

comisión del codex alimentarius

S



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 13 (e) del programa

CX/FAC 06/38/25

Febrero de 2006

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS

COMITÉ DEL CODEX SOBRE ADITIVOS ALIMENTARIOS Y CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS

38º período de sesiones

La Haya, Países Bajos, 24 – 28 de abril de 2006

DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE EL DEOXINIVALENOL (DON)

(preparado por los Estados Unidos, con la ayuda de Alemania, Bélgica, Canadá, la Comunidad Europea, la República de Corea, Finlandia, Francia, Japón, los Países Bajos, el Reino Unido y el Consejo Internacional de Asociaciones de Fabricantes de Comestibles)

Información general

1. En su 36º período de sesiones, el Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (CFAC) decidió suspender, por el momento, el examen de los niveles máximos para el deoxynivalenol (DON). En cambio, acordó pedir información sobre: la presencia de DON en los cereales, la influencia de la elaboración, la descontaminación, la clasificación, en la reducción de los niveles de DON; los niveles nacionales o de referencia para el DON; y los procedimientos de muestreo y métodos de análisis, para examinarlos en su próximo período de sesiones (1).

2. En su 37ª reunión, el CCFAC señaló que ya hay disponible más información sobre la presencia de DON en los cereales y en los productos elaborados de cereales, o que estaría disponible pronto en forma más general. El Comité decidió, en consecuencia, pedir al Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) que realizara una evaluación de la exposición a partir de los nuevos datos. A este respecto, el Comité confirmó la importancia de tener en cuenta los alimentos elaborados y los efectos de la elaboración en los niveles de DON (2).

3. El Comité decidió también establecer un grupo de trabajo electrónico dirigido por los Estados Unidos para elaborar un documento de debate a fin de proporcionar datos globales pertinentes, que comprendieran la presencia de DON y los efectos de la elaboración en los niveles de DON, para someterlo a examen en su próxima reunión. Los miembros del grupo de trabajo incluyen a: Alemania, Bélgica, Canadá, la Comunidad Europea, la República de Corea, Finlandia, Francia, Japón, los Países Bajos, el Reino Unido y el Consejo Internacional de Asociaciones de Fabricantes de Comestibles.

Introducción

4. El deoxinivalenol (DON; vomitoxina; “toxina Rd”; 3, 7, 15 trihidroxi-12, 13-epoxi tricotec-9-en-8-ene CAS 51481-10-8), pertenece a una clase de micotoxinas sesquiterpenoides denominadas tricotecenos. Los tricotecenos son producidos por diversos hongos del género *Fusarium*, en especial el *F. graminearum* y el *F. culmorum*, que son patógenos del trigo, el centeno, la cebada, el maíz y otros cereales. La distribución mundial de ambas especies de hongos parece relacionarse con la temperatura. El *F. graminearum* aparece sobre todo en climas más cálidos (3). Los tricotecenos son el grupo más grande de toxinas producidas por el género *Fusarium* (4, 5).

5. Los tricotecenos se subdividen en cuatro grupos, denominados tipos A-D, de acuerdo a su estructura molecular (6). Los tipos A y B son los predominantes y presentan una amplia distribución en los cereales y piensos como contaminantes naturales. El tipo A de los tricotecenos incluye las toxinas T-2 y HT-2, mientras que los tricotecenos del tipo B incluyen el deoxinivalenol, el nivalenol y sus derivados 3- y 15-acetilado. Los tricotecenos del tipo A se caracterizan por la presencia de un carbono saturado a C-8, mientras que los tricotecenos del tipo B tienen un carbonil en la misma posición (7). El deoxinivalenol se encuentra con mayor frecuencia en los cereales, pero pueden concurrir otros tricotecenos con el DON (8). Entre los tricotecenos, los miembros del tipo A son más tóxicos que los miembros del tipo B (9).

6. En todo el mundo hay hongos *F. graminearum* y *F. culmorum* en el suelo, y causan la enfermedad llamada fusariosis en los cereales, que produce DON. Algunos estudios han demostrado que la gravedad de la fusariosis depende sobre todo de efectos climáticos (temperatura, lluvia, humedad) (10). El hongo *F. graminearum* también es la causa principal de la enfermedad llamada pudrición de la mazorca por Gibberella en el maíz, que produce DON. Estos hongos suelen infectar cultivos susceptibles de cereales en el campo cuando el clima es húmedo y fresco, y se sabe que varían de una región a otra, de una estación a la siguiente, así como entre las distintas especies de cereales (12, 13). Estas variaciones pueden asociarse a los períodos de lluvia abundante, entre la etapa de la antesis y el momento de la cosecha, lo que puede propiciar infecciones de *F. graminearum* y la acumulación de tricotecenos estructuralmente relacionados además del deoxinivalenol. Los diversos tricotecenos que componen la mezcla pueden variar de acuerdo al país y la región. El DON es soluble en agua, muy estable durante el almacenamiento y la molienda, relativamente estable en el calor, y se ha constatado que sobrevive casi a todos los métodos de elaboración y cocción, además de que la fermentación no lo destruye por completo (15, 16).

Toxicología

7. El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) examinó la toxicidad del DON y de otras toxinas derivadas de los hongos *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum* en 1993 (17). El CIIC concluyó que la información sobre la carcinogenicidad de las toxinas derivadas del *Fusarium graminearum* para los seres humanos es *inadecuada*, y que a partir de la experimentación con animales la información sobre la carcinogenicidad del DON es *inadecuada*. Además, que las toxinas derivadas de los hongos *F. graminearum* y *F. culmorum* no pueden clasificarse por su carcinogenicidad para los seres humanos (grupo 3).

8. El Consejo Nórdico de Ministros, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), el Comité Científico para la Alimentación (SCF) de la Comisión Europea, la Comisión Técnica Científica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria de Europa y otros investigadores (18-22) han realizado evaluaciones de riesgos y exámenes toxicológicos sobre el DON. El JECFA estableció una máxima ingesta diaria tolerable provisional de 1 µg DON/kg pc. Recientemente se publicaron importantes datos sobre la toxicidad pertinentes para la caracterización de los peligros asociados a los tricotecenos (23, 24).

9. La exposición de algunos animales domésticos al DON produce pérdida del apetito, rechazo de los alimentos y vómito, acompañados por disminución del aumento de peso (21). Se han hecho muchos estudios sobre alimentación con cerdos porque esta especie parece ser más susceptible al DON que las aves de corral, los rumiantes y otros animales del ganado. Se ha registrado un consumo reducido de piensos y menor aumento de peso como principales efectos clínicos observados en los cerdos después de la ingestión de niveles bajos de DON en la alimentación (< 2ppm pienso) en piensos contaminados naturalmente. Dosis más elevadas pueden producir vómito y rechazo total del pienso (25). En numerosos estudios con cerdos, en los que se comparó la respuesta toxicológica de los animales que recibieron alimento al que se añadió una cantidad conocida de DON puro con la respuesta advertida en animales a los que se dio alimento naturalmente contaminado que contenía una cantidad equivalente de DON, y se observó que el alimento naturalmente contaminado producía un efecto más fuerte en los parámetros de la ingesta del pienso y el aumento ponderal que la toxina pura (21). Es posible que la inmunosupresión y los cambios hematológicos e histológicos observados en los animales alimentados con piensos contaminados naturalmente que contenían DON pueda intensificarse por contaminación simultánea con otras micotoxinas. No se sabe por qué los cerdos son más susceptibles al DON que otros animales. Están publicadas las evaluaciones toxicológicas de la evolución de los tricotecenos en animales de laboratorio así como en otras especies animales (19, 26, 27). Una importante conclusión de esas evaluaciones fue que los tricotecenos son excretados rápidamente de los animales y, en consecuencia, no hay una transferencia significativa de estas toxinas de los productos de origen animal a los seres humanos.

10. Se ha registrado intoxicación de personas asociada al consumo de cereales (trigo, cebada, maíz) contaminados por tricotecenos en Corea, Japón, la India, Colombia, China y Sudáfrica (15, 24, 28, 29). Se observaron los siguientes síntomas: náusea, vómito, diarrea, dolor abdominal, dolor de cabeza y vértigo. No es segura la función exacta del DON en esos brotes. Si bien se encontraron niveles relativamente elevados de DON en algunas muestras de maíz con moho y trigo con costras, y se encontraron especies de *Fusarium*, no se pudo demostrar una relación rigurosa entre el DON y los síntomas humanos (29). Sin embargo, los datos epidemiológicos disponibles señalan como posible factor causal de la toxicosis humana aguda los tricotecenos o, específicamente, productos de cereales contaminados por DON.

11. Recientemente se publicó un estudio de la toxicidad del DON y sus posibles efectos en los seres humanos (24). En fecha reciente se produjo un biomarcador (en orina) que puede utilizarse para detectar el DON tanto en las personas como en los animales. El uso de este biomarcador debería facilitar los estudios epidemiológicos de los efectos toxicológicos negativos asociados a esta micotoxina (30). En los granos de los cereales se ha observado la concurrencia de diversas toxinas del *Fusarium*, junto al zearalenone. La presencia de otras toxinas en los cereales es motivo de preocupación debido a la posible interacción de estas toxinas y a sus repercusiones conjuntas en la respuesta toxicológica observada en los animales y en las personas (20,31,32).

Muestreo

12. Es difícil estimar con exactitud y precisión la concentración de micotoxinas en un lote grande de cereales debido a la gran variabilidad asociada al procedimiento de análisis de las micotoxinas. El análisis de las micotoxinas suele constar de tres pasos: (a) se toma del lote una muestra agregada (que consiste de muestras progresivas tomadas de diversos lugares de un mismo lote), (b) la muestra agregada completa se tritura finamente en un molino para reducir el tamaño de las partículas, y se extrae una submuestra de la muestra triturada para extracción con solventes, y (c) se extrae la micotoxina de la submuestra triturada, y se cuantifica con técnicas analíticas (33). La varianza asociada al análisis de micotoxinas que mide el DON en los cereales es la suma del muestreo, la preparación de las muestras y las varianzas analíticas (34).

13. Algunos estudios estadísticos (34) han mostrado que los coeficientes de variación asociados al análisis del trigo son relativamente pequeños en comparación con el análisis de micotoxinas en otros productos, como las aflatoxinas en los cacahuets. La variabilidad más reducida (relativa a la de otras micotoxinas y a otros productos alimentarios) se debe en parte a la cantidad de granos de trigo por masa de unidad (unos 30 granos por gramo), que es aproximadamente 10 veces mayor que la del maíz sin cáscara y 30 veces mayor que la de los cacahuets sin cáscara, si bien también intervienen otros factores. Esto indica que la distribución de la contaminación por DON entre los granos de trigo puede ser menos asimétrica que en el caso de la aflatoxina en otros productos.

14. Se puede reducir la variabilidad asociada al procedimiento de análisis de micotoxinas incrementando el tamaño de la muestra, el grado de trituración de la muestra, el tamaño de la submuestra, y el número de alícuotas cuantificadas (33). Se puede utilizar el conocimiento de la variabilidad asociada a los procedimientos de muestreo de granos de cereales, aunada a la disponibilidad de métodos analíticos convalidados y de información apropiada sobre la distribución y la tolerancia o niveles de referencia para el DON, a fin de: (a) proporcionar una estimación de los errores cometidos en la evaluación de la concentración de DON en lotes de productos de cereales; (2) elaborar planes de muestreo para detectar el DON en los cereales, y (3) seleccionar el tamaño de la muestra o el número de muestras necesarias para reducir la variabilidad total de un procedimiento completo de análisis.

Método analítico

15. Se han creado numerosos métodos analíticos para detectar y cuantificar la presencia de DON y otros tricotecenos. Estas toxinas pueden separarse y analizarse mediante cromatografía de capas finas, diversos procedimientos de cromatografía de líquidos, gases y fluidos supercríticos, así como a través de métodos inmunoquímicos. Existen estudios exhaustivos de metodologías actuales que se pueden utilizar para detección y análisis del DON y otros tricotecenos en los cereales (35-45).

16. Los procedimientos de cromatografía de capas finas para la detección y el análisis del DON son fidedignos y eficaces con relación al costo, para uso en laboratorios que tienen un presupuesto limitado. Los procedimientos de cromatografía de líquidos por sí solos o aunados a la espectrometría de masas y a varios detectores son cada vez más frecuentes en muchos laboratorios para el análisis del DON y otros tipos de tricotecenos de los tipos B y A. También se puede usar la cromatografía de gases para determinar la presencia de muchos tricotecenos. Las toxinas o sus derivados se detectan principalmente mediante ionización de llama, con detectores de captura de electrones o acoplado con un espectrómetro de masas. Siempre que sea posible y asequible, se recomienda sustituir gradualmente los métodos de cromatografía de capas finas para determinar la presencia de DON con otras técnicas cromatográficas avanzadas, idealmente aunadas a un detector espectrométrico de masas.

17. Los métodos inmunoquímicos han recibido mucha atención recientemente porque se pueden utilizar para hacer análisis rápidos sobre el terreno o en el laboratorio, y algunos pueden complementar con eficacia la aplicación de la cromatografía de líquidos o de gases, que se utilizan mucho en la supervisión de rutina. Estos métodos son más sencillos y requieren menos mano de obra. Se han publicado amplios estudios de los métodos inmunoquímicos y de otros métodos rápidos que pueden utilizarse para los tricotecenos (37, 46-47). En las páginas principal del portal de AOAC International se ofrece información sobre materiales para el análisis de micotoxinas (www.aoac.org), así como en el portal de European Mycotoxin Awareness Network (EMAN) (www.mycotoxins.org).

18. Los métodos analíticos cuantitativos utilizados para supervisar y hacer aplicar las normas deberían convalidarse o estudiarse conjuntamente para garantizar que los resultados de los análisis ofrezcan una medida exacta del elemento analizado. Los métodos que se han creado y convalidado para la extracción y detección del DON en los granos enteros de los cereales no se pueden utilizar con eficacia para los productos de cereales elaborados sin introducir modificaciones casi en todos los casos. En la investigación de productos de cereales molidos o elaborados es esencial hacer estudios de recuperación para cada tipo de producto analizado, a fin de determinar si los cambios que se presentan en los niveles del DON representan niveles exactos de la toxina o si representan una recuperación insuficiente de la toxina de la matriz del producto. Hay materiales de referencia certificados para el DON en el trigo y el maíz, y pueden utilizarse para demostrar que el método usado proporciona resultados exactos (37, 48). Se ha determinado que dos normas analíticas para DON cristalino, disponibles comercialmente y utilizadas por algunos laboratorios en todo el mundo, tienen una pureza de >96 y >98%, respectivamente (49).

19. Los métodos oficiales que se utiliza actualmente la AOAC para el análisis del DON en el trigo comprenden la cromatografía de capas finas (método 986.17) y la cromatografía de gases (método 986.18). Varios laboratorios realizaron un estudio de un método de cromatografía de líquidos para determinar la presencia de DON en la harina de trigo entero, harina de trigo blanco y el salvado, y AOAC International lo ha aprobado como método verificado por homólogos (50). Se hizo un estudio internacional entre varios laboratorios para comparar los diversos métodos para el análisis del DON (37, 51). Debido a la presencia natural del DON con otros tricotecenos y la zearalenona, debería hacerse énfasis en la creación y convalidación de métodos capaces de detectar residuos de diversas toxinas. Desde hace poco existe una combinación de cromatografía de líquidos aparejada a métodos de espectrometría de masas para determinar con rapidez y al mismo tiempo la presencia de zearalenona y tricotecenos (52, 53).

Presencia de DON los granos de los cereales

20. La presencia de DON en los granos de los cereales en todo el mundo está bien documentada y reseñada en la bibliografía (9, 15, 54, 55). El trigo, la cebada y el maíz representan en conjunto dos terceras partes de la producción mundial de cereales y son los cultivos más susceptibles a la enfermedad del *Fusarium* y a la contaminación por tricotecenos (56). Se ha encontrado DON en los granos de otros cereales, comprendidos el centeno, la avena, el arroz, y sus productos, en muchas regiones del mundo (9). Unos estudios demostraron que el DON y sus derivados acetilados, en niveles bajos de contaminación, se producen y permanecen localizados en gran proporción en las partes externas de los granos (57). Sin embargo, en niveles más elevados de contaminación, las toxinas pueden distribuirse en forma más uniforme en todo el grano (58). Se sabe que la zearalenona concurre con el DON y otros tricotecenos ya que la produce la misma especie de *Fusarium*. Recientemente se descubrió un glucósido del DON "encubierto" (DON-3-glucósido) que se presenta naturalmente en trigo y maíz infectados de *Fusarium* (59). Se confirmó la identidad del compuesto mediante resonancia magnética nuclear en maíz y trigo contaminados naturalmente, y su presencia oscilaba entre el 4% y el 12% de la concentración del DON.

21. Se han resumido los datos analíticos del DON, obtenidos de estudios realizados en cereales y productos de cereales en muchas partes del mundo entre 1990 y 2000 (60). Se investigó el DON en 15 187 muestras; el 48,1% eran de trigo (media 531 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 61.6% positivas), 20% de maíz (media 230 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 60.3% positivas) y 18,5% de productos de trigo (media 314 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 52.2% positivas). También se encontró DON en otros cereales, como la cebada, la avena, el centeno, el arroz y en productos alimentarios elaborados como la cerveza, panqueques cocidos, alimentos para lactantes y niños pequeños, cereales para el desayuno y compuestos, fideos y galletas a niveles más bajos.

22. En un estudio reciente de la UE en el que participaron 12 de sus países miembros, se analizaron 11 022 muestras de diversos alimentos y materias primas de alimentos para detectar la presencia de DON, nivalenol y las toxinas T-2 y HT-2 (61). El 57% de las muestras dio resultados positivos de DON, y el trigo y los productos de trigo representaron el mayor número de muestras positivas. Entre los cereales, el maíz mostró el nivel más elevado de contaminación con tricotecenos. El 7% de los cereales crudos y la harina contenían niveles de DON de 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o más altos, y el 6% de los productos de cereales contenía niveles de DON de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o más elevados. El trigo y los productos que contienen trigo, como la pasta y el pan, representaron las principales fuentes de ingesta de los cuatro tricotecenos que se midieron.

23. En un estudio de cereales almacenados de la cosecha de 1999 en el Reino Unido, se detectó la presencia de DON en el 88% de 320 muestras de trigo, cebada y avena analizadas; el 83% era inferior a 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$; el nivel máximo fue de 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$. En las muestras que presentaron niveles de DON superiores a 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ también se detectó nivalenol a 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ o más (62).

24. En Croacia se tomaron 465 muestras de cereales para piensos y se analizaron en un período de 7 años, en las instalaciones de almacenamiento de los fabricantes y las explotaciones agrícolas (63). Se detectó la presencia de DON en niveles que oscilaron de 50 a 340 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el 41,2% de las muestras. Casi todas las muestras eran de piensos para aves de corral.

25. Se analizaron 272 muestras de avena después de la cosecha en una zona del suroeste de Alemania en un período de 5 años (64). La toxina predominante fue el DON, con una frecuencia de 149% al 85%, y en las muestras positivas con un nivel medio de 52-302 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Se observó una correlación entre la presencia y los niveles de tricotecenos en la avena y la abundancia de la lluvia en los meses del verano, antes de la cosecha.

26. En Rusia se hizo un estudio de la presencia de DON en los granos de cereales cosechados en un período de 3 años (65). Se detectó la presencia de DON en el 69% de 2 166 muestras de trigo almacenado, de la principal región epidémica de *Fusarium* de Rusia. Los niveles de contaminación oscilaban de 100 a 8 600 $\mu\text{g}/\text{kg}$, y se observó una correlación positiva entre la concentración de DON y el porcentaje de grados de trigo dañados por el *Fusarium*. Se detectó la presencia de DON en el 11% de 1 908 muestras de trigo para alimento recién cosechado; los niveles de concentración de DON eran de 50 a 6 650 $\mu\text{g}/\text{kg}$. La frecuencia y los niveles de DON en la cebada y el centeno recién cosechados fueron considerablemente inferiores que en el caso del trigo.

27. En Arabia Saudita se tomó un total de 843 muestras de piensos y alimentos comerciales que se analizaron para detectar la presencia de tricotecenos en un período de 3 años (66). El tricoteceno fue el DON más frecuente que se encontró (13% de todas las muestras positivas analizadas) y los niveles oscilaron de <2 a 4,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Estuvo presente en el 21% de las muestras de maíz y en el 18% de los piensos para aves de corral, pero la concentración mayor se registró en las muestras de cebada, en las que presentó una concentración promedio de 2 553 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

28. De 1994 a 2003, en los Estados Unidos, se tomaron y analizaron 2 524 muestras de trigo para medir las concentraciones de DON (67). El 41% contenía DON en niveles inferiores a 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$; el 18.6 % presentó niveles de >500 a 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$; el 39,8% contenía de >1 000 a 6 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el 0,6 % presentó niveles de > 6 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

29. Entre 1993 y 2003, en los Estados Unidos, se tomaron y analizaron 2 106 muestras de cebada para detectar la presencia de DON (67). El 38% presentó niveles de DON inferiores a 490 $\mu\text{g}/\text{kg}$; el 14,5 % presentó niveles de 490 a 990 $\mu\text{g}/\text{kg}$; el 28,5 % contenía de >990 a 4,990 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el 18.6% contenía de 4 990 a >5,000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Respecto al trigo, se observó una variación de un año a otro en los niveles de DON.

30. En los primeros tres años (2001-2004) de un proyecto de cinco años de duración que se llevó a cabo en el Reino Unido para observar los factores agronómicos que repercuten en la producción de toxinas del *Fusarium*, comprendido el DON, se analizaron 1 200 muestras de trigo (68). El 97% contenía menos del límite establecido por la UE de 1 250 µg/kg de DON. El lugar fue un factor importante aunque no fue constante en todos los casos, de un año al siguiente. El riesgo de contaminación por DON fue elevado en los casos en que se producía un cultivo de trigo seguido de un cultivo de maíz. No se advirtió diferencia entre los niveles de DON detectados en las muestras de trigo obtenidas de cultivos orgánicos y de cultivos convencionales.

31. En los Países Bajos, de 1998 a 2004, se analizaron 2 924 muestras de trigo para medir las concentraciones de DON (69). El contenido medio de DON en el trigo fue de 580 µg/kg en 1998, año de mayor contaminación por *Fusarium*. En los otros años, los niveles medios de DON oscilaron entre 190 y 317 µg/kg. También se calculó el efecto de los diferentes límites de DON en el contenido promedio de DON de los lotes de trigo aprobados para la venta a la industria molinera.

32. En Japón, en 2001 y 2002 se analizaron 136 muestras de trigo descascarillado (70). El 77% de las muestras analizadas en 2001 contenían un nivel promedio de DON de 286 µg/kg. Además, entre 2002 y 2004 se analizaron 638 muestras de trigo descascarillado (de producción doméstica). El 37% contenía DON con niveles máximos de 2 100 (2002), 580 (2003) y 930 (2004) µg/kg. Los niveles del percentil 90 fueron de 570 µg/kg (2002), 260 µg/kg (2003) y 140 µg/kg (2004).

Estudios para reducir los niveles de DON en los cereales

33. Se han utilizado diversos procedimientos materiales, que comprenden: limpieza, lavado, tamizado, segregación por densidad, descascaramiento, fragmentación de acuerdo a un cuadro específico de gravedad, y pulido, por separado o aunados a los procedimientos de trituración para reducir el nivel de DON en los cereales. La eficacia de estos procedimientos dependió del alcance de la contaminación y de la distribución de la toxina en todo el grano (71, 72). Los procedimientos de trituración para eliminar el DON del trigo y de otros cereales depende fundamentalmente de la separación material de las capas externas más contaminadas del grano.

34. El molido en seco es un procedimiento a través del cual los elementos de los granos de los cereales se separan en fragmentos a partir del tamaño de la partícula. Los diferentes fragmentos, como en el caso de la harina y la sémola, conservan casi todas las características del grano original (16). Los estudios realizados han demostrado que en el trigo molido se encuentran concentraciones mayores de tricotecnos en los fragmentos de salvado que en el trigo original, con concentraciones menores en la harina blanca (72-75). Las técnicas de elaboración de la harina pueden reducir los niveles de DON por un factor aproximado de 2 o superior. La medida en que el molido en seco puede reducir el nivel de DON en la harina depende del alcance de la penetración fúngica en el endosperma del grano de trigo y en la distribución del DON en el interior de los granos. El alcance de la penetración fúngica depende del cultivo de trigo de que se trate (76, 77). El molido en seco de maíz contaminado por DON revela la concentración del DON en la fracción de sémola del germen (78).

35. El molido en húmedo es un proceso muy utilizado en el maíz para obtener almidón, que puede utilizarse para producir jarabes y otros productos para consumo humano. Dado que el DON es muy soluble en agua, se divide en la fase líquida durante el procedimiento de molido en húmedo, y deja una acumulación insignificante en el residuo sólido utilizado para los productos alimentarios (16, 79).

36. Se ha analizado la eficacia de numerosas sustancias químicas líquidas y gaseosas para reducir los niveles de DON en los cereales contaminados. Casi todas las sustancias químicas estudiadas produjeron una reducción escasa o insignificante de los niveles de DON (71, 72). Se descubrió que el bisulfito de sodio reduce los niveles de DON en el maíz, pero no se puede utilizar directamente en los alimentos para consumo humano porque afecta las propiedades reológicas de la harina, y el aducto de DON que se forma no es estable y en ciertas condiciones de elaboración se hidroliza de nuevo en DON (76).

37. Se han creado procedimientos de radiación ionizante, extrusión y aplicación de calor, para reducir los niveles de DON en cierta medida y en condiciones muy específicas. Sin embargo, no existe actualmente método alguno disponible para eliminar por completo el DON de los cereales (71, 80).

38. El Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Pesca de Japón financia investigación para crear máquinas clasificadoras por color y máquinas perladoras para los granos de trigo (70). Los experimentos iniciales revelan que los prototipos de estas máquinas pueden servir para separar los granos de trigo contaminados por DON de los granos sin contaminar.

El DON en los productos elaborados

39. El procedimiento utilizado para convertir cereales crudos y molidos en alimentos para consumo humano tiene considerables repercusiones en los niveles de DON en los productos finales. Los seres humanos están expuestos a la contaminación por DON principalmente a consecuencia de la contaminación de los productos terminados. El DON es una molécula relativamente estable en el calor; es estable a 120°C, moderadamente estable a 180°C, y parcialmente estable a 210°C. El DON es soluble en agua y estable en condiciones de escasa presencia de ácido, pero no es estable en álcalis (19).

40. En Dinamarca, entre 1998 y 2001, se tomó un total de 190 muestras de harinas de trigo común, trigo duro y centeno, en molinos y mercados minoristas, y se analizaron para medir las concentraciones de DON y nivalenol (13). El DON mostró una frecuencia de 78% a través de todas las muestras y todos los años. El nivel de contaminación varió de año a año. La frecuencia y los niveles de DON más elevados se encontraron en las muestras de trigo y de centeno de la cosecha de 1998, lo que se atribuyó a la temporada extraordinariamente fría y húmeda de ese año. Las concentraciones medias que presentaron las muestras de harinas de trigo y de centeno fueron de 191 µg/kg y 99 µg/kg, respectivamente. Se encontró DON aproximadamente en el 50% de las muestras de centeno recogidas entre 1998 y 2000, con una concentración promedio de 49 µg/kg. La harina de trigo duro mostró el nivel de contaminación por DON más elevado, y todas las muestras tomadas en 2000 y 2001 contenían concentraciones medias y medianas de DON superiores a 100 µg/kg. Más del 70% de las muestras contenían más de 500 µg/kg de DON, y la concentración más alta observada fue de 2 591 µg/kg.

41. De 60 muestras de trigo analizadas en Argentina para detectar la presencia de DON, el 93,3% resultó contaminado, y el nivel promedio fue de 1 798 µg/kg (81). Se analizaron 61 muestras de harina de trigo, y el nivel promedio de DON fue de 1 309 µg/kg; el nivel promedio de DON en 42 distintos productos de horno fue de 464 µg/kg. Se hizo este estudio en muestras de la cosecha de trigo de 1993-1994, cuya temporada fue lluviosa.

42. En los años de 2001 a 2004 se analizó un total de 4 965 muestras de alimentos, compradas en el mercado alemán, para detectar la presencia de DON en Alemania (82). Se encontró DON casi en todos los alimentos que contenían cereales, con una frecuencia superior al 50%. En alimentos como el pan, panecillos y la pasta, la frecuencia ordinaria de DON fue de entre 70% y 90%. La contaminación por DON más elevada se encontró en el trigo duro y sus productos. Las concentraciones medianas de DON fueron de 2 a 10 veces más elevadas que las de otros cereales frecuentemente contaminados (trigo blando, maíz y productos derivados), con niveles máximos de DON de 2 000 a 3 000 µg/kg. Los niveles promedio medios y medianos de DON casi en todos los productos, con escasas excepciones, estuvieron muy por debajo de los niveles máximos actualmente permitidos en Alemania (de 100 a 500 µg/kg). Se observaron diferencias cualitativas y cuantitativas relativamente menores en la contaminación de alimentos por DON entre los años. No se apreciaron diferencias regionales, si bien la frecuencia y los niveles resultaron muy inferiores en los productos de agricultura orgánica que en los de producción ordinaria.

43. Se recogió y analizó un total de 562 productos elaborados con trigo del año agrícola 1993 en los Estados Unidos (83). Los porcentajes de las muestras que presentaron una contaminación por DON superior a 1 000 µg/kg en el salvado, harina blanca y harina de trigo entero, y en muestras diversas de prueba, fue de 12%, 10%, 16% y 5%, respectivamente. Alrededor del 52%, 50%, 40% y 27% de las mismas muestras de prueba presentaron contaminación por DON en niveles de >100 µg/kg. El cultivo de trigo de 1993 en la región centrooccidental de los Estados Unidos experimentó un clima frío y húmedo durante los meses de primavera y verano, por lo cual se produjeron elevados niveles de DON en la cosecha de ese año.

44. En los Estados Unidos, entre 2000 y 2004 se examinó un total de 728 productos de trigo (67). El porcentaje de las muestras que presentó una contaminación por DON superior a 1 000 µg/kg en productos de salvado de trigo, harina de trigo y otros productos de trigo molido fueron de 17,5%, 1% y 1,8%, respectivamente. Las mismas muestras de prueba que presentó una concentración superior a 100 µg/kg tuvieron un porcentaje de 31%, 37% y 36%, respectivamente.

45. Se estudió el contenido de diversas micotoxinas en alimentos de cereales para el desayuno para adultos, del mercado minorista canadiense, en un período de 3 años, de 1999 a 2000. Según el año de que se tratara, se detectó la presencia de DON en del 40% al 59% de las muestras, con niveles medios de 10 a 70 $\mu\text{g}/\text{kg}$. (84).

46. Se estudió el contenido de diversas micotoxinas en alimentos de cereales para lactantes y para niños pequeños, del mercado minorista canadiense, en un período de 3 años. Se detectó la presencia de DON en el 63% de las muestras, con niveles medios de 32 a 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (85). En otro estudio similar de alimentos a base de cereales para lactantes y para niños pequeños realizado en el suroeste de Alemania, se detectó la presencia de DON en el 60% de las muestras, en las que los niveles de DON oscilaron entre 15 y 314 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (86).

47. Un estudio de 101 tipos de pan comercialmente disponibles en el mercado alemán en 1999 reveló niveles de frecuencia de la presencia de DON, nivalenol y 3-acetildeoxinivalenol de 92%, 5% y 8%, respectivamente. Los niveles medianos en las muestras positivas fueron de 134, 25 y 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente (87). Los niveles de DON fueron inferiores en muestras de pan producido con cereales orgánicos, en comparación con los cereales ordinarios, pero hay muchos factores que pueden contribuir a las diferencias observadas entre los cereales orgánicos y los cereales ordinarios, y sus productos de molino y terminados (88).

48. En Alemania se recogieron en tiendas de alimentos y tiendas de alimentos orgánicos 219 muestras de alimentos a base de cereales, pseudocereales y alimentos libres de glúten (89). Se analizaron estas muestras para observar 13 toxinas de tricoteceno, comprendido el DON, 3-acetil DON, 15-acetil DON y nivalenol. Las frecuencias de contaminación fueron de 57%, 1%, 13% y 10%, respectivamente. El nivel más alto de DON fue de 389 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mientras que los niveles de otras toxinas fueron inferiores a 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

49. En 1999, en una zona del suroeste de Alemania se recogieron 60 muestras de harina de trigo entero en molinos y tiendas de alimentos (57). La toxina predominante que se detectó fue el DON. En el total de las muestras, la frecuencia observada de DON, nivalenol, 3-acetil DON, 15-acetil DON, HT-2, T-2 y zearalenona, fueron de 98%, 12%, 2%, 3%, 7%, 2% y 38%, respectivamente. Los niveles medianos de las pruebas positivas fueron de 199, 25, 11, 15, 12, 4 y 3 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente.

50. La Agencia de Normas Alimentarias del Reino Unido recogió 335 muestras de avena del mercado minorista y las analizó en un período de seis meses, en 2003 (90). Se detectó la presencia de un total de 6 tricotecenos, en niveles que oscilaron de 10 a 404 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en el 52% de las muestras. Entre los tricotecenos más comunes estuvieron el DON y las toxinas T-" y HT-2.

51. En el Reino Unido, en 2003, un estudio analizó de 377 muestras de cereales del mercado minorista para observar la presencia de diversos tricotecenos (91). En 298 muestras se encontraron concentraciones detectables de toxinas: las más frecuentes fueron el DON y el nivalenol. Los niveles más elevados de DON se observaron sobre todo en cereales para el desayuno y golosinas a base de maíz, en concentraciones de 2 261 y 879 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente.

52. En 2002 y 2003 se analizaron 164 muestras de harina de trigo en Japón (70). El 85% de las muestras analizadas contenía un nivel promedio de DON de 138 $\mu\text{g}/\text{kg}$. El 74% de las muestras de 2003 contenía un nivel promedio de DON de 43 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Se atribuyó la disminución de la concentración de DON en las muestras de harina de 2003 al nivel máximo provisional para el DON en el trigo descascarillado de 1,1 mg/kg, establecido por el Gobierno del Japón en mayo de 2002.

53. Los organismos de reglamentación de los Países Bajos analizaron muestras de cereales y productos de cereales para observar la presencia de DON en los años de 2001 a 2004 (69). De las 447 muestras de cereales sin elaborar analizadas, el 19% contenía niveles de DON inferiores a 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, el 52% contenía niveles de entre 100 y 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$, el 2% presentó niveles de entre 750 y 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, y el 3% presentó niveles superiores a 1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Se analizaron asimismo 239 muestras de harina leudante para detectar la presencia de DON; el 91% de estas muestras presentó niveles de DON inferiores a 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el 9% niveles inferiores a 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$. También se analizaron con el mismo objetivo 447 muestras de pasta; el 95% de estas muestras contenía menos de 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de DON, el 4% contenía entre 500 y 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el 3% presentó más de 750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de DON. La concurrencia de ocratoxina A se observó en algunas muestras de la harina y cereales sin elaborar.

Estudios relacionados con la reducción de los niveles de DON en los alimentos elaborados

54. Se han publicado estudios exhaustivos de la influencia y la eficacia de diversos procedimientos de elaboración utilizados para reducir los niveles de DON en los productos de granos de cereales molidos, la cerveza y los productos terminados de panadería. (71, 91-93).

55. En muchos países se están investigando actualmente posibles medios para reducir los niveles de DON en los productos alimentarios terminados elaborados con cereales crudos que pudieran estar contaminados por DON. En este tipo de estudios es importante utilizar granos de cereales naturalmente contaminados (infectados en el campo) como material de partida, porque la pauta de la infección del *Fusarium* en los granos es decisiva para los efectos de la elaboración en las toxinas (91).

56. En el Reino Unido, en colaboración con la industria de los cereales se está desarrollando una actividad orientada a medir los niveles de las micotoxinas del *Fusarium*, comprendido el DON, en los cereales crudos (trigo, maíz y avena), para determinar la forma en que las principales etapas de elaboración del alimento repercuten en la contaminación del producto alimentario final (68). Esta investigación tiene como objetivo determinar los factores que afectan los niveles de toxinas en cada etapa del procedimiento, mediante estudios a escala en el laboratorio y experimentales, y muestreo de las plantas de producción. El conocimiento que produzca este proyecto tiene como finalidad ayudar a la industria a reducir ulteriormente la contaminación por micotoxinas. Esta labor también contempla la formación de metabolitos y residuos ligados, y de todas las consecuencias toxicológicas derivadas de los mismos.

57. En Argentina se llevó a cabo recientemente un estudio para determinar la distribución del DON en diversas fracciones de la trituración de trigo naturalmente contaminado, con un proceso de molienda industrial (75). Los niveles de DON en el trigo crudo, la harina, el salvado y el gluten fueron de 1 928, 4 680 y 293 µg/kg, respectivamente.

58. En Argentina se evaluó experimentalmente la estabilidad del DON en la harina de trigo durante la fermentación en la producción de pan (94). Con harina que contenía 150 µg/kg de DON, fermentando la masa a 50°C, redujo un 56% el nivel de DON, en el pan tipo vienés, y 40% en el pan tipo francés. Los investigadores concluyeron que la reducción del DON durante la elaboración del pan podría deberse a algunos procesos que ocurren durante la fermentación con levadura y no sólo a la descomposición térmica.

59. En Alemania se llevó a cabo recientemente un minucioso estudio para determinar la influencia de la infección de *Fusarium* en el trigo en la calidad de este cereal para elaborar productos de panadería (95). Los resultados indicaron que cuando hay elevados niveles de infección de *Fusarium* acompañados por elevados niveles de DON, no necesariamente se deteriora la calidad para elaborar pan del trigo contaminado de DON.

60. Se puso en marcha un estudio para determinar el alcance de la reducción de los niveles de DON que podría producirse durante varios pasos de la elaboración de trigo duro naturalmente contaminado y sin limpiar, para producir fideos cocidos (12). Respecto al trigo sin limpiar, los niveles promedio de DON disminuyeron al 77% en el trigo limpio, 37% en la semolina, 33% en los espagueti crudos y 20% en los espagueti cocidos. Los niveles promedio de DON en los tamizados, el salvado y la harinilla fueron 4,1, 1,6 y 0,6 veces respectivamente, con relación al trigo sin limpiar. Los resultados de este estudio indican conservadoramente que la pasta cocinada retiene 25% o menos del nivel de DON presente en los cereales.

61. En Japón se estudió recientemente la retención de DON en procedimientos en los que hay trituración y producción de alimentos terminados con trigo naturalmente contaminado (96). La harina molida conservó entre 40% y 55% de la concentración original de DON del trigo crudo, y se encontró casi el 200% de la concentración de DON en la fracción de salvado. Al elaborar pan con la harina, se mantuvo el mismo nivel de DON que había en la masa. Durante la elaboración de fideos de trigo de tipo japonés, sólo se detectó en los fideos cocidos el 30% del DON que había en la masa, los elementos sólidos del agua de cocción retuvieron el 44,7% de los niveles de DON. La reducción general de la contaminación por DON en el producto terminado se estimó conservadoramente en 51% para el pan y 14% para los fideos.

Estado de reglamentación

62. Por lo menos 37 países han establecido límites reglamentarios o niveles de referencia para la presencia del DON en los alimentos y los piensos (97). Los niveles de referencia para el cereal y los productos terminados de cereales para consumo humano oscilan de 100 µg/kg a 2 000 µg/kg. Los niveles de referencia para el DON en la alimentación de los cerdos, las aves de corral y el ganado oscilan de 500 µg/kg a 10 000 µg/kg, de acuerdo a la edad de la especie de animal.

Gestión de riesgos (control)

63. No existe hoy en día un método práctico único disponible para reducir significativamente los niveles de contaminación por DON en el trigo y en otros cereales. Diversos procedimientos físicos y químicos han logrado reducir con eficacia la contaminación por DON en los cereales cosechados, en diversas medidas. Sin embargo, la tecnología actual no puede impedir que los cultivos de cereales se contaminen con DON y los tricotecenos relacionados antes de la cosecha. La frecuencia y los niveles de DON en los cultivos de cereales de todo el mundo varían considerablemente, de acuerdo a muchos factores, comprendidas las condiciones ambientales, el cultivar del cereal plantado, y las prácticas agronómicas tradicionales utilizadas en los diversos países. Para la gestión del riesgo asociado a la contaminación por DON en los cereales, se requiere un sistema integrado de gestión de riesgos, que incluye la gestión previa a la cosecha (comprende las buenas prácticas agrícolas), gestión de la cosecha (comprende el momento de la cosecha, y el control de la temperatura y la humedad durante el transporte y almacenamiento de los cereales) y la gestión postcosecha (incluye las buenas prácticas agrícolas, descontaminación y estrategias de diversificación), con aplicación de medidas de control adecuadas en cada nivel (98). Antes de que se puedan tomar decisiones internacionales para la gestión de riesgos a largo plazo es necesario tener más información de la variabilidad anual de los niveles de DON en los cereales producidos en muchas partes del mundo, así como de las pautas de consumo de diversas poblaciones.

64. En 2003, la Comisión del Codex Alimentarius (CAC) aprobó el *Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas, con anexos sobre la ocratoxina A, la zearalenona, las fumonisinas y los tricotecenos* (CAC/RCP 51-2003). La aplicación de las prácticas señaladas en el documento, aunada a los adelantos en las técnicas postcosecha, condiciones adecuadas de secado y almacenamiento, seguidas de buenas prácticas de fabricación (BPF), pueden reducir considerablemente los niveles de DON en el suministro de alimentos.

65. La bibliografía científica ha publicado recientemente estudios exhaustivos sobre los sistemas agrícolas y las prácticas agrícolas previas y posteriores a la cosecha que pueden reducir o prevenir la contaminación por *Fusarium* de los cultivos de cereales (10, 99-101).

Conclusiones y recomendaciones

66. Codex member states should be encouraged to continue to submit data from surveys of levels of DON in cereal products in their countries, using validated analytical methods, and over a period of several years to reflect seasonal variations. These data would be used, taking into account regional differences in food consumption patterns, to determine exposure estimates and for use in developing an appropriate international standard for DON in wheat. Debería alentarse a los países miembros del Codex a seguir presentando datos de estudios sobre los niveles de DON en los productos de cereales de sus países, utilizando métodos analíticos convalidados, y durante un período de varios años, a fin de representar las variaciones estacionales. Estos datos se utilizarían, teniendo en cuenta las diferencias regionales de las pautas de consumo de los alimentos, para determinar estimaciones de la exposición, así como para elaborar una norma internacional adecuada para el DON en el trigo.

67. Debería fomentarse la investigación de cultivares de cereales (específicamente trigo) resistentes al desarrollo de *F. graminearum* y *F. culmorum*, y a la fusariosis del trigo, enfermedad que puede desarrollarse en este cereal. También deben alentarse estrategias que se puedan aplicar para ayudar a evitar la producción de tricotecenos en los granos de los cereales.

68. Debería promoverse y proseguirse la investigación de métodos para evitar y reducir la contaminación de los granos de los cereales por especies de *Fusarium* en el campo, durante el almacenamiento y la elaboración. Se necesita entender mejor la interacción entre el *Fusarium* y los cereales, en las infecciones sintomáticas y asintomáticas de los cereales en el campo. Se necesitan estudios para reconocer y determinar la toxicidad de los productos debida a la degradación y modificación química del DON y otros tricotecenos, a consecuencia de diversos procedimientos de elaboración.

69. El CCFAC debería postergar la elaboración de normas internacionales hasta que se disponga de más datos regionales sobre la frecuencia y los niveles de DON en los cereales durante un período de varios años. También se requiere información adecuada para determinar las pautas de consumo de diversos países.

70. Es necesario investigar la toxicidad del 3-acetil y el 15-acetil DON que ocurren junto con el DON, con relación a su contribución a la toxicidad general del DON, ya que a menudo se presentan en niveles del 10% al 20% del nivel del DON.

Bibliografía

1. ALINORM 04/27/12, §158.
2. ALINORM 05/28/12, § 149,150.
3. Miller J.D., Greenhalgh, R., Wang, Y-Z. y Lu, M. Trichothecene chemotypes of three *Fusarium* species. *Mycologia* 83: 121-130, 1991. .
4. Krska, R., Baumgartner S. y Josephs, R. The state-of-the-art in the analysis of type-A and type-B trichothecene mycotoxins in cereals. *Fresenius J. Analytical Chemistry* 371:285-289, 2001.
5. Yoshizawa, T. y Jin, Y-Z. Natural occurrence of acetylated derivatives of deoxynivalenol and nivalenol in wheat and barley in Japan. *Food Addit Contam* 12: 689-694, 1995.
6. Ueno, Y. *Trichothecenes-Chemical Biological and Toxicological Aspects*. Elsevier Science Publishers , New York, pp.7-111, 1983
7. Ueno, Y. *Trichothecenes in food*. En: Krogh, P. (Ed.). *Mycotoxins in Food*. Food Science and Technology. Academic Press, Londres. pp. 123-147, 1987.
8. Chelkowski, J. Distribution of *Fusarium* species and their mycotoxins in cereal grains. En: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha y D. Bhatnager (Eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp 45-64, 1998.
9. Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., y Macdonald, A.M.C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science Technology* 78:21-37, 1999.
10. Champeil, A., Fourbet, J.F., Dore, T. y Rossignol, L. Influence of cropping system on *Fusarium* head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Protection* 23:531-537 2004.
11. Sutton, J.C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4:195-209, 1982.
12. Visconti, A., Haidukowski, E.M., Pascale, M.y Silvestri, M. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology Letters* 153:181-189, 2004.
13. Rasmussen, P.H., Ghorbani, F. y Berg, T. Deoxynivalenol and other *Fusarium* toxins in wheat and rye flours on the Danish market. *Food Addit. Contam.* 20(4):396-404, 2003.
14. Trigo-Stockli, D.M., Sanchez-Mariflez, R.I., Cortez-Rocha, M.O. y Pedersen, J.R. Comparison of the distribution and occurrence of *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol in hard red winter wheat for 1993-1996. *Cereal Chem.* 75(6):841-846, 1998.
15. Scott, PM. Trichothecenes in grains. *Cereal Foods World* 35:661,1990.
16. Bennett, G.A.y Richard, J.L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology* 50(5): 235-238,1996.
17. IARC. Toxins derived from *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, and *F. crookwellense*: zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol and fusarenone X. IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans, pp. 397-444, 1993.
18. Eriksen, G.S. y Alexander, J. (EDS). *Fusarium* toxins in cereals-a risk assessment. Consejo Nórdico de Ministros. TemaNord 502, pp. 1-115, Copenhagen, 1998.
19. Canady, R.A., Coker, R.D., Egan, S.K., Krska, R., Kuiper-Goodman, T., Olsen, M., Pestka, J., Resnik, S. y Schlatter, J. Deoxynivalenol. En: *Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food*. WHO Food Additive Series 47. pp. 419-555, Organización Mundial de la Salud, Ginebra 2001.
20. SCF (Scientific Committee on Food) Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol, adopted on 26 February 2002. Comisión Europea SCF/CS/CNTM/MYC/27, Final. http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf
21. The EFSA Journal. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed (Question N° EFSA-Q-2003-036) Aprobado el 2 de junio de 2004.
22. Pieters, M.N., Freijer, J.L., Baars, A.J., Fiolet, D.C.M., van Klaveren, J. y Slob, W. Risk assessment of deoxynivalenol in food. Concentration limits, exposure and effects. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504.:235-248, 2002.

23. Schlatter, J. Toxicity data relevant for hazard characterization. *Toxicology Letters* 153:83-89 2004.
24. Pestka, J.J. y Smolinski, A.T. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B*: 39-69, 2005.
25. Rotter, B.A. y Prelusky, D.B. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health.* 48:1-34, 1996.
26. Eriksen, G.S. and Pettersson, H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 114: 205-2239, 2004.
27. Prelusky, D.B. Residues in food products of animal origin. En: Miller, J.D., Trenholm, H.L. (EDS). *Mycotoxins in Grain. Compounds Other Than Aflatoxin.* Eagen Press, St. Paul, MN, pp 405-414, 1994.
28. Li, F-Q., Li, Y.W., Luo, X.Y. y Yoshizawa, T. *Fusarium* toxins in wheat from an area in Henan Province, PR China, with a previous human red mold intoxication episode. *Food Addit. Contam.* 19(2):163-167, 2002.
29. Henry, S.H. y Bosch, F.X. Foodborne disease and mycotoxin epidemiology. En: Hui, Y.H., Smith, R.A. y Spoerke, D.G.(EDS). *Foodborne Disease Handbook*, Marcel Dekker, Inc. New York, pp.593-626, 2000.
30. Meko, F.A., Turner, P.C., Ashcroft, A.E., Miller, J.D., Qiao, Y.L., Roth, M.J. y Wild, C.P. Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. *Food Chem. Toxicol.* 41:265-273, 2003.
31. Speijers, G.J.A. y Speijers, M.H.M. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters* 153:91-98, 2004.
32. Sudakin, D.L. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters.* 143, 97-107, 2003.
33. Whitaker, T.B. Sampling techniques. En: *Methods in Molecular Biology, Vol. 157: Mycotoxin Protocols.* M.W. Trucksess y A.E. Pohland (Eds.). Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 11-24, 2000.
34. Whitaker, T.B., Hagler, W.M., Giesbrecht, F.G. y Johansson, A.S. Sampling, sample preparation, and analytical variability associated with testing wheat for deoxynivalenol. *J. AOAC Int.* 83(5):1285-1292, 2000.
35. Lombaert, G.A. Methods for the determination of deoxynivalenol and other trichothecenes in foods. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504: 141-153, 2002..
36. Koch, P. State of the art of trichothecenes analysis. *Toxicology Letters* 153: 109-112, 2004.
37. Krska, R., Welzig, E., Berthiller, F., Molinelli, A. y Mizaikoff, B. Advances in the analysis of mycotoxins and its quality assurance. *Food Addit. Contam.* 22(4): 345-353, 2005.
38. Scott, P.M. Mycotoxin methodology. *Food Addit. Contam.* 12(3): 395-403, 1995.
39. Langseth, W. y Rundberget, T. Instrumental methods for determination of nonmacrocylic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures. *J.Chromatogr. A*, 815:103-121, 1998.
40. Lin, L., Zhang, J., Wang, P., Wang, Y. y Chen, J. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *J. Chromatogr. A* 815:3-20, 1998.
41. Yoshizawa, Y. Chromatographic methods for trichothecenes. En: *Methods in Molecular Biology, Vol. 157: Mycotoxin Protocols.* M.W. Trucksess and A.E. Pohland (Eds.). Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp.115-129. 2000.
42. Cavaliere, C., D'Ascenzo, G., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. y Lagana, A. Determination of type B trichothecenes and macrocylic lactone mycotoxins in field contaminated maize. *Food Chem.* 92: 559-568, 2005.
43. Berthiller, F., Schuhmacher, R., Buttinger, G. y Krska, R. Rapid simultaneous determination of major type A- and B- trichothecenes as well as zearalenone in maize by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1062:209-216, 2005.
44. Biselli, S. y Hummert, C. Development of a multicomponent method for *Fusarium* toxins using LC-MS/MS and its application during a survey for the content of T-2 toxin and deoxynivalenol in various feed and food samples. *Food Addit. Contam.* 22(8): 752-760, 2005.
45. MacDonald, S.J., Chan, D., Brereton, P., Damant, A. y Wood, R. Determination of deoxynivalenol in cereals and cereal products by immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography: interlaboratory study. *J.AOAC Int.* 88(4): 1197-1204, 2005
46. Wilson, D.M., Sydenham, E.W., Lombaert, G.A., Trucksess, M.W., Abramson, D. y Bennett, G.A.. *Mycotoxin analytical techniques.* En: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety.* K.K. Sinha and D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp135-182, 1998.

47. Schneider, E., Curtui, V., Seidler, C., Dietrich, R., Usleber, E. y Martlbauer, E. Rapid methods for deoxynivalenol and other trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:113-121, 2004.
48. Josephs, R.D., Derbyshire, M., Stroka, J., Emons, H. y Anklam, E. Trichothecenes: reference materials and method validation. *Toxicology Letters* 153:123-132 2004.
49. Krska, R., Szente, E., Freudenschuss, M., Hametner, C. y Zoller, P. Purity assessment of commercially available crystalline deoxynivalenol. *J. AOAC Int.* 87(4): 909-919 2004..
50. Trucksess, M., Page, S., Wood, G. y Cho, T. Determination of deoxynivalenol in white flour, whole wheat flour, and bran by solid phase extraction/liquid chromatography: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 81:880-886. 1998.
51. Joseph, R.D., Schuhmacher, R. y Krska, R. International interlaboratory study for the determination of the *Fusarium* mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol in agricultural commodities. *Food Addit. Contam.* 18(5):417-430, 2001.
52. Biselli, S., Hartig, L., Wegner, H. and Hummert, C. Analysis of *Fusarium* toxins using LC-MS-MS. Application to various food and feed matrices. *LC-GC North America*, 23 (4): 404-416, 2005.
53. Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. y Lagana, A. Development of a multiresidue method for analysis of major *Fusarium* mycotoxins in corn meal using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 19(14): 2085-2093, 2005.
54. Tanaka, T., Hasegawa, A., Yamamoto, S., Lee, U-S., Sugiura, Y. y Ueno, Y. Worldwide contamination of cereals by the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone. 1. Survey of 19 countries. *J. Agric. Food Chem.* 36: 979-983, 1988.
55. Jelinek, C.F., Pohland, A.E. y Wood, G.E. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72(2):223-230, 1989.
56. Abramson, D. Mycotoxin formation and environmental factors. En: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K.Sinha y D. Bhatnagar (EDS). Marcel Dekker, Inc., New York, pp.255-277, 1998.
57. Schollenberger, M., Jara, H.T., Suchy, S., Drochner, W. y Muller, H-M. *Fusarium* toxins in wheat collected in an area in southwest Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 72:85-89, 2002.
58. Scott, P.M., Kanhere, S.R., Dexter, J.E., Brennan, P.W. y Trenholm, H.L. Distribution of the trichothecene mycotoxin deoxynivalenol (vomitoxin) during the milling of naturally contaminated hard red spring wheat and its fate in baked products. *Food Addit. Contam.* 1(4): 313-323, 1984.
59. Berthiller, F., Dall'Asta, C., Schuhmacher, R., Lemmens, M., Adam, G. y Krska, R. Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53:3421-3425, 2005.
60. Samar, M.M. y Resnik, S.L. Analytical methods for trichothecenes surveillance- An overview over the period 1990-2000. *Food Sci. Tech. Int.* 8(5):257-268, 2002.
61. Schothorst, R.C. y van Egmond, H.P. Report from SCOOP task 3.2.10 "collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states" Subtask:trichothecenes. *Toxicology Letters* 153: 133-143, 2004.
62. MacDonald, S., Prickett, T.J., Wildey, K.B. y Chan, D. Survey of ochratoxin A and deoxynivalenol in stored grains from the 1999 harvest in the UK. *Food Addit. Contam.* 21(2):172-181, 2004.
63. Sokolovic, M. y Simpraga, B. Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin-layer chromatography. *Food Control In Press* 2005.
64. Muller, H-M., Reimann, J., Schumacher, U. y Schwadorf, K. Natural occurrence of *Fusarium* toxins in oats harvested during five years in an area of southwest Germany. *Food Addit. Contam* 15(7):801-806, 1998.
65. Tutelyan, V.A. Deoxynivalenol in cereals in Russia. *Toxicology Letters* 153:173-179 2004.
66. Al-Julaifi, M.Z. y Al-Falih, A.M. Detection of trichothecenes in animal feeds and foodstuffs during the years 1997 to 2000 in Saudi Arabia. *J. Food Prot.* 64(10):1603-1606, 2001.
67. Wood, G.E. Comunicación personal, Estados Unidos, 2005.
68. Matthews, W. Comunicación personal, Reino Unido, 2005.
69. Tas, W. Comunicación personal, Países Bajos, 2005.
70. Fukushima, K. Comunicación personal, Japón, 2005.

71. Jackson, L.S. y Bullerman, L.B. Effect of processing on *Fusarium* mycotoxins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 459:243-261, 1999.
72. Charmley, L.L. y Prelusky, D.B. Decontamination of *Fusarium* mycotoxins. En: Miller, J.D., Trenholm, H.L. (EDS). *Mycotoxins in Grain. Compounds Other Than Aflatoxin*. Eagen Press, St. Paul, MN, pp. 421-435, 1994.
73. Trigo-Stockli, D.M., Deyoe, C.W., Satumbaga, R.F. y Pedersen, J.R. Distribution of deoxynivalenol and zearalenone in milled fractions of wheat. *Cereal Chem.* 73(3):388-391, 1996.
74. Lee, U-S., Jang, H-S., Tanaka, T., Oh, Y-J., Cho, C-M y Ueno, Y. Effect of milling on decontamination of *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone in Korean wheat. *J. Agric. Food Chem.* 35:126-129, 1987.
75. Samar, M.M., Fontan, C.F., Resnik, S.L., Pacin, A.M. y Castillo, M.D. Distribution of deoxynivalenol in wheat, wheat flour, bran, and gluten, and variability associated with the test procedure. *J. AOAC Int.* 86(3):551-556, 2003.
76. Young, J.C., Subryan, L.M., Potts, D., McLaren, M.E. y Gobran, F.H. Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated wheat by chemical and physical treatment. *J. Agric. Food Chem.* 34:461-465, 1986.
77. Nowicki, T.W., Gaba, D.G., Dexter, J.E., Matsuo, R.R. y Clear, R.M. Retention of DON in wheat during processing and cooking of spaghetti and noodles. *J. Cereal Science* 8:189-202, 1988.
78. Patey, A.L. y Gilbert, J. Fate of *Fusarium* mycotoxins in cereals during food processing and methods for their detoxification. IN: Chelkowski, J. (ED), *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy, and Pathogenicity*. Elsevier: New York. Pp.399-420, 1989.
79. Lauren, D.R. y Ringrose, M.A. Determination of the fate of three *Fusarium* mycotoxins through wet-milling of maize using an improved HPLC analytical technique. *Food Addit. Contam.* 14(5):435-443, 1997.
80. Castells, M., Marin, S., Sanchis, V. y Ramos, A.J. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. *Food Addit. Contam.* 22(2):150-157. 2005.
81. Pacin, A.M.; Resnik, S.L.; Neira, M.S.; Molto, G. y Martinez, E. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat, wheat flour and bakery products in Argentina. *Food Addit. and Contam.* 14(4): 327-331, 1997.
82. Curtui, V., Brockmeyer, A., Dietrich, R., Kappenstein, O., Klaffke, H., Lepschy, J., Maertlbauer, E., Schneider, E., Seidler, C., Thielert, G., Usleber, E., Weber, R. y Wolff, J. Proyecto alemán de investigación "Analysis and occurrence of important *Fusarium* toxins (Deoxynivalenol, Zearalenone) and dietary intake of these toxins by the German consumer". SANCO/2004/2884.
83. Trucksess, M.W., Ready, D.E., Pender, M.K., Ligmond, C.A., Wood, G.E. y Page, S.W.. Determination and survey of deoxynivalenol in white flour, whole wheat flour, and bran. *J. AOAC Int.* 79(4): 883-887, 1996.
84. Health Canada, Comunicación personal, 2005.
85. Lombaert, G.A., Pellaers, P., Roscoe, V., Mankotia, M., Neil, R. y Scott, P.M. Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market. *Food Addit. Contam.* 20(5):494-504 2003.
86. Schollenberger, M., Suchy, S., Jara, H.T., Drochner, W. y Muller, H-M. A survey of *Fusarium* toxins in cereal-based foods marketed in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* 147:49-57, 1999.
87. Schollenberger, M., Drochner, W., Ruffle, M., Suchy, S., Terry-Jara, H. y Muller, H-M. Trichothecene toxins in different groups of conventional and organic bread of the German market. *J Food Comp Anal* 18: 69-78, 2005.
88. Pussemier, L., Larondelle, Y., Van Peteghem, C. y Huyghebaert, A. Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs, a tentative comparison under Belgium conditions. *Food Control* 17:14-21, 2006.
89. Schollenberger, M., Muller, H.-M., Ruffle, M., Suchy, S., Planck, S. y Drochner, W. Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 97: 317-326, 2005.
90. United Kingdom Food Standards Agency. Retail oat products survey. 6 de febrero de 2004, [Http://food.gov.uk/multimedia/webpage/174922](http://food.gov.uk/multimedia/webpage/174922)
91. Hazel, C.M. y Patel, S, Influence of processing on trichothecene levels. *Toxicology Letters* 153:51-59 2004.
92. Trigo-Stockli, D.M. Effect of processing on deoxynivalenol and other trichothecenes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:181-188, 2002.
93. Wolf-Hall, C.E. y Schwarz, P.B. Mycotoxin and fermentation-beer production. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:217-226, 2002.
94. Samar. M.M., Neira, M.S., Resnik, S.L. y Pacin, A. Effects of fermentation on naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology. *Food Addit. Contam.* 18(11): 1004-1010, 2001.

95. Prange, A., Birzele, B., Kramer, J., Meier, A., Modrow, H. and Kohler, P. *Fusarium*-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. *Food Control* 16: 739-745, 2005.
96. Sugita-Konishi, Y. Comunicación personal, Japón, 2005.
97. FAO Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003, FAO Food and Nutrition Paper 81. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia ISBN 92-5-105162-3. 2004.
98. Lopez-Garcia, R. y Park, D.L. Effectiveness of postharvest procedures in management of mycotoxin hazards. En: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha and D. Bhatnagar (Eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 407-433, 1998.
99. Schrodter, R. Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals. *Toxicology Letters* 153:47-49,2004.
100. Aldred, D. y Magan, N. Prevention strategies for trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:165-171 2004.
101. Edwards, S.G. Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters* 153:29-35, 2004.