cereals products on Chilean market. *Food Control*, 20(7), 631-634.

Villa, P., & Markaki, P. (2009). Aflatoxin B1 and ochratoxin A in breakfast cereals from Athens market: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 20(5), 455-461.

Wagacha, J. M., & Muthomi, J. W. (2008). Mycotoxin problem in Africa: Current status, implications to food safety and health and possible management strategies. *International Journal of Food Microbiology*, 124(1), 1-12.

Wang, Y., Dostálek, J., & Knoll, W. (2009). Long range surface plasmon-enhanced fluorescence spectroscopy for the detection of aflatoxin M1 in milk. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(7), 2264-2267.

Wei, Y., Qiu, L., Yu, J. C. C., & Lai, E. P. C. (2007). Molecularly imprinted solid phase extraction in a syringe needle packed with polypyrrole-encapsulated carbon nanotubes for determination of ochratoxin A in red wine. *Food Science and Technology International*, 13(5), 375-380.

Weidenbörner, M. (2001). *Encyclopedia of food mycotoxins*. Springer-Verlag. (ed.) Berlín. Wennrich L., Popp P., Moder M. 2000. *Analytical Chemistry*. 72, 546- 551.

Yu, J. C. C. & Lai E.P.C. (2005). Interaction of ochratoxin A with molecularly imprinted polypyrrole film on surface plasmon resonance sensor. *Reactive & Functional Polymers*, 63(3), 171-176.

Zaied, C., Abid, S., Zorgui, L., Bouaziz, C., Chouchane, S., Jomaa, M., *et al.* (2009). Natural occurrence of ochratoxin A in Tunisian cereals. *Food Control*, 20(3), 218-222.

Zaied, C., Abid, S., Bouaziz, C., Chouchane, S., Jomaa, M., & Bacha, H.

(2010). Ochratoxin A levels in spices and dried nuts consumed in Tunisia. *Food Additives and Contaminants Part B-Surveillance*, 3(1), 52-57.

Zaied, C., Bouaziz, C., Azizi, I., Bensassi, F., Chour, A., Bacha, H., *et al.* (2011). Presence of ochratoxin A in Tunisian blood nephropathy patients. Exposure level to OTA. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 63(7-8), 613-618.

Zeza, F., Longobardi, F., Pascale, M. & Visconti, A. (2009). Fluorescence polarization immunoassay for rapid screening of ochratoxin A in red wine. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 395(5), 1317-1323.

Zhang, A., Ma, Y., Feng, L., Wang, Y., He, C., Wang, X., *et al.* (2011). Development of a sensitive competitive indirect ELISA method for determination of ochratoxin A levels in cereals originating from Nanjing, China. *Food Control*, 22(11), 1723-1728.

Zheng, Mz., Richard, J.L., & Binder, J. (2006). A review of rapid methods for analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*, 161(5), 261-263.

Zinedine, A., Brera, C., Elakhdari, S., Catano, C., Debegnach, F., Angelini, S., *et al.* (2006). Natural occurrence of mycotoxins in cereals and spices commercialized in Morocco. *Food Control*, 17(11), 868-874.

Zinedine, A., Soriano, J. M., Moltó, J. C., & Mañes, J. (2007a). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food and Chemical Toxicology*, 45(1), 1-18.

Zinedine, A., Juan, C., Idrissi, L., & Mañes, J. (2007b). Occurrence of ochratoxin A in bread consumed in Morocco. *Microchemical Journal*, 87(2), 154-158.

Zinedine, A., Soriano, J. M., Juan, C., Mojemmi, B., Molto, J. C., Bouklouze, A., *et al.* (2007c). Incidence of ochratoxin A in rice and dried fruits from Rabat and Sale area, Morocco. *Food Additives and Contaminants*, 24(3), 285-291.

Zinedine, A., & Mañes, J. (2009). Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control*, 20(4), 334-344.

Zinedine, A., Blesa, J., Mahnine, N., El Abidi, A., Montesano, D., & Mañes, J. (2010a). Pressurized liquid extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of ochratoxin A in breakfast and infants cereals from Morocco. *Food Control*, 21(2), 132-135.

Zinedine (2010b). Ochratoxin A in Moroccan Foods: Occurrence and Legislation. *Toxins* 2(5) 1121-1133.
