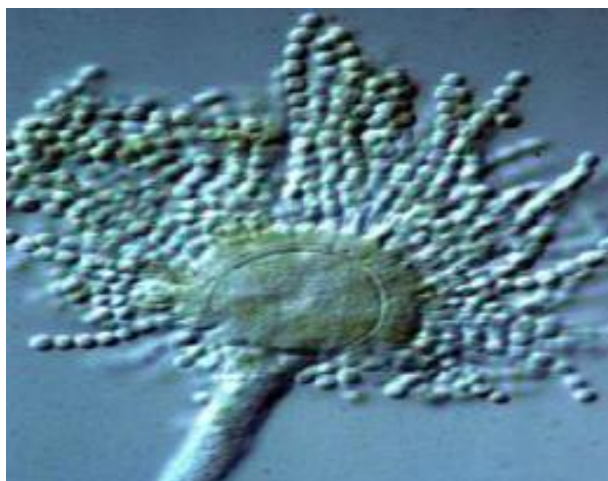


RECOMENDACIONES PARA LA PREVENCIÓN, EL CONTROL Y LA VIGILANCIA DE LAS MICOTOXINAS EN LAS FÁBRICAS DE HARINAS Y SÉMOLAS



Madrid 2015



Aviso Legal: los contenidos de esta publicación podrán ser reutilizados, citando la fuente y la fecha, en su caso, de la última actualización



MINISTERIO DE AGRICULTURA, ALIMENTACIÓN Y MEDIO AMBIENTE

Edita:

© Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente
Secretaría General Técnica
Centro de Publicaciones

Catálogo de Publicaciones de la Administración General del Estado:
<http://publicacionesoficiales.boe.es/>

NIPO: 280-15-240-7

AUTOR:

ASOCIACIÓN DE FABRICANTES DE HARINAS Y SÉMOLAS DE ESPAÑA (AFHSE)

La presente Guía reúne una serie de recomendaciones para mejorar la prevención, el control y la vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas tomando como referencia la situación normativa actual y el estado de la tecnología y conocimientos en el momento de su redacción.

La Guía es un documento vivo, que será sometido a actualizaciones cuando los cambios legislativos o los avances en materia de tecnología y conocimientos lo hagan necesario.

RECOMENDACIONES PARA LA PREVENCIÓN, EL CONTROL Y LA VIGILANCIA DE LAS MICOTOXINAS EN LAS FÁBRICAS DE HARINAS Y SÉMOLAS

INDICE DEL DOCUMENTO

1. Presentación de la guía.
2. Introducción: **Las micotoxinas.**
 - 2.1 **Aflatoxinas:** origen y causas, características físico-químicas, productos afectados y presencia natural, estabilidad y persistencia.
 - 2.2 **Ocratoxina A:** origen y causas, características físico-químicas, productos afectados y presencia natural, estabilidad y persistencia.
 - 2.3 **Toxinas de *Fusarium*:** origen y causas, características físico-químicas, productos afectados y presencia natural, estabilidad y persistencia.
 - 2.4 **Cornezuelo de centeno:** origen y causas, características físico-químicas, productos afectados y presencia natural, estabilidad y persistencia.
3. **Legislación sobre micotoxinas en la Unión Europea.**
 - 3.1 Introducción
 - 3.2 El principio de protección del consumidor.
 - 3.3 Autoridades responsables del establecimiento de límites máximos de micotoxinas.
 - 3.4 Normativa existente a nivel UE sobre **contenidos máximos de micotoxinas en los cereales y productos derivados destinados al consumo humano.**
 - 3.5 Obligaciones y prohibiciones generales establecidas por la normativa sobre micotoxinas en cereales y productos derivados
 - 3.6 Normativa existente a nivel UE sobre **contenidos máximos de micotoxinas en los cereales y productos derivados destinados a la alimentación animal.**
 - 3.7 Obligaciones generales en materia seguridad e higiene:
4. **Medidas para la prevención, control y vigilancia de las micotoxinas en los cereales y productos derivados.**
 - 4.1 Introducción
 - 4.2 Medidas de prevención y reducción de la contaminación de los cereales por micotoxinas durante **la precosecha y durante la recolección del cereal.**
 - 4.3 Medidas de prevención y control de la contaminación de los cereales por micotoxinas durante las **etapas poscosecha.**
 - 4.4 **Medidas para la prevención, control y vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas.**

5. Métodos de muestreo y análisis de micotoxinas en cereales.

- 5.1 Introducción
- 5.2 **Planes de muestreo y preparación de muestras para el análisis de las distintas micotoxinas en los alimentos.** Métodos oficiales y métodos alternativos.
 - 5.2.1 **Método de muestreo para el control oficial de micotoxinas** en los cereales y productos derivados.
 - 5.2.2 **Métodos de muestreo alternativos** para el control del contenido de micotoxinas en los cereales y productos derivados:
- 5.3 **Principios generales de los métodos de análisis utilizables para la determinación de las distintas micotoxinas.**
 - 5.3.1 Métodos de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los cereales y productos derivados.
 - 5.3.2 Principales métodos de análisis utilizables para la determinación de las distintas micotoxinas.
 - 5.3.3 Tests y métodos rápidos para el análisis de micotoxinas

TABLAS RESUMEN:

Tabla 1: Resumen principales rasgos de las diferentes micotoxinas.

Tabla 2: Contenidos máximos de aflatoxinas en cereales y derivados destinados a consumo humano.

Tabla 3: Contenidos máximos de ocratoxina A en cereales y derivados destinados a consumo humano.

Tabla 4: Contenidos máximos de micotoxinas de Fusarium en cereales y derivados destinados a consumo humano.

Tabla 5: Contenidos máximos de cornezuelo de centeno en cereales y derivados destinados a consumo humano.

Tabla 6: Niveles indicativos toxinas T-2 y HT-2 para los cereales y los productos a base de cereales.

Tabla 7: Contenidos máximos y valores orientativos de micotoxinas en alimentación animal.

ANEXO 1: RECOMENDACIONES PARA PREVENIR LA CONTAMINACIÓN DE LOS CEREALES POR MICOTOXINAS.

1. Antes de la siembra.
2. Durante el cultivo y antes de la cosecha.
3. Durante la recolección.
4. Durante el almacenamiento.

5. Durante el transporte.

ANEXO 2: MEDIDAS PREVENTIVAS, DE CONTROL Y VIGILANCIA DE LA PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN LAS FÁBRICAS DE HARINAS Y SÉMOLAS.

ANEXO 3: LISTADO DE LEGISLACIÓN DE REFERENCIA.

ANEXO 4: LISTADO DE NORMAS SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS EN VIGOR.

PRESENTACIÓN

Las micotoxinas constituyen uno de los peligros sanitarios que pueden afectar a los cereales y sus productos derivados, motivo por el cual, fueron uno de los primeros contaminantes objeto de evaluación y regulación a nivel europeo, con el fin de reducir la ingesta total de los consumidores a este tipo de toxinas a través de la dieta.

Las primeras micotoxinas que fueron objeto de regulación a nivel europeo fueron las aflatoxinas (B1 y el sumatorio de B1, B2, G1 y G2), estableciéndose contenidos máximos en los cereales y productos derivados de su transformación a finales de los años 90. Posteriormente, la normativa sobre contaminantes en alimentos se fue completando en lo referente a micotoxinas en cereales y productos derivados con la introducción de contenidos máximos para ocratoxina (año 2002) y contenidos máximos en toxinas de *Fusarium* (deoxinivalenol, zearalenona, fumonisinas) en el año 2005. Más recientemente se han fijado contenidos máximos en esclerocios del cornezuelo de centeno en los cereales no elaborados y es probable que más adelante se acaben estableciendo contenidos máximos de alcaloides de cornezuelo de centeno en cereales y productos derivados.

El término "micotoxina" normalmente está reservado a los productos químicos tóxicos producidos por unas pocas especies de hongos o mohos con capacidad para infestar cosechas en el campo o después de la cosecha y que representan un riesgo potencial para la salud de las personas y los animales a través de la ingestión de alimentos o piensos elaborados a partir de dichas materias primas.

Son muchos los factores que intervienen en el proceso de proliferación fúngica y de la contaminación con micotoxinas. Los principales factores son: temperatura y humedad, tipo de suelo, la susceptibilidad del cultivo y de la variedad de que se trate, la madurez de los granos en el momento de la cosecha, los daños mecánicos o los producidos por insectos y/o pájaros sobre el cereal, el tipo de almacenamiento.

Una adecuada aplicación de técnicas de cultivo, recolección y almacenamiento puede contribuir a, si no eliminar por completo, sí a reducir la presencia de micotoxinas en los alimentos.

La mayoría de las micotoxinas son químicamente estables y tienen a permanecer durante el almacenamiento y el procesado de los productos, incluso cuando estos productos son cocinados a altas temperaturas (por ejemplo, durante el horneado de productos de panadería o la elaboración de cereales de desayuno). Este hecho hace aún más importante el reforzar tanto como sea posible los esfuerzos para evitar las condiciones que favorecen la formación de micotoxinas. Esto es difícil de conseguir cuando se trata de cultivos sometidos a determinadas condiciones meteorológicas.

Una vez que los cereales han sido cosechados, se debe prevenir el desarrollo de mohos y la formación de micotoxinas durante el almacenamiento y transporte, aunque a veces esto no sea posible conseguirlo en la práctica.

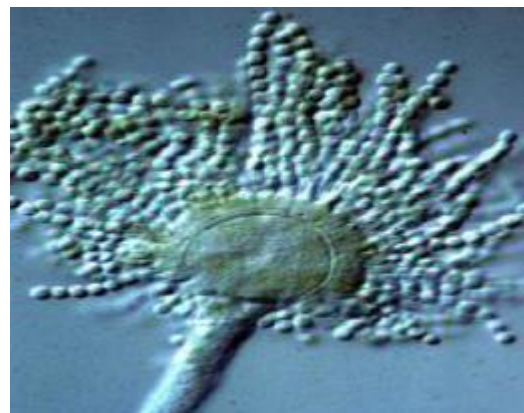
Con la elaboración de la presente Guía se pretende mejorar el conocimiento de las empresas harineras y semoleras sobre las micotoxinas que pueden llegar a afectar a sus productos: principales hongos productores, factores que influyen en su formación, productos que se pueden ver afectados, estabilidad y persistencia, métodos de muestreo y análisis, todo ello con el objetivo último de mejorar sus sistemas de prevención, control y vigilancia de estos contaminantes sus productos.

2. INTRODUCCIÓN: LAS MICOTOXINAS

El término "micotoxina" proviene del griego "mycos" que significa hongo y del latín "toxicum", que significa tóxico o veneno.

En el Reino Vegetal hay múltiples tipos de hongos que van desde los típicos hongos que se pueden ver crecer en los bosques y campos hasta aquellas especies microscópicas que pueden infectar cultivos en el campo o durante su almacenamiento. La mayoría de estas especies viven sobre materia orgánica en descomposición y su presencia contribuye a estos procesos de descomposición, mientras que otros hongos pueden ser causa de enfermedades en las plantas. Los mohos pueden ser muy beneficiosos para el hombre como fuente de nutrientes o como fuente de antibióticos y otros compuestos químicos de interés. Pero, por otro lado, la ingesta directa de hongos tóxicos (por ejemplo, por un error en su identificación) es una causa bien conocida de enfermedad e incluso muerte.

El término "micotoxina" normalmente está reservado a los productos químicos tóxicos producidos por unas pocas especies de hongos o mohos con capacidad para infestar cosechas en el campo o después de la cosecha y que representan un riesgo potencial para la salud de las personas y los animales a través de la ingestión de alimentos o piensos elaborados a partir de dichas materias primas



Un buen ejemplo de las enfermedades que este tipo de contaminaciones pueden originar en el ser humano es la conocida como "Fuego de San Antonio" que a finales del primer milenio afectó a un buen número de personas en Europa. Esta afección, conocida también como ergotismo, era causada por el consumo de centeno contaminado con alcaloides producidos por el hongo "*Claviceps purpúrea*". Entre los síntomas que originaba en las personas destacaban los ataques de tipo epiléptico y la aparición en las extremidades inferiores de picores tan intensos que parecía que las piernas quemaban y que llevaron a muchos peregrinos a visitar San Antonio en Francia con la esperanza de ser curados.

En épocas más recientes, cabe recordar la muerte de 100.000 pavos y otras aves en el Reino Unido, justo antes de Navidad, en el año 1960, cuyo origen se debió a un contaminante, que más tarde se llamó aflatoxina, que estaba presente en unos piensos que contenían cacahuetes.

Estos son sólo dos ejemplos de los potenciales peligros que representan las micotoxinas y que por tanto, justifican las numerosas actuaciones y estudios que se están llevando a cabo en la era actual para controlarlos.

La formación de las micotoxinas

Cada micotoxina es producida específicamente por una o más especies concretas de hongos o mohos. En algunos casos, una determinada especie de hongo puede producir más de un tipo de micotoxina. Por ejemplo, las aflatoxinas pueden ser producidas por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y alguna otra especie de *Aspergillus*, mientras que la ocratoxina A es producida por *Aspergillus ochraceus* principalmente en las regiones tropicales y por *Penicillium verrucosum* en las regiones o áreas templadas. En cualquier caso, la mera presencia de un hongo conocido como productor de toxinas no implica automáticamente la presencia de sus toxinas ya que existen otros muchos factores implicados en su formación. Y al contrario, la mera observación o confirmación visual de ausencia de mohos no es garantía de que el producto esté libre de micotoxinas ya que el moho puede haber desaparecido y haber quedado las toxinas intactas.

Son muchos los factores que intervienen en el proceso de proliferación fúngica y de la contaminación con micotoxinas. Los principales factores son: temperatura y humedad, tipo de suelo, la susceptibilidad del cultivo y de la variedad de que se trate, la madurez de los granos en el momento de la cosecha, los daños mecánicos o los producidos por insectos y/o pájaros sobre el cereal, el tipo de almacenamiento.

Una adecuada aplicación de técnicas de cultivo, recolección y almacenamiento puede contribuir a, si no eliminar por completo, sí a reducir la presencia de micotoxinas en los alimentos.

Productos afectados

Cualquier cosecha que se almacene por un espacio de tiempo superior a varios días es un potencial objetivo para el crecimiento de mohos y la formación de micotoxinas. La formación de micotoxinas puede tener lugar tanto en regiones tropicales como en países de clima templado, dependiendo de las especies de mohos implicadas. Los productos que principalmente se pueden ver afectados son los cereales, las nueces y otros frutos secos, el café, el cacao, las especias, las semillas de oleaginosas, los guisantes y algunas frutas, principalmente las manzanas. Las micotoxinas también se pueden encontrar en la cerveza y el vino, como resultado de la utilización de cebada contaminada, otros cereales o uvas contaminadas en su elaboración. Por último, las micotoxinas también pueden ingresar en la cadena alimentaria a través de la carne y otros productos de origen animal como los huevos, la leche y el queso, como resultado de la alimentación del ganado con piensos contaminados.

Por qué las micotoxinas son importantes

Las micotoxinas pueden ser causa de diversos tipos de enfermedades e intoxicaciones debido a las diferentes estructuras químicas que las diferencian a unas de otras. Para que se presenten intoxicaciones agudas por micotoxinas es necesario que éstas estén presentes en el producto en altas dosis, por lo que este tipo de afecciones se dan principalmente en países menos desarrollados, donde los recursos para su control son muy limitados. Por otro lado, los efectos o enfermedades crónicas son preocupantes para la salud de la población a largo plazo y son importantes porque se producen a mucha menor dosis. Algunas de las micotoxinas más comunes son carcinogénicas, genotóxicas, o pueden afectar al riñón, hígado o al sistema inmunitario.

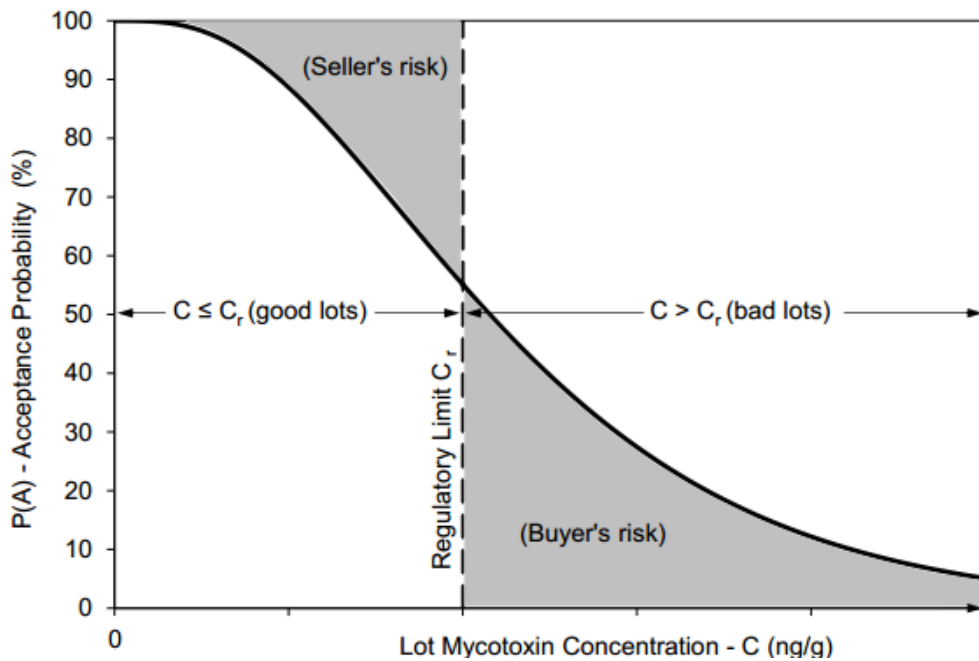
Tanto organizaciones nacionales como de ámbito internacional están constantemente evaluando el riesgo que las micotoxinas representan para el ser humano. Para algunas micotoxinas, estos estudios han llevado al establecimiento de límites máximos legales. Muchos países hoy en día tienen límites máximos legales en aflatoxinas que son las más tóxicas y frecuentes aunque estos límites no son uniformes.

Estabilidad y persistencia

La mayoría de las micotoxinas son químicamente estables y tienen a permanecer durante el almacenamiento y el procesado de los productos, incluso cuando estos productos son cocinados a altas temperaturas (por ejemplo, durante el horneado de productos de panadería o la elaboración de cereales de desayuno). Este hecho hace aún más importante el reforzar tanto como sea posible los esfuerzos para evitar las condiciones que favorecen la formación de micotoxinas. Esto es difícil de conseguir cuando se trata de cultivos sometidos a determinadas condiciones meteorológicas. Una vez que los cereales han sido recolectados, se debe prevenir el desarrollo de mohos y la formación de micotoxinas durante el almacenamiento y transporte, aunque a veces esto no sea posible conseguirlo en la práctica.

Muestreo y análisis

Los hongos tienden a reproducirse y desarrollarse en puntos aislados cuando se trata de materias primas almacenadas. Este hecho hace que su distribución en el conjunto del lote sea muy heterogénea. Por ello, es muy importante contar con un protocolo o estrategia para la toma de muestras de modo que la muestra que se recoja para el análisis sea verdaderamente representativa del conjunto del lote o partida. Por otro lado, la mayoría de las micotoxinas son tóxicas a concentraciones muy bajas y esto hace necesario que los métodos de análisis que se empleen tengan la necesaria sensibilidad y fiabilidad. El muestreo y el análisis de micotoxinas en su conjunto representan un importante reto para los analistas. La existencia de errores en alguna de estas dos actividades puede llevar a rechazar partidas o cargamentos que realmente cumplen con los límites, o por el contrario, a aceptar partidas en las cuales se superan los límites. Como las partidas en cuestión pueden tener elevados costes, las disputas en torno a los resultados analíticos pueden ser especialmente costosas, especialmente si pueden afectar injustamente a la reputación de comerciantes, vendedores o industriales.



Controles

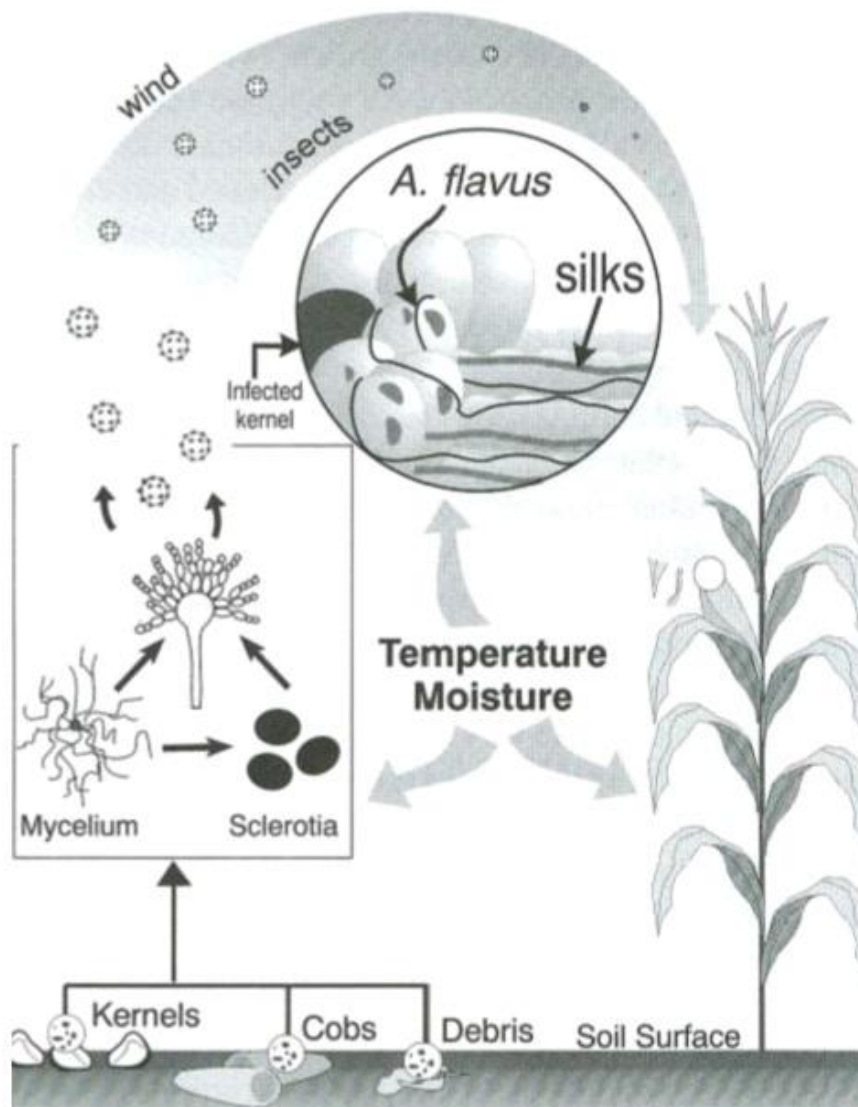
La dificultad para eliminar una micotoxina una vez formada hace que el mejor método de control sea la prevención. En cualquier caso, se han estudiado bastantes medidas para tratar de reducir los efectos de los mohos, como por ejemplo, el desarrollo de especies resistentes a los ataques fúngicos, estudio de métodos alternativos en el tratamiento de los suelos de cultivo, técnicas de secado y almacenamiento, Recientemente, se ha evaluado la posibilidad de adoptar un enfoque preventivo basado en los principios APPCC para tratar de determinar los Puntos Críticos de Control como herramienta de gestión para reducir o eliminar este tipo de peligros.

2.1 LAS AFLATOXINAS

Se conocen con el término general de "aflatoxinas" al grupo de aproximadamente 20 tipos de metabolitos diferentes de origen fúngico producidas por determinadas especies del género *Aspergillus* cuya toxicidad y presencia en los alimentos varía, si bien, normalmente sólo las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ se encuentran en los alimentos.

La **aflatoxina B₁** es, con diferencia, el compuesto más tóxico. Por razones de seguridad se ha creído conveniente limitar el contenido total en aflatoxinas (B₁, B₂, G₁ y G₂) en los productos alimenticios y el contenido en aflatoxina B₁ en particular.

Estas micotoxinas son producidas por al menos tres especies del género *Aspergillus*: *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*, que se desarrollan cuando los niveles de temperatura y humedad son elevados y que pueden presentarse en un amplio rango de importantes materias primas, como son los cereales, las nueces, las especias, los higos y los frutos secos.



Payne et al., 1998

Aunque las mayores concentraciones de estas micotoxinas se dan en productos cultivados y almacenados en regiones templadas del mundo, el comercio internacional existente de estas importantes materias primas hace que su presencia no sea un problema exclusivo de las regiones productoras sino también de los países importadores.

Desde el **punto de vista físico-químico**, las aflatoxinas son sustancias cristalinas, que se disuelven fácilmente en solventes ligeramente polares como son el cloroformo, el metanol y en agua a razón de 10-20 mg/l. Estas sustancias **presentan fluorescencia a la luz ultravioleta**.

Las aflatoxinas en su forma cristalina son **muy estables en ausencia de luz**, particularmente de luz ultravioleta, **incluso a temperaturas superiores a 100°C**. Una solución de aflatoxinas en cloroformo o benceno podría durar años si se mantiene refrigerada y en oscuridad.

Por otro lado, su estructura química hace que las aflatoxinas sean sensibles a hidrólisis alcalina, motivo por el cual se han investigado posibles tratamientos con amoníaco o hipoclorito como posible medio para su eliminación de los productos contaminados, pero a este respecto todavía quedan muchos puntos por aclarar (como por ejemplo, la toxicidad de los productos resultantes de estos tratamientos).

Toxicidad e importancia

Las aflatoxinas son compuestos tóxicos en forma aguda (dosis altas) y en forma crónica o a largo plazo (por el consumo frecuente de dosis bajas).

La **aflatoxina B₁** es uno de los más potentes **hepato-carcinógenos conocidos**, y por ello la exposición crónica a largo plazo a muy pequeñas cantidades de esta toxina a través de la dieta tiene importantes consecuencias para la salud humana.

En las regiones templadas de países desarrollados la intoxicación aguda por aflatoxinas en animales es muy poco frecuente y en el caso del ser humano es prácticamente imposible. El precedente de la intoxicación de 100.000 pavos y otras aves en el Reino Unido en el año 1960, debido a la presencia de elevadas concentraciones de aflatoxinas en cacahuetes importados para la elaboración de piensos, alertó a las industrias y a los gobiernos sobre los importantes efectos que la presencia de micotoxinas (particularmente, las aflatoxinas) podría acarrear.

Los efectos de una intoxicación aguda por aflatoxinas han sido demostrados en un amplio número de animales: mamíferos, peces, aves, conejos, perros y primates. Los patos y pavos son especialmente susceptibles. El grado de intoxicación depende de diversos factores: edad, sexo, el estado nutricional. Los animales jóvenes son particularmente más susceptibles y los machos más que las hembras.

El **hígado es el órgano principalmente afectado** (órgano diana). También se han observado efectos sobre los pulmones, el miocardio y los riñones y las aflatoxinas pueden acumularse en el cerebro. Además, a altas dosis las aflatoxinas también pueden producir **efectos teratogénicos** en algunas especies.

La intoxicación aguda en humanos por aflatoxinas ocurre ocasionalmente en algunas partes del mundo, principalmente en países en vías de desarrollo de África y Asia. La mayoría de estas intoxicaciones se deben al consumo de cereales o sus derivados altamente

contaminados. Un caso de estudio clásico ocurrió hace unos años en Malasia (1990), cuando aproximadamente 40 personas resultaron afectadas y 13 niños murieron por el consumo de "noodles" altamente contaminados con aflatoxinas y ácido bórico. En las autopsias se encontraron altas concentraciones de aflatoxinas en el hígado, pulmones, riñón, corazón, cerebro y bazo.

Por otro lado, las aflatoxinas también se han demostrado causantes de **efectos sub-agudos y crónicos en humanos**. Entre estos efectos se encuentran: cáncer de hígado, hepatitis crónicas, ictericia, hepatomegalia y cirrosis, causadas por la ingestión frecuente de pequeñas cantidades de aflatoxinas presentes en los alimentos. Las aflatoxinas también pueden afectar al sistema inmune.

La **aflatoxina B₁ es un potente mutágeno** causante de daños a los cromosomas en variedad de células de plantas, animales y humanas. El efecto carcinogénico de la aflatoxina B₁ ha sido estudiado al menos en 12 especies diferentes. Aunque de las aflatoxinas G₁ y M₁ no se han realizado estudios tan extensos, parece ser que resultan toxicológicamente similares a la aflatoxina B₁: son ligeramente menos potentes como carcinógenas hepáticas pero más potentes como carcinógenas renales.

Productos afectados y presencia natural

Como se ha indicado al principio, las aflatoxinas son micotoxinas producidas por determinadas especies de *Aspergillus* que **se desarrollan cuando los niveles de temperatura y humedad son elevados** y pueden estar presentes en un amplio rango de importantes materias primas, como son los cereales, las nueces, las especias, los higos y los frutos secos y también en productos de origen animal, como la carne y la leche (aflatoxina M₁ resultante del metabolismo de la aflatoxina B₁ presente en los piensos) obtenidos de animales alimentados con piensos contaminados.

Los importantes daños para la salud humana y animal que la presencia de las aflatoxinas puede acarrear, hace que hoy día un gran número de países cuenten con regulación específica de este contaminante. Esta normativa implica la realización de muestreos y análisis de aquellas materias primas más expuestas a su contaminación, tanto por parte del productor, como de los importadores y productores de alimentos. Igualmente los gobiernos tienen establecidos programas y planes de vigilancia para el control de la ingesta de estos contaminantes por la población y poder tomar las medidas necesarias en caso necesario.

A la cabeza del "top ten" de productos más contaminados por aflatoxinas se encuentran los cacahuets y pistachos. En el comercio internacional de cacahuets se han llegado a encontrar partidas con unos niveles de aflatoxinas de 1000 µg/kg o más.

Sin duda, **las condiciones climáticas tienen un papel crucial en la formación de estas micotoxinas, y por ello, la gravedad del problema varía de año en año**. Una situación particularmente problemática para los productores de cereales se da cuando tras un periodo de sequía (que lleva a las plantas a sufrir estrés hídrico) le siguen lluvias.

El estado actual de los conocimientos científicos y técnicos y de las mejoras en las prácticas de producción y almacenamiento no permite eliminar completamente el desarrollo de estos mohos y, por consiguiente, la presencia de aflatoxinas en los productos alimenticios.

Deben fomentarse los esfuerzos para mejorar las condiciones de producción, cosecha y almacenamiento con el fin de reducir el desarrollo de mohos y la formación de micotoxinas.

Estabilidad y persistencia

Las aflatoxinas son **bastante estables** en muchos alimentos y son **bastante resistentes a la degradación**.

En el procesado de materias primas utilizando protocolos de limpieza en los cuales se incluya la retirada de granos partidos y otros restos, la clasificación y la molienda pueden reducir la concentración de aflatoxinas considerablemente. Si bien, la efectividad de algunos procesos en la reducción de aflatoxinas en los alimentos puede depender de distintos factores, como por ejemplo, el contenido en proteína, el pH, la temperatura y la duración del tratamiento.

2.2 LA OCRATOXINA A

La **ocratoxina A** es una micotoxina producida por determinadas especies de hongos del genero *Aspergillus*, como *Aspergillus ochraceus*, principalmente en las regiones de clima tropical, y por *Penicillium verrucosum*, un hongo característico del almacenamiento, en las regiones de clima templado, como Canadá, regiones del este y noroeste de Europa y partes de Sudamérica. **La ocratoxina A se conoce también por su nombre abreviado, OTA.**

Aparece de forma natural en el mundo entero en toda una serie de productos vegetales, tales como cereales, legumbres, granos de café, cacao, frutos secos, especias y uvas. Se ha detectado su presencia en alimentos a base de cereales, el café, el vino, la cerveza y el zumo de uva, pero también en productos de origen animal, como los riñones de cerdo, si bien la contaminación con OTA de carne, leche y huevos es insignificante.

Desde el punto de vista físico-químico, la ocratoxina A es una sustancia cristalina incolora, que **presenta fluorescencia azulada bajo luz ultravioleta**. Debido a la presencia de un grupo ácido en su estructura, es moderadamente soluble en solventes orgánicos polares como el cloroformo, el metanol, acetonitrilo y se disuelve libremente en solución acuosa diluida de bicarbonato sódico. Su sal sódica es soluble en agua.

La ocratoxina A se puede conservar en etanol por al menos un año si se mantiene bajo refrigeración y protegida de la luz.

Toxicidad e importancia

La ocratoxina A es una **potente toxina** que **afecta principalmente a los riñones**, en los cuales puede originar efectos agudos y crónicos, en función de la dosis y la duración de la exposición, ya que la OTA se acumula en los tejidos renales. Su capacidad nefrotóxica ha sido demostrada en todas las especies de mamíferos en los que se ha evaluado. Los estudios sobre su toxicidad aguda arrojan diferentes grados de afectación según la especie animal de que se trate. El perro y el cerdo resultan especialmente susceptibles.

También se han realizado estudios y ensayos para valorar su toxicidad crónica y sus efectos progresivos sobre el riñón a través de una exposición prolongada a la OTA y se han valorado sus efectos sub-agudos y sub-crónicos.

De los estudios realizados, la ocratoxina A se ha mostrado como un **potente teratógeno** en ratones, ratas, hamsters y pollos, pero aparentemente no lo es en cerdos. Sus efectos

teratogénicos y a nivel reproductivo han sido demostrados. Además se sabe que afecta el sistema inmune en algunos mamíferos.

Por último, la ocratoxina A **es genotóxica** tanto "in vivo" como "in vitro", pero el mecanismo por el que resulta genotóxica no está claro.

La indeseable exposición del ser humano a la ocratoxina A través de la dieta ha quedado demostrada por la detección de este contaminante en sangre y en leche materna.

En definitiva, la ocratoxina A es una micotoxina con propiedades carcinógenas, nefrotóxicas, teratógenas, inmunotóxicas y, posiblemente, neurotóxicas. También se la ha relacionado con nefropatías en los seres humanos. La ocratoxina A puede tener una larga vida media en los seres humanos.

Productos afectados y presencia natural

La detección de ocratoxina A como contaminante natural en los cereales se produjo por primera vez en una muestra de maíz.

Como ya se ha indicado anteriormente, la ocratoxina A puede aparecer de forma natural en toda una serie de productos vegetales, tales como cereales, granos de café, cacao y frutos secos y en alimentos a base de cereales, el café, el vino, la cerveza y el zumo de uva, pero también en productos de origen animal.

Normalmente las concentraciones de ocratoxina A en cereales se encuentran por debajo de 50 µg/kg, pero cuando las condiciones de almacenamiento de los productos no son las adecuadas se pueden alcanzar concentraciones mucho más elevadas.

En regiones templadas, una significativa parte de los cereales pueden estar contaminados por pequeñas cantidades de ocratoxina A (por debajo de 1µg/kg), aunque algunas muestras pueden alcanzar niveles mayores.

Existen muchos estudios sobre la presencia de ocratoxina A en cereales, pero en los últimos años se ha detectado ocratoxina A en un amplio abanico de productos almacenados y de alimentos procesados entre los que se incluyen el café, la cerveza, los frutos secos, el vino, el cacao y las nueces.

Se han desarrollado multitud de experimentos en laboratorio para tratar de identificar las condiciones óptimas para la formación de ocratoxina A por los hongos *Aspergillus ochraceus* y *Penicillium verrucosum*. En la actualidad se siguen estudiando las condiciones que favorecen la formación de ocratoxina A en los cultivos a través de ensayos en campo, ya que esta información es de vital importancia para poder plantear medidas que impidan su formación.

Los conocimientos científicos y técnicos actuales, a pesar de los progresos registrados por las técnicas de producción y almacenamiento, no permiten impedir por completo el desarrollo de estos mohos. Por consiguiente, la ocratoxina A no puede eliminarse totalmente en los alimentos.

Los cereales y los productos a base de cereales son los que más contribuyen a la ingesta diaria de ocratoxina A. La prevención reviste una importancia vital para evitar, en todo lo posible, la contaminación y proteger al consumidor. Resulta oportuno fijar los contenidos

máximos para los cereales y los productos a base de cereales en un nivel razonablemente asequible, siempre y cuando se tomen medidas preventivas para evitar la contaminación en todos los eslabones de la cadena de producción y comercialización.

Estabilidad y persistencia

La **ocratoxina A** es una **molécula relativamente estable** que normalmente resiste en mayor o menor medida la mayoría de los procesos productivos y que por tanto, puede estar presente en los alimentos para consumo humano. Estos procesos pueden incluir cocinado, horneado, tostado o fermentación, y el grado en el cual la ocratoxina A es destruida dependerá en buena medida de otros parámetros como el pH, la temperatura y la presencia de otros ingredientes. Un buen número de estos procesos han sido estudiados en detalle, si bien, todavía queda mucho por hacer en esta materia.

Existen también informes donde se analiza el proceso que sigue la ocratoxina A durante los procesos de malteado – elaboración de cerveza; panificación; la elaboración de cereales de desayuno, la producción de derivados del café; la fabricación de piensos y su grado de transferencia a las carnes y otros alimentos de origen animal.

Debido a su persistencia a lo largo de la cadena alimentaria, las investigaciones actuales se centran en su prevención. En este sentido, se están desarrollando estrategias basadas en los principios del APPCC para su aplicación a diferentes procesos comerciales.

Sin duda, un mayor y mejor conocimiento de los factores que condicionan la formación de ocratoxina A permitirá adecuar las estrategias a aplicar para limitar su formación y, junto con la aplicación de la legislación, debería asegurar una adecuada protección del consumidor.

2.3 TOXINAS DE FUSARIUM

Los hongos del género *Fusarium* son hongos comunes de suelo. Suelen encontrarse en cereales cultivados en regiones templadas de América, Europa y Asia, y algunos de los que producen toxinas son capaces de producir, en mayor o menor grado, dos o más de ellas. Las micotoxinas de *Fusarium* están muy distribuidas por la cadena alimentaria, siendo los productos elaborados con cereales, especialmente trigo y maíz, las principales fuentes de ingesta alimentaria de esas toxinas.

Las especies del género *Fusarium* infectan el grano antes de la cosecha. Se han identificado varios factores de riesgo en relación con la infección de *Fusarium* y la formación de micotoxinas. Las condiciones climáticas durante el crecimiento de la planta, en particular en el momento de la floración, influyen mucho en el contenido de micotoxinas; sin embargo, las buenas prácticas agrícolas, mediante las cuales se reducen al máximo los factores de riesgo, pueden prevenir, hasta cierto punto, la contaminación por hongos del género *Fusarium*.

Debido a su amplia distribución en la cadena alimentaria, para proteger la salud pública es importante que se establezcan contenidos máximos en relación con los cereales no elaborados, a fin de evitar que entren en la cadena alimentaria cereales muy contaminados y de fomentar y garantizar que se tomen todas las medidas necesarias durante las fases de cultivo, recolección y almacenamiento dentro de la cadena de producción (aplicando buenas prácticas agrícolas, de recolección y de almacenamiento).

Conviene que el contenido máximo fijado para los cereales no elaborados se aplique a los cereales comercializados para una primera fase de transformación, pues en ella ya se conoce el uso al que están destinados (alimentación humana, alimentación animal o aplicación industrial). Los procedimientos de limpieza, clasificación y secado no se consideran incluidos en la primera fase de transformación en tanto en cuanto no se ejerza ninguna acción física sobre el grano en sí; el descascarillado, en cambio, sí debe considerarse parte de la primera fase de transformación.

La limpieza y la transformación pueden hacer que el contenido de toxinas de *Fusarium* de los cereales en bruto se reduzca en diverso grado en los productos elaborados a base de cereales. Dado que el grado de reducción varía, conviene establecer un contenido máximo para los diversos productos de consumo finales a base de cereales con el objeto de proteger a los consumidores. Por otro lado, conviene fijar un contenido máximo para los principales ingredientes alimentarios derivados de los cereales, a fin de poder velar eficazmente por el cumplimiento de la normativa y poder, de ese modo, proteger la salud pública.

EL DEOXINIVALENOL (DON)

El deoxinivalenol, también conocido como DON o vomitoxina, es uno de los alrededor de 150 compuestos conocidos como tricotecenos, metabolitos que son producidos por una serie de especies del género *Fusarium* y algunos otros mohos.

El DON casi siempre se forma en los cultivos antes de su cosecha, cuando las espigas, todavía en flor, son infestadas por determinadas especies de *Fusarium*, como *F. graminearum* y *F. culmorum*. Estas dos especies de hongos son importantes patógenos para las plantas y, en cereales son los responsables de las fusariosis de la espiga de trigo (golpe blanco del trigo) y del maíz.

El deoxinivalenol es térmicamente muy estable, por lo que una vez formado es probable que persista durante el almacenamiento e ingrese en la cadena alimentaria.

Desde el **punto de vista físico-químico**, el DON es uno de los tricotecenos más polares. Es **soluble en agua y en disolventes polares** como el metanol y el acetonitrilo. De su estructura química resulta que tenga cierta absorbancia de luz ultravioleta, lo que permite su detección por técnicas TLC y HPLC. En cereales contaminados el DON puede aparecer acompañado de otros 2 tipos de tricotecenos como son el 3-acetil-dioxinivalenol y el 15-acetil-deoxinivalenol. **Químicamente el DON es una molécula muy estable.**

Toxicidad e importancia

Es difícil poder relacionar los efectos observados en experimentación en laboratorios con los efectos reales de una intoxicación, ya que en situaciones de intoxicación real por ingesta de producto contaminado con DON normalmente aparece acompañado de otros tricotecenos. En cualquier caso, la **intoxicación aguda** por DON estudiada en cerdos se caracteriza por la aparición de vómitos (de ahí la denominación común como vomitoxina), en animales rechazo del pienso, pérdida de peso y diarrea. La intoxicación aguda puede llegar a producir necrosis en diversos tejidos, como por ejemplo, el tracto gastrointestinal y en el sistema linfático.

La **exposición oral subcrónica** a DON en animales de experimentación (cerdos, ratones, ratas) puede también originar un rechazo al alimento y un descenso en el crecimiento y en la

ganancia de peso. Los estudios también sugieren que el DON **pudiera tener efectos sobre el sistema inmunitario**. Por otro lado, no hay constancia de que esta toxina presente efectos carcinogénicos, mutagénicos o teratogénicos.

Según los resultados de un estudio sobre una **intoxicación alimentaria en humanos** originada por consumo de trigo contaminado con DON en India, los síntomas que se presentan van desde dolor abdominal, mareos, dolor de cabeza, irritación de la garganta, náuseas, vómitos, diarrea y presencia de sangre en las heces.

Productos afectados y presencia natural

Los principales productos que pueden verse contaminados con DON son los cereales. El DON es una micotoxina relativamente frecuente en trigo, cebada, avena, triticale, trigo sarraceno, centeno, maíz, sorgo y en menor medida en arroz. Se han llegado a presentar concentraciones de DON de hasta 9 mg/kg en cebada y de 6 mg/kg en trigo.

Como se trata de una micotoxina muy estable, también se ha podido detectar su presencia en varios productos derivados de cereales, como por ejemplo, cereales de desayuno, pan, noodles, alimentos infantiles, malta y cerveza. Además, la presencia de DON en cebada puede ser causa de importantes problemas de calidad en la cerveza.

Sin embargo y, al contrario que otras toxinas, la transferencia de DON desde los piensos a la carne y otros productos de origen animal parece ser que es extremadamente pequeña.

La formación de dioxinivalenol en los cultivos depende en gran medida de las condiciones climáticas y por ello, está sometida a importantes variaciones entre diferentes regiones geográficas y de año en año, por lo que es aconsejable realizar controles regularmente.

Estabilidad y persistencia

El deoxinivalenol es **térmicamente estable** por lo que **es muy difícil su eliminación de los cereales una vez formado**.

Durante la molienda del trigo se produce una separación de sus capas externas, donde el DON tiende a concentrarse alcanzando mayores niveles que en el cereal de partida. Por su parte, la concentración de DON en la harina es menor que en el grano de partida. Es decir, se produce una redistribución de la toxina entre las diferentes partes resultantes de la molienda del grano.

Dado que el **deoxinivalenol es soluble en agua**, se podría lograr una importante reducción de su contenido mediante el **lavado del cereal**, pero desde el punto de vista comercial esto representaría una fase adicional en la cadena y un problema con el efluente.

LA ZEARALENONA (ZEA)

La zearalenona es también una micotoxina producida por diversas especies del género *Fusarium*, entre las cuales destacan: *F.culmorum*, *F.graminearum* y *F. crookwellense*. Estas especies de hongos son conocidas por colonizar los cereales y tienen a desarrollarse en condiciones de humedad y frío durante el cultivo o la cosecha del cereal.

Aunque producida por hongos de las mismas especies que DON, la estructura química de la molécula de zearalenona difiere bastante de la del DON y otros tricotecenos. La estructura química de la ZEA confiere a esta micotoxina **efectos estrogénicos** (produce efectos similares a las hormonas femeninas) y puede ser **causa de problemas hormonales en determinadas especies animales**, como por ejemplo, en el cerdo.

La zearalenona puede estar presente en el trigo, cebada, maíz, arroz y en menor medida en otros cereales y otras materias primas de origen vegetal y, como otras micotoxinas, su presencia también se puede detectar en productos transformados. En cereales y piensos la ZEA puede presentarse acompañada de otros congéneres y compuestos relacionados, que en algunos casos, tienen un efecto estrogénico aún mayor que la propia ZEA. Además, debido a esta presencia conjugada, parte de esta contaminación podría acabar ingresando en la cadena alimentaria a través de productos de origen animal como la carne y la leche. En la actualidad se están realizando estudios para conocer el grado en que se produce esta contaminación secundaria.

Desde el punto de vista físico-químico, la ZEA es un compuesto blanco cristalino, que **presenta fluorescencia azul verdosa cuando se le expone a la luz ultravioleta** (360nm) y una fluorescencia verdosa más intensa cuando se le expone a luz ultravioleta de menor frecuencia (260 nm). En solución en metanol, la absorción máxima ocurre a 236 nm, 274 y 316. La máxima fluorescencia en etanol ocurre a radiaciones de 314 nm y con emisiones a 450 nm. Su solubilidad en agua está en torno a 0,002 g/100 ml. Es ligeramente soluble en hexano y progresivamente más soluble en benceno, acetonitrilo, metanol, etanol y acetona. También soluble en soluciones acuosas alcalinas.

Toxicidad e importancia

Los efectos más importantes de la ZEA son sobre el **sistema reproductor**.

La capacidad de la ZEA para originar **efectos hiperestrogénicos**, particularmente en cerdas, se conoce desde hace muchos años. Según estudios realizados, el resultado de alimentar cerdas reproductoras con una dieta con 50 mg/kg de ZEA pura originó abortos y nacimientos de fetos muertos, mientras que niveles de en torno a 10 mg/kg redujeron el tamaño de las camadas y el peso de las crías. También se realizaron ensayos con dietas menos contaminadas (0,25 mg/kg o menores) y se observaron diferentes efectos sobre el sistema reproductor de las cerdas. El cerdo se ha manifestado como el animal doméstico más sensible a la ZEA, pero también se han reportado efectos en terneras, vacas y ovejas.

Se han realizado estudios para determinar la toxicidad sub-aguda y sub-crónica de la ZEA sobre diversas especies por tiempos de exposición mayores a 14 semanas y los resultados muestran que la mayoría de los efectos se deben a su capacidad estrogénica. La capacidad y potencia estrogénica de la ZEA se ha comparado a otros derivados estrogénicos de plantas y esta comparación sugiere que **la ZEA es uno de los más potentes xenoestrógenos naturales**.

Por otro lado, también se han realizado estudios para determinar la capacidad genotóxica y carcinogénica de la ZEA, pero parece ser que los resultados dependen en gran medida de la especie de que se trate. Se necesitan más estudios para poder confirmar o no sus posibles efectos genotóxicos y carcinogénicos en humanos.

Por último, aunque no están todavía muy claros cuales son los efectos de la exposición humana a esta micotoxina, la ZEA fue considerada como el posible agente causal del brote

de un desarrollo pubertal precoz en miles de niñas registrado en Puerto Rico y también se ha sugerido su relación con la ocurrencia de cánceres del cuello del útero.

Productos afectados y presencia natural

Como se ha señalado al comienzo, la ZEA puede estar presente en una gran variedad de productos agrarios y en una amplia variedad de alimentos de estos orígenes, como por ejemplo, cereales de desayuno, cerveza de maíz, harina de trigo, pan, nueces y en piensos para animales.

Dado que la ZEA es producida por los mismos hongos productores de DON y nivalenol, no es extraño que en una misma muestra se puedan presentar mezclas de todas estas micotoxinas.

Estabilidad y persistencia

La ZEA sólo **se descompone parcialmente mediante el calor**. De hecho, aproximadamente el 60% de la ZEA permanece sin cambios en el pan, mientras que aproximadamente el 50% del total resiste el proceso de elaboración de noodles.

En la molienda en seco del maíz, la reducción en el contenido en ZEA en las principales fracciones de la molienda (harina y grits de maíz) alcanzó el 80 – 90%, pero se encontraron concentraciones mucho más elevadas en el salvado y el germen.

En los procesos de extrusión para la obtención de alimentos partiendo de grits de maíz también se han observado importantes reducciones en la concentración de ZEA, siendo esta reducción mayor a temperaturas de 120 – 140°C.

Por otro lado, la molienda del maíz por vía húmeda resulta en un importante aumento de la concentración de ZEA en el gluten (factor de concentración de 2 a 7).

FUMONISINAS

Las fumonisinas son un grupo de al menos 15 micotoxinas estrechamente relacionadas (por su estructura química) que se presentan frecuentemente en el maíz. De todo este grupo, las más relevantes son la fumonisina B₁, B₂ y B₃, siendo **la fumonisina B₁ la más importante**.

Aunque las fumonisinas no se identificaron hasta mediados de los años 80, sus efectos sobre los caballos se conocían desde mucho antes (al menos 150 años).

Las fumonisinas son metabolitos polares producidos por varias especies del genero *Fusarium*, entre las cuales están: *F.moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F.anthophilum*, *F.dlamini* y *F.napiforme*.

Es frecuente que las fumonisinas se presenten junto con otras micotoxinas, como por ejemplo, aflatoxinas, DON y ZEA.

Desde el punto de vista físico-químico, la fumonisina B₁ en estado puro es un polvo blando, soluble en agua, mezclas de agua – acetonitrilo o metanol. Como se ha señalado anteriormente las fumonisinas, por su estructura química, son compuestos polares, motivo por el cual, **son solubles en solventes polares**.

Por otro lado, su **insolubilidad en gran número de solventes orgánicos** como por ejemplo el cloroformo y el hexano, comúnmente usados en los análisis de micotoxinas, explica lo complicado de su identificación inicial.

Las fumonisinas B₁ y B₂ son **estables en metanol si se mantienen a temperaturas de -18°C**, pero se van degradando a temperaturas en torno a los 25°C y mayores. Por otro lado, **pueden mantenerse perfectamente por espacio de 6 meses a 25°C en soluciones de agua-acetonitrilo (1:1)**.

Toxicidad e importancia

Los efectos de las fumonisinas se han podido observar durante años en forma de una enfermedad mortal en caballos y especies relacionadas llamada "leucoencefalomalacia equina".

Si comparamos la toxicidad de las fumonisinas con las aflatoxinas en base únicamente a la dosis necesaria para producir una intoxicación aguda, las fumonisinas están bastante lejos de la capacidad tóxica de las aflatoxinas, pero lo que ocurre es que las fumonisinas en el maíz pueden llegar a alcanzar concentraciones muy elevadas (en partes por millón), superiores incluso a los 300 mg/kg.

La toxicidad de las fumonisinas se debe principalmente a sus **efectos sobre la síntesis en el organismo de los esfingolípidos de las neuronas**. Además, las alteraciones en la síntesis de estos esfingolípidos se produce casi de forma inmediata tras la ingestión de producto contaminado con fumonisinas.

El rango de efectos que pueden producir las fumonisinas en los mamíferos **depende mucho de las especies de que se trate**. Por ejemplo, en los **equinos**, los animales afectados comienzan perdiendo el apetito, después aparecen letárgicos y desarrollan efectos neurotóxicos tras un periodo de consumo de piensos contaminados. Las autopsias muestran edemas cerebrales y licuefacciones en diferentes áreas de los hemisferios cerebrales. Generalmente, el hígado también aparece afectado y, en casos graves, pueden observarse importantes lesiones en el hígado con fibrosis en áreas del lóbulo central.

Por su parte, en **cerdos**, la contaminación con fumonisinas induce edema pulmonar e hidrotorax (cavidades torácicas rellenas de un líquido amarillo). Por último, estudios en ratas alimentadas con sustancias obtenidas del cultivo de *F.moniliforme*, se ha observado el desarrollo de carcinomas hepatocelulares. Además, fumonisina B₁ ha mostrado efectos sobre los fetos en ratas preñadas, disminuyendo el peso de las camadas y afectando al desarrollo óseo de los fetos

En **humanos**, parece existir una relación entre el consumo de maíz altamente contaminado en algunas partes del mundo y el desarrollo de **cáncer de esófago**. Si bien se necesitan más datos y estudios para clarificar la relación entre la presencia de *F. moniliforme* y sus metabolitos y su incidencia en el desarrollo de cáncer de esófago en Transkei, China y el norte de Italia, donde la incidencia es alta.

Productos afectados y presencia natural

Cuando se identificó por primera vez a las fumonisinas, se pensó que su presencia estaba limitada al maíz. Posteriormente también se han detectado en otros productos como el arroz, el sorgo y en las judías blancas, pero en mucha menor concentración que las que son habituales en maíz. La acumulación significativa de fumonisina B₁ en maíz ocurre cuando las condiciones climatológicas favorecen el desarrollo de *Fusarium kernel rot* (podredumbre del grano por *Fusarium*).

Además, las actividades de vigilancia han demostrado que **las fumonisinas pueden estar presentes también en un número de productos acabados**, como por ejemplo, la polenta, los cereales de desayuno elaborados con maíz, la cerveza o los aperitivos. No se han detectado en leche, carne o huevos.

La exposición del ser humano a las fumonisinas es bastante común a nivel mundial, pero existen considerables diferencias en el grado de exposición entre las diferentes regiones productoras de maíz. Este hecho es más evidente cuando se comparan países desarrollados y países en vías de desarrollo. Mientras que la contaminación del maíz por fumonisinas se puede producir en los EE.UU., Canadá y en países del oeste de Europa, la exposición del ser humano en estos países es bastante modesta. Por el contrario, en países de África, América del Sur y Central y Asia, en algunas poblaciones un alto porcentaje de las calorías de su dieta proceden del maíz y normalmente este hecho coincide con las regiones productoras donde la contaminación del maíz por fumonisinas puede ser mayor.

Estabilidad y persistencia

Durante el procesado del maíz, las partes resultantes de los procesos de cernido se ha demostrado que contienen altos niveles de fumonisinas y su retirada puede ayudar a reducir la concentración global. La molienda en seco del maíz tiene como consecuencia una distribución de los contenidos en fumonisinas en las diferentes fracciones que se obtienen de la molienda, de modo que la concentración resultante en el salvado es mayor que la concentración original en el maíz de partida, mientras que las concentraciones resultantes en otras fracciones pueden ser menores.

En moliendas vía húmeda en forma experimental, se han detectado fumonisinas en los restos de agua, en el gluten, la fibra y el germen, pero no en el almidón. La migración de la fumonisinas al agua durante la molienda del maíz en vía húmeda es por tanto una manera efectiva de reducir las concentraciones de fumonisinas en los productos molidos.

Las **fumonisinas son bastante estables y no se destruyen por acción de calor moderado**. En cualquier caso, no se han detectado fumonisinas en la harina de maíz utilizada para hacer las típicas tortillas, ya que esta se somete a un tratamiento con hidróxido cálcico (nixtamalización), lo cual sugiere que este tipo de proceso degrada las fumonisinas. También se ha comprobado que **el tratamiento con calor a altas temperaturas produce una reducción en la concentración de fumonisinas de alrededor del 80%**. En cualquier caso, es necesario realizar más estudios en torno a la reducción de fumonisinas, ya que los metabolitos resultantes de su degradación podrían resultar tan tóxicos como las propias fumonisinas de partida.

TOXINAS T2 Y HT-2

Las toxinas T-2 y HT-2 son micotoxinas del denominado grupo de los sesquiterpenos, comúnmente denominados tricotecenos. Las estructuras químicas de las moléculas de T-2 y HT-2 difieren únicamente en un grupo funcional: la toxina T-2 tiene un grupo acetilado en C-4 mientras que la toxina HT-2 no es acetilado. Ambas son toxinas del tipo de los tricotecenos tipo A.

Son producidas por varias especies del género *Fusarium*, incluyendo *Fusarium langsethiae*, *F. sporotrichoides*, *F. poae*, *F. equiseti*, *F. acuminatum*, así como especies de otros géneros como *Myrothecium*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium*, *Trichoderma*, *Trichothecium* y *Stachybotrys*.

Generalmente, estas especies de *Fusarium* se desarrollan e invaden los cultivos pudiendo producir las toxinas T-2 y HT-2 en condiciones de frío y humedad antes de la cosecha.

Las investigaciones han puesto de manifiesto la presencia de T-2 y HT-2 en diversos granos como el trigo, el maíz, la avena, la cebada, arroz, judías y habas de soja así como en sus productos derivados. Dentro de los cereales, que son los productos donde aparecen con más frecuencia, **el más afectado parece ser la avena y sus productos derivados.**

Fusarium langsethiae parece ser el principal productor de toxinas T-2 y HT-2, pero pudiera no ser la única especie responsable porque, otras especies como por ejemplo *Fusarium poae* o *Fusarium Sporotrichioides* también han sido identificadas como posibles productoras de toxinas T-2 y HT-2.

Los cereales y los productos a base de cereales, en particular el pan, los panecillos, los cereales molidos y los cereales de desayuno, suponen la mayor contribución de la dieta a la exposición total a la suma de las toxinas T-2 y HT-2.

Toxicidad e importancia

La toxina T-2 inhibe la síntesis de proteínas, de ARN y ADN, amén de otros mecanismos bioquímicos que pueden afectar a la integridad de las membranas de las células.

Los efectos tóxicos sobre el organismo que ejercen las toxinas T-2 y HT-2 incluyen la **inhibición de la síntesis proteica**, que afecta también a la síntesis de inmunoglobulinas y por tanto a la inmunidad humoral (la ejercida por inmunoglobulinas y otras macromoléculas). El **sistema inmunitario es el más afectado por la acción de estas toxinas**, lo que puede aumentar la susceptibilidad de los individuos a las infecciones.

Por otro lado, la **alteración de las funciones de la membrana celular y la peroxidación lipídica son los responsables de muchos de los efectos agudos de las toxinas T-2 y HT-2**, incluyendo las lesiones necróticas que se observan en las zonas de contacto. La apoptosis (muerte celular) de células de tejidos que se renuevan con una alta tasa de crecimiento (como por ejemplo, las células de la médula ósea – inhibición de la hematopoyesis-) y del sistema inmune (reducción del sistema inmune) son los responsables de la toxicidad sistémica que sigue a una exposición a través de la dieta.

Según se señala en el informe científico de EFSA, la información disponible sobre la toxicocinética de las toxinas T-2 y HT-2 es incompleta. La toxina T-2 es rápidamente metabolizada en otros productos, siendo la toxina HT-2 el principal metabolito. Los procesos metabólicos

son variados (hidrólisis, hidroxilación,...) y la distribución y excreción de la toxina T-2 y sus metabolitos es rápida. No existe tampoco información significativa sobre la toxicidad de la mayoría de sus metabolitos. Se cree que la de-epoxidación es un proceso de detoxificación.

Las toxinas T-2 y HT-2 son tóxicas para todas las especies animales y para el ser humano. Casos históricos de intoxicaciones en humanos asociadas con el consumo de cereal enmohecido que había sido almacenado durante todo el invierno se describen como Aleuquia Tóxica Alimentaria (ATA) caracterizada por la aparición de sepsis y hemorragias y una pancitopenia general (niveles bajos de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas).

Las diferencias significativas en la sensibilidad a las toxinas T-2 y HT-2 entre especies monogástricas y rumiantes son atribuibles a la efectiva eliminación presistémica (de-epoxidación) de las toxinas que ejerce la flora microbiana del rumen.

Según las investigaciones publicadas, los cerdos se encuentran entre los animales más sensibles a los efectos de la toxina T-2, con efectos sobre su sistema inmunológico y hemático que aparecen a partir de dosis de 29 µg/kg de peso al día.

Otra de las especies que resultan especialmente sensibles a la toxina T-2 son los gatos. Probablemente su mayor sensibilidad esté asociada a la imposibilidad de excretar la toxina T-2 y sus metabolitos vía glucuronización conjugada.

La Comisión Técnica Científica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria (Comisión CONTAM) de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha establecido una ingesta diaria tolerable (TDI) de 100 ng/kg de peso corporal para la suma de las toxinas T-2 y HT-2. **Las estimaciones de la exposición alimentaria humana crónica a la suma de las toxinas T-2 y HT-2 basadas en los datos de presencia disponibles están por debajo de la ingesta diaria tolerable para las poblaciones de todos los grupos de edad y no representan, por lo tanto, un peligro inmediato para la salud.**

En cuando a la exposición de los animales, para rumiantes, conejos y peces procedentes de acuicultura la exposición estimada a estas toxinas, en base a los datos sobre presencia disponibles, se considera poco probable que representen un problema de salud, mientras que para cerdos, aves, perros y caballos la posibilidad de que se presenten efectos adversos es baja. Los riesgos para la salud de los gatos como consecuencia la exposición a estas toxinas no han podido ser evaluados, debido a los escasos datos disponibles y los graves efectos negativos para la salud en dosis bajas, no ha podido establecerse ningún NOAEL o LOAEL.

La Comisión CONTAM concluyó, además, que la transferencia de las toxinas T-2 y HT-2 de los piensos a los productos alimenticios de origen animal es limitada y, por consiguiente, su contribución a la exposición humana es insignificante.

Productos afectados y presencia natural

Las investigaciones han puesto de manifiesto la presencia de T-2 y HT-2 en diversos granos como el trigo, el maíz, la avena, la cebada, arroz, judías y habas de soja así como en sus productos derivados. Dentro de los cereales, que son los productos donde aparecen con más frecuencia, **el más afectado parece ser la avena y sus productos derivados.**

Los cereales y los productos a base de cereales, en particular el pan, los panecillos, los cereales molidos y los cereales de desayuno, suponen la mayor contribución de la dieta a la exposición total a la suma de las toxinas T-2 y HT-2.

Se detectan contenidos más elevados en cereales sin procesar que en los productos resultantes de su transformación para alimentación humana, lo cual indica que los procesos que se aplican actúan reduciendo en cierta medida las concentraciones de partida.

Sin duda, el factor más importante para el desarrollo de *Fusarium* spp. y de la producción de toxinas es el clima, y en este caso las **bajas temperaturas acompañadas de alta humedad**. Como estas condiciones climáticas varían año a año, se debe prever una mayor presencia de estas toxinas y mayores concentraciones en años donde las condiciones climáticas son favorables.

Estabilidad y persistencia

La toxina T-2 se metaboliza rápidamente en un elevado número de metabolitos secundarios, siendo la toxina HT-2 el principal metabolito. Al igual que otras toxinas similares, la presencia de T-2 y HT-2 en el grano se localiza principalmente en las capas externas, por lo que los procesos de limpieza, selección, cernido y descascarillado del grano conducen a un marcado incremento de estas toxinas en los subproductos, como por ejemplo, en el salvado.

Durante el proceso de molienda, las toxinas T-2 y HT-2 no son destruidas, pero sí redistribuidas entre las diferentes fracciones.

Dependiendo del tipo de cereal de partida y de su procesado se pueden alcanzar diferentes grados de reducción en la contaminación inicial. Por ejemplo, **en el caso de avena contaminada con T-2 y HT-2 en niveles de 200 µg/kg en el grano cosechado, la limpieza y el descascarillado previo a la molienda puede llegar a reducir la contaminación en un 80-95%**, pero esta reducción es menor si la concentración inicial de micotoxinas es menor. En el caso de la avena además **se pueden conseguir mayores reducciones retirando los granos descoloridos**, ya que en estos el contenido en T-2 y HT-2 puede ser hasta 10 veces mayor que en los granos de color normal.

En paralelo a la reducción que se consigue en los productos destinados a la alimentación humana con las técnicas de procesado se produce una elevación de los niveles en los subproductos o coproductos del proceso. El factor de concentración frente a los contenidos iniciales en el grano puede llegar a ser de entorno al 5 en el caso de la avena.

En el caso del trigo, el factor de concentración estaría en torno a 3 para el caso del germen y al 6 en el salvado.

No existen evidencias de que estas toxinas se acumulen en los tejidos de los animales que han sido alimentados con piensos contaminados con toxinas T-2 / HT-2, lo cual hace muy improbable la exposición de los consumidores por consumo de productos de origen animal.

El cocinado y el horneado parecen tener poco efecto sobre las concentraciones iniciales de T-2 y HT-2, aunque no está del todo claro, pues en algunos experimentos sí se han alcanzado reducciones en las concentraciones de partida (elaboración de gachas de avena, horneado de pan de avena y trigo), pero no son concluyentes y tienen bastante variabilidad. Un proceso que sí se ha confirmado que reduce los contenidos iniciales es el malteado.

Actuales medidas de gestión a nivel UE:

En el año 2013 se publicó en el DOUE la **Recomendación 2013/165/UE sobre la presencia de las toxinas T-2 y HT-2 en los cereales y en los productos a base de cereales**. Esta Recomendación insta a la recogida de más datos sobre las toxinas T-2 y HT-2 en los cereales y productos a base de cereales, dada la amplia variación de la presencia de estas toxinas año a año, la necesidad de conocer con más detalle los efectos de la transformación de los alimentos, así como la influencia de factores agronómicos sobre la presencia de dichas toxinas. Estos resultados del control de los cereales y los productos a base de cereales se utilizarán para evaluar los cambios y las tendencias en la exposición humana a estas micotoxinas.

En este sentido, **la Recomendación establece una serie de niveles indicativos para cereales sin transformar y para productos derivados**, y recomienda a los Estados miembros, con la participación activa de los explotadores de empresas alimentarias, la realización de investigaciones cuando se superen determinados niveles indicativos recogidos en su Anexo y poder determinar las medidas que deben tomarse para evitar o reducir dicha presencia en el futuro.

Los actuales niveles indicativos pueden consultarse en la Tabla 6 de esta Guía.

2.4 CORNEZUELO DE CENTENO

Los alcaloides de cornezuelo de centeno son unos metabolitos producidos por varias especies pertenecientes a los órdenes Hypocreales y Eurotiales. Todas las especies del género *Claviceps* del orden Hypocreales pueden infestar las plantas pertenecientes a la familia de las gramíneas, tanto cereales como hierbas.

Las hifas de los hongos invaden el óvulo de la planta que actúa como hospedador y colonizan todo el ovario. De tres a cuatro semanas después de la infección el cuerpo del hongo se vuelve visible y reemplaza a algunos granos de la espiga. **Esta forma del hongo se conoce como esclerocio**, es de color oscuro, con forma de media luna y puede verse como sobresale de la regularidad granos de la espiga y representan la etapa final de la enfermedad.



El centeno es el cereal que más frecuentemente se puede ver infectado por este hongo. De hecho, en castellano, el esclerocio de los hongos del género *Claviceps* se conoce como cornezuelo del centeno y en inglés como ergot.

La presencia de alcaloides de cornezuelo de centeno en granos de cereales está relacionada en cierta medida con la presencia en estos granos de esclerocios de dicha especie. Esta relación no es absoluta, ya que los alcaloides de cornezuelo de centeno también pueden proceder del polvo de esclerocios de cornezuelo de centeno adsorbido a los granos de cereales.

Desde el punto de vista bioquímico, los alcaloides de cornezuelo se clasifican como alcaloides derivados del triptófano y los efectos fisiológicos de esta clase de compuestos se han conocido desde los tiempos bíblicos. En la Edad Media, el consumo de granos, harina o panes contaminados con alcaloides de cornezuelo originaron epidemias graves como la enfermedad conocida como el Fuego de San Antonio. Hoy en día, la causa de la enfermedad, denominada "ergotismo" se conoce bien.

El aumento del conocimiento científico y las mejoras en las prácticas agrícolas y en las técnicas de molienda (pre-limpieza del cereal, tamizado y selección) han eliminado brotes epidémicos graves de ergotismo en las últimas décadas.

Además de su papel como contaminantes alimentarios graves, los alcaloides de centeno muestran un amplio espectro de efectos farmacológicos y fueron utilizados en aplicaciones médicas durante cientos de años. Los alcaloides de centeno y sus derivados fueron aplicados o probados para la inhibición de la prolactina, el tratamiento del parkinson, la insuficiencia cerebrovascular, insuficiencia venosa, trombosis, embolia, en la estimulación cerebral y del metabolismo periférico, y hoy todavía se utilizan para tratar la migraña y en la estimulación uterina. Se han identificado más de 50 alcaloides de cornezuelo de centeno.

Productos afectados y presencia natural

En Europa, *Claviceps purpurea* es la especie del género *Claviceps* más extendida. Es conocida por poder infectar más de 400 especies de plantas, incluyendo algunas de la familia de las gramíneas de alto valor económico como el centeno, trigo, triticale, cebada, mijo y avena.

El centeno es su huésped favorito. Abunda en los años húmedos en campos descuidados de este cereal. Su presencia es **más frecuente en regiones lluviosas.**

Su aspecto, que recuerda el de pequeños clavillos ligeramente curvados, de sección vagamente triangular y terminados en una esferilla a manera de cabeza de clavo, dan lugar a su nombre científico. Estas fructificaciones, que brotan de las espigas del centeno, alcanzan una longitud de 40 a 60 mm por unos 4 ó 5 mm de grueso, de color blanquecino al principio que después se torna de color negro azulado.

El esclerocio es la parte tóxica por la elevada cantidad de compuestos farmacológicamente activos que tiene en su composición. Entre las sustancias químicas que contiene está el ácido lisérgico, precursor del potente alucinógeno conocido como LSD.

Durante el procesado, en particular, en la cocción, la cantidad total de alcaloides de cornezuelo disminuye y la relación entre las formas epiméricas cambia hacia las formas "-inina".

Los procesos de molienda dan lugar a una redistribución de las partículas de esclerocios en diferentes fracciones de molienda. En los productos que consisten principalmente en granos enteros y que son consumidos como tales, no tienen lugar estos procesos de redistribución y dilución debidos a los efectos de la molienda u otras fases del procesado. En esos casos, un solo esclerocio podría acabar entrando en una ración de alimentos y por lo tanto dar lugar a una exposición comparativamente elevada para los consumidores de dichos productos.

Toxicidad e importancia

Sobre la base de los alcaloides identificados en el esclerocio de *C. purpurea* y recientes datos de la literatura, el Panel CONTAM concluyó que el análisis químico debería centrarse en los **principales alcaloides producidos por *C. purpurea***, a saber, **la ergometrina, ergotamina, ergosina, ergocristina, ergocriptina** (que es un mezcla de α - y β -isómeros), **ergocornina, y las correspondientes epímeros** (que se nombran con el sufijo "-inina").

La información disponible para otros hongos productores de este tipo de alcaloides, en particular *C. fusiformis*, relevante para el mijo perla, y *C. africana*, relevante para el sorgo, es limitada.

La estimación de la exposición alimentaria humana a los alcaloides de centeno ha estado muy influenciada por el hecho de que la mayor parte de los datos de consumo disponibles en la base de datos europea de la EFSA se refiere a alimentos procesados, y había una cantidad limitada de datos sobre alimentos sin procesar.

Los países con un alto consumo de pan y panecillos de centeno mostraron la más alta exposición vía dieta (tanto crónicos como agudos) a través de los diferentes grupos de edad.

La evaluación de la exposición alimentaria a alcaloides de centeno en grupos específicos de la población (los vegetarianos y consumidores de granos sin procesar) se basó en datos limitados. Los resultados no indicaron diferencias significativas entre los vegetarianos y la población en general, mientras que los consumidores de granos sin procesar podrían tener ligeramente mayor exposición alimentaria a los alcaloides de centeno que la población general.

La exposición a alcaloides de centeno por el ganado y los animales domésticos es más probable que ocurra como resultado de consumir raciones que contienen los granos de cereales y subproductos de cereales, en particular, el centeno, el sorgo y el mijo y subproductos derivados de ellos. Dentro de la UE, el centeno, el sorgo y el mijo no son ampliamente utilizados como alimento para el ganado, aunque donde se cultivan comercialmente estos alimentos pueden ser más ampliamente utilizados en las raciones del ganado. Los forrajes contaminados presentan un riesgo potencial en aquellas áreas en las que las condiciones ambientales favorecen el desarrollo de los esclerocios.

Los datos sobre la toxicocinética son escasos y se limitan principalmente a aquellos alcaloides del cornezuelo de centeno que se utilizan como productos farmacéuticos en los seres humanos.

Los alcaloides del cornezuelo de centeno exhiben toxicidad oral aguda moderada. La **exposición aguda subletal induce signos de neurotoxicidad**, incluyendo inquietud, miosis o midriasis, debilidad muscular, temblor y rigidez. Los alcaloides del cornezuelo de centeno actúan sobre un número de receptores de neurotransmisores, particularmente adrenérgicos, dopaminérgicos y receptores serotoninérgicos. En la administración repetida de diversos alcaloides de cornezuelo, estos efectos sobre los receptores resultan en isquemia, especialmente en las extremidades, como las colas de ratas, disminución de la ganancia de peso corporal y cambios en los niveles de algunas hormonas.

Los alcaloides de cornezuelo tienen una serie de efectos en el proceso reproductivo en los roedores, incluyendo la prevención de embarazo interfiriendo con la implantación, embriotoxicidad, y la inhibición de la lactancia.

Con la excepción de ergotamina, se han llevado a cabo muy pocos estudios sobre genotoxicidad en forma natural que se presentan los alcaloides de cornezuelo. Los datos disponibles sobre la ergotamina no indicaron mutaciones en las células bacterianas o de mamíferos. En una investigación sobre la posible carcinogenicidad, las ratas tratadas con ergotoxina por períodos de hasta dos años desarrollaron un ligero aumento en neurofibroma en las orejas, y las expuestas a cornezuelo presentaron un nivel 6 veces mayor de estos tumores.

El grupo CONTAM concluyó que la información disponible sobre la genotoxicidad y carcinogenicidad de alcaloides de centeno indican que los tumores observados estaban relacionados con un modo no genotóxico de acción.

La interacción de los alcaloides de cornezuelo con receptores de neurotransmisores podría resultar en efectos de tipo agudo, así como a más largo plazo, por lo tanto, el Panel CONTAM considera adecuado establecer tanto una dosis aguda de referencia (DRA) y una ingesta diaria tolerable (TDI) para alcaloides de cornezuelo de centeno.

El Panel CONTAM estableció una dosis aguda de referencia de 1 µg/kg de peso corporal (redondeado a una cifra significativa).

Al establecer un TDI, y en línea con la recomendación del Comité Científico de la EFSA, la Panel CONTAM estableció un TDI de 0,6 µg/kg de peso corporal por día (redondeado a una cifra significativa).

Los datos disponibles no permiten la determinación de potencias relativas para cada uno de los alcaloides de cornezuelo, pero para aquellos que sí existen estudios comparables parece que no hay diferencias marcadas. Por lo tanto, el Grupo Especial concluyó que, suponiéndoles una potencia similar, las DRA y las TDI lo son para el grupo de alcaloides de cornezuelo de centeno evaluados (DRA de 1 µg/kg de peso corporal y un grupo TDI de 0,6 µg / kg de peso corporal por día para la suma de los alcaloides de centeno evaluados).

El conocimiento sobre las relaciones dosis-efecto en los seres humanos se basa principalmente en el uso terapéutico de la ergotamina y sales de ergometrina. Una sola dosis de tan sólo 2 µg/kg de peso corporal de ergometrina es la que se utiliza para inducir las contracciones uterinas. Esta dosis se ha utilizado como un punto de partida terapéutico y, si resulta ineficaz, se repite la administraron y/o se administran dosis más altas.

En el tratamiento de la migraña, la dosis más baja prescrita de ergotamina (que no ha mostrado evidencia convincente de actividad farmacológica) es 13-26 µg ergotamina por kilo de peso corporal, que es de 10 a 20 veces mayor que la TDI establecida como dosis aguda de referencia y de 20 a 40 veces mayor que la establecida como TDI. Además, la dosis terapéutica máxima recomendada por vía oral de ergotamina para adultos es de 8 µg/kg de peso corporal por día durante un período de 30 días para evitar posibles efectos adversos graves asociados con la sobredosis, como vasoconstricción periférica. Esto es 13 veces mayor que la TDI establecida para el conjunto de alcaloides de centeno.

Estas comparaciones con las dosis utilizadas en la medicina humana proporcionan apoyo adicional en la justificación de los valores DRA y TDI establecidos para el grupo.

La exposición crónica alimentaria media y la más alta estimadas para la suma de alcaloides de cornezuelo para todos los grupos de edad a través de encuestas alimentarias a nivel europeo están en todos los casos por debajo de la TDI de 0,6 µg/kg de peso corporal por día establecida por el Panel CONTAM. Estas estimaciones reflejan que los alcaloides de cornezuelo predominantemente presentes en los alimentos, e incluso teniendo en cuenta una posible contribución adicional de alcaloides que no se midieron no representan un problema de salud.

Esta conclusión también se aplica a la exposición alimentaria crónica específica para subgrupos con una posibilidad de exposición superior a la población general, es decir, los vegetarianos y consumidores de granos crudos.

La media estimada para la exposición alimentaria aguda a la suma de alcaloides de centeno para todos los grupos de edad a través de la encuesta dietética europea indica que se está por debajo de la DRA de grupo de 1 µg/kg de peso corporal establecida por el Panel CONTAM, tanto para la población en general y como para el subgrupo específico de consumidores de granos sin procesar, y no indican que supongan un problema de salud. En el caso concreto de la exposición alimentaria aguda del grupo de "grandes consumidores", los datos disponibles tampoco indican una preocupación.

Si bien los datos disponibles no indican un problema de salud, las estimaciones de la exposición dietética se refieren a un número limitado de grupos de alimentos y una posible contribución desconocida de otros alimentos no puede ser descartada.

Desde la publicación del dictamen de EFSA (2005) sobre los alcaloides del cornezuelo de centeno en los piensos, no se ha identificado nueva información relevante que pueda alterar la evaluación del riesgo conocido. Las estimaciones de la exposición sobre la base de dietas y niveles medios de alcaloides de centeno en los granos de cereales que han sido informados en Europa sugieren que en condiciones normales el riesgo de intoxicación en el ganado es bajo. Además, el riesgo de ergotismo en el ganado como una consecuencia del consumo de granos de cereales contaminados, o piensos compuestos fabricados a partir de cereales contaminados, es reducida donde se lleva a cabo una adecuada limpieza de las semillas.

Actuales medidas de gestión a nivel UE:

Hace años que desde los servicios responsables de la evaluación y gestión de riesgos alimentarios de la Comisión se están planteando la adopción de posibles medidas de control para los alcaloides del cornezuelo de centeno en cereales y productos derivados.

Inicialmente, la Comisión se planteó la posibilidad de establecer contenidos máximos concretos sobre la presencia de 6 de los principales alcaloides producidos por el hongo *Claviceps purpurea*, pero los métodos analíticos disponibles son todavía a día de hoy caros, complejos, poco accesibles y no permiten un control rutinario de estos contaminantes y los consiguientes problemas que su aplicación y cumplimiento plantearía a las industrias.

Desde la industria transformadora de cereal siempre se ha visto como una medida de control más práctica y realista el establecimiento de un contenido máximo para el propio esclerocio del cornezuelo del 0,05% sobre el cereal, ya que esta medida ayudaría a reducir significativamente la posible presencia de alcaloides de cornezuelo de centeno en productos derivados de cereales.

La presencia del esclerocio del cornezuelo de centeno puede ser fácilmente detectada por simple análisis visual del cereal, tanto en campo como en el cereal recolectado. Pero en el momento que ese cereal infectado entra en la cadena de aprovisionamiento (transporte, comercialización, producción de alimentos y piensos), el cuerpo del hongo (esclerocio) empieza a desmenuzarse y, debido a su alto contenido en grasa, va dejando una capa de residuo en todo lo que toca. Por lo que, **la retirada temprana del hongo a nivel agricultor supone una fase crucial para su control efectivo.**

La disponibilidad y uso de diferentes tipos de máquinas de limpieza y selección del cereal permiten, en casos de presencia de cornezuelo de centeno, una importante reducción efectiva del mismo. Esta limpieza y selección de cereal se realiza mediante cribas, separadores y nuevas tecnologías más sofisticadas y costosas como es el equipo Sortex de selección del cereal por métodos ópticos.

La Comisión Europea publicó en marzo de 2012 una **Recomendación oficial a todos los Estados miembros (EM) para que realicen una serie de controles sobre la presencia de alcaloides de cornezuelo de centeno en los piensos y en los alimentos**, especialmente con vistas a ampliar los conocimientos sobre la relación entre el contenido de esclerocios y el nivel de alcaloides de cornezuelo de cada muestra.

Esta **Recomendación sigue estando vigente**, y los EM deben reportar los resultados de los análisis periódicamente a la EFSA para que puedan recopilarse en una base de datos. En concreto, según el texto de esta Recomendación,

- Los Estados miembros (EM) deberán llevar a cabo, contando con la participación activa de los explotadores de empresas alimentarias y de piensos, un seguimiento de la presencia de los alcaloides de cornezuelo en los cereales y productos a base de cereales destinados al consumo humano o a la alimentación de los animales, en los pastos o las gramíneas forrajeras para la alimentación de los animales y en los piensos y alimentos compuestos.
- Los EM deben analizar las muestras en relación con, al menos, los siguientes alcaloides del cornezuelo:
 - la ergocristina o ergocristinina,
 - la ergotamina o ergotaminina,
 - la ergocriptina o ergocriptinina,
 - la ergometrina o ergometrinina,
 - la ergosina o ergosinina,
 - la ergocornina o ergocorninina.
- Los EM deben determinar al mismo tiempo, en la medida de lo posible, el contenido de esclerocios de las muestras para ampliar los conocimientos sobre la relación entre el contenido de esclerocios y el nivel de alcaloides de cornezuelo de cada muestra.
- Los resultados de los análisis deben presentarse periódicamente a la EFSA para que puedan recopilarse en una base de datos.

Finalmente, a mediados del mes abril de 2015 el Comité Permanente de la Cadena Alimentaria aprobó la modificación del Reglamento 1881/2006, de contaminantes en productos alimenticios para introducir un **contenido máximo de 500 mg/kg (0,05%) de cornezuelo de centeno en todos los cereales excepto en maíz y arroz**.

Esta medida fue publicada en el DOUE a finales del mes de octubre de 2015 como Reglamento UE 2015/1940 de la Comisión, de 28 de octubre de 2015, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 en relación con el contenido máximo de esclerocios de cornezuelo de centeno en determinados cereales no elaborados, el cual, además del establecimiento de contenidos máximos de cornezuelo de centeno en todos los cereales (a excepción del maíz y el arroz), también introduce una importante modificación de la nota a pie 18 del Reglamento CE1881/2006 para introducir algunas aclaraciones respecto a la definición de "cereales no elaborados", con importantes implicaciones para las empresas de primera transformación que cuentan con sistemas integrados de producción, sobre la que se informa en detalle en el punto 3.4 de esta Guía.

3. LEGISLACIÓN SOBRE MICOTOXINAS EN LA UNIÓN EUROPEA

3.1 Introducción

Desde el descubrimiento de las aflatoxinas a comienzos de los años sesenta, se han ido estableciendo distintas normativas en otros tantos países con el fin de proteger al consumidor de los efectos dañinos sobre la salud derivados de la presencia de estos contaminantes en los alimentos.

El reconocimiento por parte de las autoridades de los distintos efectos que sobre la salud de las personas y de los animales se derivan de la contaminación de alimentos y piensos con micotoxinas, llevó a que se establecieran límites máximos para aflatoxinas y otras micotoxinas en diferentes países por todo el mundo.

En el caso concreto de Europa, el establecimiento de límites máximos en micotoxinas por parte de algunos de los Estados miembro de la UE, llevó a la Comisión a adoptar una normativa armonizada a nivel UE, con el principal objetivo de proteger la salud de los consumidores europeos, pero también para evitar distorsiones en el mercado interior por causa de la existencia de diferentes legislaciones nacionales en la materia.

En la aprobación de este tipo de normas a nivel europeo influyen distintos factores como por ejemplo, la disponibilidad de datos toxicológicos y epidemiológicos, la presencia y distribución de micotoxinas en las materias primas y productos alimenticios, y la disponibilidad de un método analítico adecuado, sin olvidar otros factores de tipo económico y político, como por ejemplo, intereses comerciales y suficiente abastecimiento de alimentos, que también tienen su influencia en el proceso.

3.2 El principio de protección del consumidor

La mayoría de las micotoxinas, como ya se ha indicado en la introducción de esta guía, son sustancias genotóxicas que pueden estar presentes en un amplio número de alimentos.

Los actuales conocimientos a nivel científico – técnico y las mejoras en la producción y técnicas de almacenamiento no previenen totalmente el desarrollo de los mohos productores de micotoxinas y, consecuentemente, no permiten que la presencia de micotoxinas en los alimentos sea eliminada por completo. Por ello, es necesario establecer límites máximos en unos niveles tan bajos como razonablemente se puedan alcanzar a fin de proteger la salud del consumidor. Además, como en la evaluación toxicológica se pueden presentar algunas incertidumbres, en el momento de fijar límites máximos, es necesario establecer unos márgenes de seguridad, incluso si la evaluación de efectos sobre la salud no resulta concluyente.

El proceso para el establecimiento de límites o contenidos máximos en micotoxinas, se inicia con la realización por parte de las autoridades responsables de una estimación de los riesgos en base a los datos toxicológicos disponibles, como por ejemplo, identificando las sustancias tóxicas, el proceso metabólico que tiene lugar y la determinación, mediante ensayos en animales, de los efectos y dosis de las intoxicaciones aguda y crónica.

Toda esta información tiene que ser posteriormente relacionada con la información disponible sobre la presencia de estas micotoxinas en los diferentes alimentos y sobre la presencia de estos alimentos en el conjunto de la dieta de los consumidores. A este

respecto, se pueden presentar diferencias en la ingesta media entre diferentes grupos de consumidores, debiéndose prestar especial atención a grupos vulnerables como por ejemplo, bebés y niños, ya que pueden ser más susceptibles incluso si se exponen a contenidos menores de estos contaminantes.

Por último, antes de que los contenidos máximos sean fijados, se deberán desarrollar y validar métodos analíticos apropiados. En este sentido, es vital asegurar que los laboratorios cuentan con métodos de análisis comparables entre sí en cuanto a su nivel de precisión y sensibilidad. A nivel europeo esto se consigue mediante el establecimiento de unos criterios generales que los métodos de análisis deberán cumplir para ser considerados como válidos y adecuados.

Igualmente, en el caso de las micotoxinas, resultan especialmente cruciales los planes de muestreo, ya que debido a su distribución heterogénea en las muestras, el muestreo es una fase determinante en la precisión del resultado final de los análisis. Por ello, paralelamente al establecimiento de límites máximos, las autoridades deben establecer reglamentariamente métodos y planes de muestreo estadísticamente probados y basados en el estado actual de los conocimientos para su aplicación por todos los Estados miembros. Además, deben de ser lo suficientemente flexibles para permitir incorporar los avances que se vayan produciendo en esta materia a nivel científico y técnico.

Los métodos de muestreo establecidos reglamentariamente lo son para fines de control oficial de productos alimenticios por parte de las autoridades responsables, pero la legislación general permite el empleo de otros métodos de muestreo alternativos para otros fines (ej.: control interno, o a nivel comercial) siempre que se demuestren apropiados.

3.3 Autoridades responsables del establecimiento de límites máximos de micotoxinas

Para el establecimiento vía normativa de contenidos máximos de micotoxinas se deben tomar en consideración diversos aspectos y por ello, diferentes organizaciones científicas, autoridades y otros organismos relevantes están implicados en este proceso.

Como se ha indicado anteriormente, lo primero que debe hacerse es una evaluación toxicológica de la sustancia con vistas a determinar su impacto sobre la salud humana y sobre el medio ambiente. En esta primera fase pueden intervenir diversos organismos, como por ejemplo, la sección responsable de Seguridad Química de la Organización Mundial de la Salud, la Agencia Internacional en Investigación del Cáncer, el Comité en Aditivos Alimentarios y Contaminantes dependiente de la Organización de Naciones Unidas para la Alimentación y de la Organización Mundial de la Salud.

A nivel europeo, esta evaluación es responsabilidad del Comité Científico para la Alimentación Humana y la Sanidad Animal, dependiente de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Además, durante el proceso de elaboración de una propuesta para la fijación de límites máximos, también intervienen diversos grupos de trabajo y comités de expertos en los que participan delegados de los distintos Estados miembro de la UE. Tras un periodo de consulta, la propuesta es enviada al Comité Científico para la Alimentación Humana y la Sanidad Animal para su evaluación final, tras lo cual, la Comisión Europea, establecerá un Comité de Decisión, donde estarán nuevamente representados todos los Estados miembros, y que llevará finalmente la propuesta a su publicación en forma de Directiva o Reglamento.

Durante todo este proceso no se puede olvidar que la UE juega un papel muy importante a nivel comercial, por ello, durante la elaboración de la propuesta para el establecimiento de contenidos máximos en micotoxinas, se deben tener en cuenta las normas existentes al respecto a nivel internacional (por ejemplo, normas ISO o normas del Codex Alimentarius) para asegurar que el comercio internacional no se va a ver injustificadamente dificultado.

En general, el establecimiento legal de límites máximos para determinados contaminantes debe tener en cuenta la protección del consumidor, pero evitando que se produzcan restricciones al comercio.

3.4 Normativa existente a nivel UE sobre contenidos máximos de micotoxinas en los cereales y productos derivados destinados al consumo humano

Nos tenemos que remontar al año 1998, ya que fue entonces cuando por primera vez se fijaron contenidos máximos armonizados a nivel europeo para las aflatoxinas en cereales y productos derivados. Concretamente, en el Diario Oficial de las Comunidades Europeas del mes de julio de 1998 se publicó el Reglamento (CE) 1525/98 de la Comisión, de 16 de julio, mediante el cual se modificaba el Reglamento (CE) nº 194/97 de la Comisión, de 31 de enero, a fin de incluir contenidos máximos de aflatoxinas (B_1 y sumatorio de aflatoxinas $B_1+B_2+G_1+G_2$) en los cereales y los productos derivados de su transformación destinados al consumo humano directo o para ser empleados como ingredientes de productos alimenticios. Paralelamente, la Comisión publicó la Directiva 98/53/CE mediante la cual se establecían los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de sus contenidos en los productos alimenticios.

Los **contenidos máximos en aflatoxinas en cereales y productos derivados** fijados por el citado Reglamento (CE) 1525/98 de la Comisión, de 16 de julio, son aplicables y de obligado cumplimiento desde el 1 de enero de 1999 (ver **Tabla 2**) y no han sufrido variación desde entonces.

Posteriormente, **en el año 2001**, la Comisión amplió el número y tipo de contaminantes que deberían ser objeto de una regulación específica, y para ello, en vez de modificar nuevamente el Reglamento (CE) nº 194/97 de la Comisión, de 31 de enero, se optó por **refundir toda la normativa sobre contaminantes existente hasta ese momento junto con los nuevos límites fijados en un nuevo reglamento**, el Reglamento CE nº 466/2001, que desde su entrada en vigor en abril de 2002, sustituyó al Reglamento nº 194/97 y se convirtió en el Reglamento marco a nivel europeo sobre contenidos máximos de contaminantes en los productos alimenticios (no sólo micotoxinas, sino también otros contaminantes, como metales pesados, dioxinas, ...).

Los **contenidos máximos en ocratoxina A** (ver **Tabla 3**) y **toxinas de *Fusarium*** (ver **Tabla 4**) en cereales y productos derivados, así como el establecimiento de nuevos límites máximos para otros contaminantes o bien, las modificaciones en sus valores de referencia, fechas de aplicación, tipos de productos afectados, etc., se fueron introduciendo mediante la aprobación de Reglamentos específicos mediante los cuales se modificaba el Reglamento marco CE 466/2001. Paralelamente a la publicación de estos Reglamentos específicos, la Comisión publicaba, en forma de Directiva, los métodos de muestro y análisis que deberían seguirse para el control oficial de estos productos que, posteriormente eran incorporados al ordenamiento jurídico nacional en forma de reales decretos o de órdenes ministeriales.

Finalmente, **a finales del año 2006** se publicó en el Diario Oficial de la UE 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**, el cual reemplazo al Reglamento CE 466/2001, reuniéndose en este nuevo texto legal todos los contenidos máximos de contaminantes regulados hasta ese momento a nivel UE y se establecen nuevos contenidos máximos para determinados contaminantes a fin de tener en cuenta la nueva información y la evolución del Codex Alimentarius.

A día de hoy, el Reglamento (CE) 1881/2006 sigue siendo el Reglamento marco a nivel UE en materia de contenidos máximos de contaminantes en los productos alimenticios, si bien este Reglamento ha sido objeto de diversas modificaciones desde su publicación inicial, siendo una de las últimas modificaciones introducidas en lo referente a contenidos máximos de micotoxinas la introducida por el Reglamento (UE) 2015/1940 de la Comisión, de 28 de octubre, por el que se modifica el Reglamento CE 1881/2006 en relación con el contenido máximo de esclerocios de cornezuelo de centeno en determinados cereales no elaborados y con las disposiciones sobre seguimiento y presentación de informes.

En concreto, con la modificación introducida por el Reglamento UE 2015/1940 de la Comisión, **se fija un contenido máximo de 0,5 g/kg para los esclerocios de cornezuelo centeno en todos los cereales excepto arroz y maíz.**

Pero además del establecimiento de este contenido máximo en esclerocios de cornezuelo de centeno en todos los cereales no elaborados, a excepción del maíz y del arroz, que es obligatorio y **aplicable desde el día 18 de noviembre de 2015**, el Reglamento publicado también introduce otras modificaciones con importantes implicaciones para las industrias dedicadas a la primera transformación del cereal, como es el caso de las harineras y las semoleras.

En concreto, el Reglamento UE 2015/1940 de la Comisión, **modifica la nota a pie 18 del Reglamento CE1881/2006, para introducir algunas aclaraciones respecto a la definición de "cereales no elaborados"**, con el fin de evitar interpretaciones erróneas sobre la fase de la comercialización donde deberán aplicarse los contenidos máximos de cornezuelo de centeno establecidos y del resto de contenidos máximos fijados para las demás micotoxinas, cuando estos se establezcan sobre el cereal no elaborado.

A efectos prácticos, esta modificación supondrá para las empresas la posibilidad de adquirir cereal que supere los contenidos máximos en micotoxinas establecidos en el Reglamento CE 1881/2006 para los cereales no elaborados, si se tiene la seguridad y la garantía de que los sistemas de limpieza y selección de la propia instalación, previos a la propia molturación del cereal permiten reducir esos contaminantes a niveles por debajo de los contenidos máximos establecidos en el Reglamento 1881/2006.

Finalmente, **el Reglamento UE 2015/1940 contempla el establecimiento de contenidos máximos específicos, "adecuados y factibles" para la suma de 12 alcaloides de cornezuelo de centeno, tanto en cereales no elaborados como en una serie de productos derivados antes del 1 de julio de 2017**, en previsión de lo cual, el Reglamento establece que deberán recogerse datos sobre la presencia de alcaloides de cornezuelo de centeno en los cereales y productos a base de cereales a fin de determinar la relación entre la presencia de alcaloides de cornezuelo de centeno y la presencia de esclerocios de esta especie.

En la actualidad, la Comisión Europea está trabajando en una refundición del Reglamento CE 1881/2006, lo cual supone incluir todas las modificaciones que han tenido lugar desde su publicación hasta la fecha en un nuevo texto, cambiar el nombre del Reglamento y revisarlo en profundidad, y si bien, el objetivo de este trabajo no es modificar niveles, si hubiera que hacer algún ajuste o clarificación se valoraría.

Paralelamente a la publicación del citado Reglamento marco 1881/2006 se publicó el Reglamento 401/2006 de la Comisión, de 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios, el cual viene a armonizar todo lo referente a métodos de muestreo y análisis de micotoxinas para evitar que se produzcan diferentes interpretaciones o variaciones en la transposición por parte de los Estados miembro.

Una de las últimas modificaciones introducidas en este Reglamento es la realizada por el Reglamento (UE) nº 519/2014, de 16 de mayo, en lo relativo a los métodos de muestreo de los lotes de gran tamaño, las especias y los complementos alimenticios; las normas de referencia para las toxinas T-2 y HT-2 y para la citrinina, y los métodos analíticos de cribado.

En las **Tablas 2 a 5** de esta Guía se presenta un resumen de los contenidos máximos establecidos a nivel europeo en micotoxinas en cereales y productos derivados destinados a alimentación humana, con indicación de su fecha inicial de aplicación y referencia normativa.

Se recuerda que esta normativa está armonizada y es de aplicación por igual en todos los Estados miembro de la UE. Lo cual no significa que los Estados miembro no puedan elaborar otras normas a nivel nacional regulando específicamente contenidos máximos para productos no contemplados en el Reglamento europeo o bien, fijando límites máximos para otras micotoxinas o contaminantes no regulados a nivel UE.

3.5 Obligaciones y prohibiciones generales establecidas por la normativa europea sobre micotoxinas en cereales y productos derivados:

1. Los cereales y sus productos derivados no deberán presentar, en el momento de su comercialización, un contenido de micotoxinas superior al establecido en la legislación vigente (ver Tablas 2 a 5).
2. Los productos que presenten contenidos en micotoxinas más elevados que los contenidos máximos fijados no deben ser puestos en circulación, ni mezclados con productos conformes ni utilizados como ingrediente de otros productos alimenticios. Está **expresamente prohibido**:
 - a) Utilizar productos no conformes con los contenidos máximos establecidos como ingredientes alimentarios para la producción de productos alimenticios compuestos o de otro tipo;
 - b) mezclar productos conformes con los contenidos máximos fijados con otros que los sobrepasen, o mezclar productos que vayan a ser sometidos a un proceso de selección u otros métodos físicos con productos destinados al consumo humano directo o como ingrediente de productos alimenticios;
 - c) descontaminar deliberadamente productos mediante tratamientos químicos.

3. Los ingredientes de los productos alimenticios utilizados para la producción de productos alimenticios compuestos de varios ingredientes deberán respetar los contenidos máximos establecidos en la legislación vigente antes de su adición al producto alimenticio compuesto, a fin de evitar su dilución.
4. Cuando no se hayan establecido contenidos máximos de micotoxinas específicos para productos derivados de los cereales, que se presenten desecados, diluidos, transformados o compuestos de más de un ingrediente, el contenido máximo aplicable será el fijado en el anexo I del Reglamento 1881/2006, teniendo en cuenta, respectivamente:
 - a) los cambios de concentración del contaminante provocados por los procesos de secado o dilución;
 - b) los cambios de concentración del contaminante provocados por los procesos de transformación;
 - c) las proporciones relativas de los ingredientes en el producto; y
 - d) el límite analítico de cuantificación.
5. Dado que los **contenidos máximos en aflatoxinas** difieren en el caso de cereales destinados a consumo humano y cereales utilizados como materia prima para alimentación animal, el artículo 5 del Reglamento 1881/2006 se establece que **en el documento de acompañamiento original de los cereales deberá figurar una indicación clara sobre su uso previsto.**

Este documento de acompañamiento deberá tener una clara relación con la partida en cuestión mencionando el código de identificación de la misma (su lote o referencia). Además, la actividad empresarial del destinatario de la partida que figura en el documento de acompañamiento deberá ser compatible con el uso previsto.

En el caso de que no exista una indicación clara de que su uso previsto no incluye el consumo humano, le serán de aplicación por defecto los contenidos máximos en aflatoxinas previstos en el anexo del Reglamento 1881/2006 (alimentación humana).

6. Dado que ha quedado demostrado que, en el caso del maíz, es posible alcanzar una reducción considerable en el **contenido en aflatoxinas del maíz** sin transformar mediante diversas operaciones de selección y de tratamiento físico en el producto de consumo final (grañones para copos y de otro tipo), ya que la contaminación por aflatoxinas se concentra, principalmente en las granzas (residuos) y en los gérmenes de maíz, la harina de salvado y el maíz partido (productos para piensos), mediante el Reglamento 2174/2003 se fijaron contenidos máximos específicos en aflatoxinas para el maíz en bruto, de modo que, partiendo de un maíz sin transformar con un contenido de aflatoxina B₁ de 5 µg/kg y un contenido total de aflatoxinas de 10 µg/kg, se puedan obtener productos derivados del maíz destinados al consumo humano conformes con el contenido máximo de 2 µg/kg de aflatoxina B₁ y de 4 µg/kg de aflatoxinas totales. Para este caso en concreto, la normativa establece que **el maíz no conforme con los contenidos máximos establecidos para los productos destinados a consumo humano directo podrá ser puesto en circulación a condición de que:**
 - a) no se destine al consumo humano directo ni se use como ingrediente de productos alimenticios,

- b) sea conforme con los contenidos máximos establecidos para el maíz sin transformar (maíz en bruto),
- c) sea sometido a un tratamiento posterior de selección u otros métodos físicos, de forma que después de dicho tratamiento no se superen los límites máximos establecidos para el maíz destinado al consumo humano y que el tratamiento mismo no provoque otros residuos nocivos,
- d) esté **etiquetado de forma que se demuestre claramente su destino**, incluida la indicación «*producto destinado a ser sometido obligatoriamente a un tratamiento de selección u otros métodos físicos con objeto de reducir el nivel de contaminación de aflatoxinas antes de su consumo humano o su utilización como ingrediente de productos alimenticios*».

3.6 Normativa existente a nivel UE sobre contenidos máximos de micotoxinas en los cereales y productos derivados destinados a la alimentación animal

La producción ganadera ocupa un lugar muy importante en la economía de España y de la UE, y la obtención de resultados satisfactorios en lo que se refiere a la salud pública y la salud y el bienestar de los animales depende en gran medida de la utilización de piensos adecuados y de buena calidad.

Los productos destinados a la alimentación animal pueden contener sustancias indeseables capaces de perjudicar a la salud animal o, por su presencia en los productos de origen animal, a la salud humana y al medio ambiente.

Por estos motivos, es necesaria una regulación de los piensos para garantizar la productividad y la sostenibilidad de la ganadería, así como para poder garantizar la salud pública, la salud y el bienestar de los animales y la calidad del medio ambiente.

Es imposible excluir totalmente la presencia de sustancias indeseables, pero al menos importa reducir su contenido en los productos destinados a la alimentación animal, teniendo debidamente en cuenta el grado de toxicidad de la sustancia, su bioacumulabilidad y su biodegradabilidad, a fin de impedir la aparición de efectos indeseables y nocivos.

Los productos destinados a la alimentación animal deben ser sanos, auténticos y de calidad comercial y, por tanto, su uso correcto no debe representar peligro alguno para la salud humana, para la salud animal ni para el medio ambiente, ni puede ser perjudicial para la producción ganadera.

Como se ha puesto de manifiesto en la introducción de esta Guía, la presencia de micotoxinas en el productos de origen agrario no sólo afecta directamente a la salud de las personas sino que puede llegar a afectar, en distinto grado, a la salud de los animales destinados a la alimentación humana, afectando a su desarrollo y por tanto a su producción y además, algunas micotoxinas tienden a acumularse en distintos órganos de los animales, con el riesgo de que si éstos ingresan en la cadena alimentaria pueden llegar a afectar a la salud de las personas, a través de los alimentos de origen animal contaminados (carne, leche, huevos).

Por lo tanto, debe prohibirse la utilización o la puesta en circulación de los productos destinados a la alimentación animal cuyo contenido en determinadas sustancias indeseables supere los contenidos máximos fijados a nivel europeo.

Determinadas materias primas para piensos como, por ejemplo, los cereales y las semillas oleaginosas están particularmente expuestas a la contaminación por micotoxinas a causa de las condiciones de cosecha, almacenamiento y transporte, si bien, **hasta la fecha, únicamente se han establecido a nivel europeo contenidos máximos de aflatoxina B₁ en los piensos y materias primas para la alimentación animal**, en lo que a presencia de micotoxinas se refiere. La presencia de aflatoxina B₁ en los piensos y materias primas para la alimentación de los animales presenta 2 tipos de efectos que es necesario controlar:

- por un lado, desde el punto de vista de la sanidad y el bienestar animal, para evitar problemas en los animales debido a los efectos que la presencia de esta micotoxina tiene sobre su salud.
- Por otro lado, la aflatoxina B₁ es un carcinógeno genotóxico que se detecta en la leche en forma de aflatoxina M₁, metabolito resultante de la transformación de aflatoxina B₁ presente en los piensos. La aflatoxina M₁ tiene efectos similares a la B₁, pero es menos tóxica. Su presencia está regulada en la leche y en alimentos infantiles y dietéticos para usos médicos especiales para lactantes (Anexo I del Reglamento 1881/2006).

Por estos motivos, a fin de proteger la salud pública y la sanidad de los animales, se han establecido **contenidos máximos de aflatoxina B₁ en los piensos y en las materias primas con destino a la alimentación animal**.

Inicialmente este límite máximo se fijó en 0,05 mg/kg (ppm), calculado sobre la base de un contenido en humedad del 12% (Directiva 2002/32/CE) pero posteriormente este límite máximo se redujo a en **0,02 mg/kg (ppm)**, calculado igualmente sobre la base de un contenido en humedad del 12% para todas las materias primas para la alimentación animal (Directiva 2003/100/CE de la Comisión, de 31 de octubre de 2003, por la que se modifica la Dir. 2003/32/CE).

Al igual que en el caso de los productos con destino a la alimentación humana, los productos destinados a la alimentación animal cuyo contenido en aflatoxina B₁ sea superior al contenido máximo fijado **no podrán mezclarse a efectos de dilución con el mismo producto o con otros productos destinados a la alimentación animal**. Pero a diferencia de lo establecido en el Reglamento 1881/2001, donde queda prohibida la descontaminación química de los productos, en la normativa europea sobre sustancias indeseables en la alimentación animal, sí se contempla la posibilidad de aplicar procesos de descontaminación a los productos contaminados con micotoxinas, para lo cual, la Comisión deberá definir criterios de aceptabilidad de los procesos de descontaminación que se añadirán a los criterios previstos para los productos destinados a la alimentación animal que hayan sido sometidos a dichos procesos.

La normativa europea sobre sustancias indeseables en la alimentación animal (Directiva 2002/32/CE y el Reglamento 767/2009), prevé la posibilidad de que un pienso que supere los contenidos máximos en sustancias indeseables establecidos pueda ser sometido a un proceso de detoxificación para reducir o eliminar las sustancias indeseables presentes en el mismo y posibilitar su utilización para la alimentación animal.

Para que los procesos de detoxificación de productos destinados a la alimentación animal se consideren aceptables, así como la conformidad del producto detoxificado, es necesario establecer unos **criterios a nivel europeo de aceptabilidad de los procesos de detoxificación** complementarios de los criterios previstos para los productos destinados a la alimentación animal que hayan sido sometidos a esos procesos.

La detoxificación de materiales contaminados, tal como se definen en el artículo 3, apartado 2, letra p), del Reglamento (CE) nº 767/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, puede efectuarse mediante un proceso de detoxificación físico, químico o (micro)biológico.

En el **Reglamento UE 2015/786 recientemente publicado se establecen los criterios generales de aceptabilidad para cada uno de estos procesos de detoxificación**, que tengan por objeto eliminar intencionadamente de los piensos contaminados no conformes la presencia de alguna de las sustancias indeseables establecidas en el anexo I de la Directiva 2002/32/CE.

Por otro lado, los estudios realizados hasta el momento han venido demostrado que la OTA, DON, ZEA, y las Fumonisin, también presentan efectos tóxicos, en mayor o menor medida y en función de la especie de que se trate, sobre la salud de los animales.

El deoxinivalenol, la zearalenona y las fumonisin, son toxinas que prácticamente no sufren transferencia desde los piensos a la carne, leche y huevos, motivo por el cual, la ingesta de productos de origen animal contribuye de manera muy marginal a la exposición total del ser humano a estas toxinas.

Por su parte, la ocratoxina A si puede ser transferida desde los piensos a los alimentos de origen animal, pero también en este caso los estudios han demostrado que los productos de origen animal contribuyen mínimamente a la exposición total del ser humano a la OTA vía dieta.

Respecto a las toxinas T2 y HT-2, los datos disponibles sobre su presencia en los alimentos para animales son por ahora muy limitados. Tal y como se ha señalado anteriormente, las diferencias significativas en la sensibilidad a las toxinas T-2 y HT-2 entre especies monogástricas y rumiantes es atribuible a la efectiva eliminación presistémica (de-epoxidación) de las toxinas que ejerce la flora microbiana del rumen.

Según las investigaciones publicadas, los cerdos se encuentran entre los animales más sensibles a los efectos de la toxina T-2, con efectos sobre su sistema inmunológico y hemático que aparecen a partir de dosis de 29 µg/kg de peso al día.

Otra de las especies que resultan especialmente sensibles a la toxina T-2 son los gatos. Probablemente su mayor sensibilidad esté asociada a la imposibilidad de excretar la toxina T-2 y sus metabolitos vía glucuronización conjugada.

En cuando a la exposición de los animales, para rumiantes, conejos y peces procedentes de acuicultura la exposición estimada a estas toxinas, en base a los datos sobre presencia disponibles, se considera poco probable que representen un problema de salud, mientras que para cerdos, aves, perros y caballos la posibilidad de que se presenten efectos adversos es baja. Los riesgos para la salud de los gatos como consecuencia la exposición a estas toxinas no han podido ser evaluados, debido a los escasos datos disponibles y los graves

efectos negativos para la salud en dosis bajas, no ha podido establecerse ningún NOAEL o LOAEL.

La Comisión CONTAM concluyó, además, que **la transferencia de las toxinas T-2 y HT-2 de los piensos a los productos alimenticios de origen animal es limitada** y, por consiguiente, su contribución a la exposición humana es insignificante.

Aunque la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 7 de mayo de 2002, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal establece únicamente el contenido máximo de aflatoxina B₁ en los piensos por las razones expuestas anteriormente, **en la gestión de los posibles riesgos para la salud de los animales debidos a la presencia de otras micotoxinas, la Comisión optó por el establecimiento de valores orientativos para la ocratoxina A, la zearalenona, el deoxivalenol y las fumonisinas.**

Desde hace unos años la Comisión viene recomendado a sus Estados miembros que lleven a cabo un programa coordinado de controles con el objeto de verificar la concentración de toda una serie de micotoxinas en los piensos (aflatoxina B₁, ocratoxina A, zearalenona, deoxivalenol y fumonisinas). Dado que la concentración de micotoxinas varía de un año a otro, es conveniente recopilar datos correspondientes a años consecutivos para todas las micotoxinas mencionadas.

La recopilación de información sobre la presencia de esas micotoxinas a través de muestreos aleatorios podría proporcionar datos útiles para evaluar la situación con vistas al desarrollo de la legislación.

La Comisión Europea adoptó a finales del mes de junio de 2006 una **Recomendación sobre la presencia de DON, ZEA, OTA y fumonisinas y T2 y HT-2 en los productos destinados a la alimentación animal** que fue publicada en el Diario Oficial de la Unión Europea de fecha 8 de agosto de 2006.

En dicha Recomendación, la Comisión considera que es necesario que se continúen los trabajos y programas coordinados de control para obtener más datos sobre la presencia de todas estas micotoxinas en los alimentos para animales y en las materias primas para alimentación animal, datos que se sumarán a los ya obtenidos de los programas coordinados de control que se han desarrollado durante los años 2002, 2004 y 2005.

Además, en la citada Recomendación de la Comisión se establecen **valores orientativos o de referencia para cereales y productos a base de cereales utilizados como materias primas para alimentación animal y sobre los piensos**, para proporcionar orientación a los Estados miembros sobre la aceptabilidad de los cereales y productos a base de cereales y sobre los piensos compuestos para alimentación animal que pudieran estar contaminados con micotoxinas y, evitar de este modo que se produzcan disparidades en los valores aceptados por los distintos Estados miembros, con el consiguiente riesgo de distorsión de la competencia.

Los resultados que se obtengan de la aplicación de estos valores orientativos a los piensos y materias primas con destino a la alimentación de los animales deberán ser evaluados, valorándose en particular, cuál ha sido su contribución en la protección de la salud de los animales.

Además, los resultados que se obtengan de la aplicación de esta Recomendación permitirán un mejor conocimiento y entendimiento de la variabilidad de año en año de la presencia de estas micotoxinas en un amplio número de subproductos utilizados para la alimentación de los animales, hecho este de especial relevancia para posteriormente desarrollar, si fuera necesario, medidas legislativas.

Según la referida Recomendación de la Comisión:

- Los Estados Miembros deberán, **con la colaboración de los operadores de la industria de piensos**, incrementar los controles sobre la presencia de DON, ZEA, OTA y fumonisinas en los cereales y productos derivados destinados a la alimentación de los animales y en los piensos compuestos.
- En las muestras que se tomen deberán analizarse simultáneamente la presencia de DON, ZEA, OTA, Fumonisinias y evaluar su nivel de aparición conjunta.
- Los Estados miembros deberán prestar especial atención a la presencia de estas micotoxinas en los subproductos o coproductos que las industrias alimentarias destinan a alimentación animal.
- Los Estados miembros deberán **asegurarse de que los valores orientativos establecidos en el anexo de la Recomendación se aplican para juzgar la aceptabilidad de los piensos compuestos, cereales y productos derivados para alimentación animal.**
- Los Estados miembros se deberán asegurar, en particular, de que los operadores de la industria de piensos **utilizan los valores de referencia de dicha Recomendación como límites críticos en los PCC identificados en sus sistemas de autocontrol (APPCC), mediante los cuales se diferenciará la aceptabilidad o inaceptabilidad de sus productos, para la prevención, eliminación o reducción de los peligros identificados.**
- Respecto a la aplicación de los valores orientativos, los Estados miembros deberán tener en cuenta que los valores orientativos para los cereales y productos derivados se han establecido tomando como referencia las especies animales menos sensibles (las más tolerantes) y, por tanto, **deberán considerarse como los límites superiores de estos valores de referencia.** En el caso de piensos para animales más sensibles, los Estados miembros deberán asegurarse de que el fabricante de piensos toma como valores de referencia para los cereales y productos derivados límites más bajos, para lo cual, deberá tener en cuenta la sensibilidad particular de la especie animal de que se trate de modo que le permita cumplir con los valores máximos de referencia establecidos para los piensos compuestos destinados a esa especie.

Por último, junto a estos valores orientativos, recordamos que, tal y como se ha indicado anteriormente en esta Guía, **la Recomendación 2013/165/UE sobre la presencia de las toxinas T-2 y HT-2 en los cereales y en los productos a base de cereales, también establece niveles indicativos para estas micotoxinas en productos a base de cereales en los piensos y los piensos compuestos**, cuya superación implicaría la realización de investigaciones con vistas a obtener más información sobre los factores que influyen en su mayor o menor presencia y para determinar las medidas que deben tomarse para evitar o reducir dicha presencia en el futuro.

Finalmente, la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 7 de mayo de 2002, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal también establece un contenido máximo en **esclerocio de cornezuelo de centeno para todos los piensos que contengan cereales sin moler de 1.000 mg/kg.**

En la **Tabla 7** se recogen los **contenidos máximos legales y los valores orientativos** establecidos sobre la presencia de micotoxinas en cereales y productos derivados con destino a la **alimentación de los animales** y los valores orientativos para los distintos tipos de piensos en función de la especie animal a la que se destinen.

3.7 Obligaciones generales en materia seguridad e higiene:

Por último, a continuación se recuerdan algunas de las obligaciones generales en materia de seguridad e higiene alimentaria dentro de las cuales se encuadra el cumplimiento de los productos alimenticios y de los piensos y materias primas para alimentación animal de los contenidos máximos fijados en la normativa específica.

1. Los explotadores de empresas alimentarias y de empresas de piensos se asegurarán, en todas las etapas de la producción, la transformación y la distribución que tienen lugar en las empresas bajo su control, de que los alimentos o los piensos cumplen los requisitos de la legislación alimentaria pertinentes a los efectos de sus actividades y verificarán que se cumplen dichos requisitos. (**Art. 17 del Reglamento 178/2002**)

El explotador de la empresa alimentaria es quien está mejor capacitado para diseñar un sistema seguro de suministro de alimentos o piensos y **conseguir que los alimentos o piensos que suministra sean seguros.** Por lo tanto, debe ser el **responsable legal principal** de asegurar el cumplimiento de la legislación alimentaria y, en particular, de la seguridad alimentaria.

Esta nueva situación debería traducirse, por tanto, en una mayor responsabilidad conjunta a lo largo de la cadena alimentaria, en lugar de responsabilidades individuales dispersas. Sin embargo, cada eslabón de la cadena alimentaria deberá tomar las medidas necesarias para **asegurar el cumplimiento de los requisitos de la legislación alimentaria en el contexto de sus propias actividades específicas**, aplicando principios como los del sistema de APPCC u otros instrumentos similares.

En caso de que se detectara que un producto no cumple los requisitos de la legislación alimentaria, debería revisarse la responsabilidad de cada eslabón de la cadena para comprobar si ha cumplido adecuadamente o no sus propias responsabilidades específicas.

2. Requisitos de seguridad alimentaria (**Art. 14 del R. 178/2002**)

No se comercializarán los alimentos que no sean seguros. Se considerará que un alimento no es seguro cuando:

- a) sea nocivo para la salud;
- b) no sea apto para el consumo humano.

A la hora de determinar **si un alimento no es seguro**, deberá tenerse en cuenta lo siguiente:

- a) las condiciones normales de uso del alimento por los consumidores y en cada fase de la producción, la transformación y la distribución, y
- b) la información ofrecida al consumidor, incluida la que figura en la etiqueta, u otros datos a los que el consumidor tiene por lo general acceso, sobre la prevención de determinados efectos perjudiciales para la salud que se derivan de un determinado alimento o categoría de alimentos.

A la hora de determinar **si un alimento es nocivo para la salud**, se tendrán en cuenta:

- a) los **probables efectos inmediatos y a corto y largo plazo de ese alimento**, no sólo para la salud de la persona que lo consume, sino también para la de sus descendientes;
- b) los **posibles efectos tóxicos acumulativos**;
- c) la sensibilidad particular de orden orgánico de una categoría específica de consumidores, cuando el alimento esté destinado a ella.

A la hora de determinar si un alimento no es apto para el consumo humano, se tendrá en cuenta si el alimento resulta inaceptable para el consumo humano de acuerdo con el uso para el que está destinado, **por estar contaminado por una materia extraña o de otra forma**, o estar putrefacto, deteriorado o descompuesto.

Cuando un alimento que no sea seguro pertenezca a un lote o a una remesa de alimentos de la misma clase o descripción, se presupondrá que todos los alimentos contenidos en ese lote o esa remesa tampoco son seguros, salvo que una evaluación detallada demuestre que no hay pruebas de que el resto del lote o de la remesa no es seguro.

El alimento que cumpla las disposiciones comunitarias específicas que regulen la inocuidad de los alimentos se considerará seguro por lo que se refiere a los aspectos cubiertos por esas disposiciones.

En resumen:

- Un alimento que cumpla las disposiciones comunitarias (o nacionales) específicas que regulan su seguridad se considerará seguro.
- Cuando el alimento no cumpla las disposiciones comunitarias (o, en su ausencia, las disposiciones nacionales) específicas que regulan su seguridad, cabrá suponer que no es seguro.

3. Ningún operador de empresa alimentaria deberá aceptar materias primas o ingredientes distintos de animales vivos, ni ningún otro material que intervenga en la transformación de los productos, si se sabe que están tan contaminados con parásitos, microorganismos patógenos o sustancias tóxicas, en descomposición o extrañas, o cabe prever razonablemente que lo estén, que, incluso después de que el operador de empresa alimentaria haya aplicado higiénicamente los procedimientos normales de clasificación, preparación o transformación, el producto final no sería apto para el consumo humano. (Capítulo IX, del Anexo II del Reglamento 852/2004)

4. Si un explotador de empresa alimentaria considera o tiene motivos para pensar que alguno de los alimentos que ha importado, producido, transformado, fabricado o distribuido no cumple los requisitos de seguridad de los alimentos, procederá inmediatamente **a su retirada del mercado cuando los alimentos hayan dejado de estar sometidos al control inmediato de ese explotador inicial e informará de ello a las autoridades**

competentes. En caso de que el producto pueda haber llegado a los consumidores, el explotador informará de forma efectiva y precisa a los consumidores de las razones de esa retirada y, si es necesario, recuperará los productos que ya les hayan sido suministrados cuando otras medidas no sean suficientes para alcanzar un nivel elevado de protección de la salud. (Art. 19 del R. 178/2002)

5. Los alimentos y piensos importados a la Comunidad para ser comercializados en ella deberán cumplir los requisitos pertinentes de la legislación alimentaria o condiciones que la Comunidad reconozca al menos como equivalentes, o bien, en caso de que exista un acuerdo específico entre la Comunidad y el país exportador, los requisitos de dicho acuerdo. (Art. 11 del R. 178/2002)

6. Los alimentos y piensos exportados o reexportados de la Comunidad para ser comercializados en países terceros deberán cumplir los requisitos pertinentes de la legislación alimentaria, salvo que las autoridades o las disposiciones legales o reglamentarias, normas, códigos de conducta y otros instrumentos legales y administrativos vigentes del país importador exijan o establezcan, respectivamente, otra cosa. (Art. 12 del R. 178/2002)

4. MEDIDAS PARA LA PREVENCIÓN, CONTROL Y VIGILANCIA DE LAS MICOTOXINAS EN LOS CEREALES Y PRODUCTOS DERIVADOS

4.1 Introducción

Como se ha señalado en puntos precedentes de esta Guía, la contaminación por micotoxinas de los cereales y productos derivados se puede producir como resultado de las condiciones ambientales durante el cultivo o de operaciones inadecuadas durante los procesos de recolección, almacenamiento y elaboración.

Entre los principales factores que influyen en el desarrollo de mohos y formación de micotoxinas cabe destacar: temperatura y humedad, tipo de suelo, la susceptibilidad del cultivo y de la variedad de que se trate, la madurez de los granos en el momento de la cosecha, los daños mecánicos o los producidos por insectos y/o pájaros sobre el cereal, el tipo de almacenamiento.

Los conocimientos científicos y técnicos actuales no permiten la completa eliminación de este peligro, motivo por el cual, se han establecido contenidos máximos de micotoxinas sobre los cereales y productos derivados, de modo que, al menos se pueda evitar que cereales muy contaminados ingresen en la cadena alimentaria y en los piensos destinados a la alimentación de los animales.

La prevención y reducción de la presencia de micotoxinas en los alimentos puede conseguirse mediante la aplicación de determinadas medidas preventivas y de control a lo largo de toda la cadena cerealista. El enfoque más eficaz para controlar la contaminación de los productos cerealistas por micotoxinas consistiría en la aplicación integral de un sistema APPCC en el conjunto de la cadena cerealista, de modo que pudieran abordarse e introducir medidas preventivas en todas aquellas fases de la cadena donde se sabe que es más probable que se produzca una contaminación o que la contaminación existente se incremente hasta niveles inaceptables.

Los programas de análisis de peligros y puntos de control crítico (APPCC) se han demostrado eficaces para hacer frente a los riesgos asociados a la posible contaminación de productos alimenticios. Para la correcta aplicación de este tipo de programas **es muy importante contar con información sobre los factores que propician la contaminación del producto para poder establecer medidas apropiadas, tanto preventivas como de control.**

La aplicación de sistemas preventivos y de control basados en los principios del APPCC a la contaminación de productos con micotoxinas es un enfoque relativamente novedoso, pero sin duda, totalmente apropiado. Los sistemas de prevención y control basados en el APPCC son sistemas de gestión diseñados para prevenir la ocurrencia de determinados problemas sanitarios y, como se ha visto en la introducción de esta Guía, existen muy buenas razones para prevenir la formación de micotoxinas, ya que:

- Una vez formadas las micotoxinas son relativamente difíciles de eliminar utilizando métodos de descontaminación.
- Es difícil obtener muestras representativas para el análisis de micotoxinas cuando se trata de grandes partidas de cereal (silos de almacenamiento, naves, buques...), por

lo que se deberá primar otro tipo de medidas de control frente a los análisis propiamente dichos de micotoxinas.

- Los análisis de micotoxinas son bastante caros y normalmente lleva demasiado tiempo obtener el resultado, lo que dificulta su empleo como método de control rutinario.

Con la adopción de sistemas de prevención y control basados en el APPCC en toda la cadena de suministro cerealista se lograría disminuir la necesidad de realizar análisis precisos de micotoxinas como único medio de control.

En la actualidad, las empresas alimentarias dedicadas a la producción primaria de alimentos (agricultores y operaciones relacionadas) de la Unión Europea no están obligadas al seguimiento de sistemas de autocontrol basados en los principios APPCC, sino que estos pueden sustituirse por el empleo y seguimiento de Guías o Códigos de Prácticas Correctas de Higiene, como medio para conseguir alimentos primarios seguros.

De hecho, es importante que los productores sean conscientes de que las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) constituyen la primera línea de defensa contra la contaminación de los cereales por micotoxinas, seguida por la aplicación y seguimiento de buenas prácticas de almacenamiento, transporte, manipulación....

El conocimiento de los factores ambientales que fomentan la infección, el desarrollo y la producción de micotoxinas es el primer paso para conseguir diseñar y aplicar un sistema eficaz encaminado a reducir al máximo las micotoxinas en los alimentos y los piensos. En este sentido, en los últimos tiempos, diversos organismos de investigación están trabajando en el desarrollo de modelos predictivos que pueden resultar de gran ayuda para los diferentes operadores de la cadena.

En segundo lugar, en base a dicha información, se determinaran los principales elementos que pueden utilizarse o modificarse para tratar de reducir la formación de micotoxinas tanto en el campo (medidas precosecha) como tras la recolección (medidas poscosecha).

4.2 Medidas de prevención y reducción de la contaminación de los cereales por micotoxinas durante la precosecha y durante la recolección del cereal

Para algunas materias primas y tipos de micotoxinas la contaminación de los productos tiene lugar principalmente durante la fase de cultivo del cereal en el campo. Un importante ejemplo de contaminación del cereal por micotoxinas en campo es la que originan determinadas especies de **hongos del género *Fusarium***. En concreto, la formación de tricotecenos, como por ejemplo el DON y la toxina T-2, tiene lugar en las espigas del cereal durante el periodo de floración. También la **contaminación por aflatoxinas** puede generarse en el campo. Y la infestación de las espigas de cereal por el **hongo *Claviceps purpurea*** tiene lugar en el campo.

Un conocimiento profundo de los factores que influyen en la contaminación de los cereales cuando todavía se encuentran en los campos, permitirá a los expertos diseñar programas encaminados a eliminar o disminuir esta contaminación.

Son muchas las estrategias nuevas y prometedoras de precosecha con vistas a prevenir y reducir la formación de micotoxinas que se están explorando, que van desde la producción

mediante bioingeniería de variedades resistentes hasta las estrategias de control basadas en el empleo de agentes no toxigénicos que compiten biológicamente con los mohos formadores de micotoxinas.

En algunos casos nos podemos encontrar con que ya se están aplicando ciertas medidas de control a este nivel. Esto es debido principalmente al hecho de que el ataque de las cosechas por estos mohos es también causa de otros tipos de daños sobre el cereal que pueden repercutir en pérdidas de rendimiento y de calidad, siendo hasta ahora éste el principal motivo por el cual los agricultores adoptan medidas para su control.

De hecho, durante la fase de cultivo, el sistema de aseguramiento de la calidad más importante es el seguimiento de **Guías de Buenas Prácticas Agrícolas** que son una colección de códigos de prácticas diseñados para asegurar la higiene y seguridad de los productos primarios.

En algunos países, estos Códigos de Buenas Prácticas Agrícolas se han desarrollado y adaptado sus contenidos para determinados tipos de cultivos. Por ejemplo, la mayoría de los cultivos del Reino Unido se encuentran dentro de algún tipo de sistema de aseguramiento.

Las guías de buenas prácticas agrícolas establecen recomendaciones muy detalladas para ser seguidas durante la fase de cultivo, cubriendo todos los aspectos del proceso de producción desde la siembra, la salud de las plantas, la gestión responsable de fertilizantes y fitosanitarios, la recolección de la cosecha, el almacenaje en la granja y el transporte, y evitar que el producto se contamine.

Existen importantes razones económicas para producir cultivos sanos, aunque sólo sea por el incremento en los rendimientos y en el valor que esto lleva aparejado. Por otro lado, una cosecha libre de infestaciones fúngicas estará también, en principio, libre de contaminación por micotoxinas. Aunque puede ocurrir que como consecuencia de un uso "inapropiado" de sustancias fungicidas se produzca el efecto contrario, es decir, el incremento en la formación de micotoxinas. Parece ser que esta situación tiene lugar cuando la aplicación del fungicida no es suficiente para eliminar de forma rápida la infestación; el moho sufre entonces una situación de estrés que le lleva a incrementar la producción de micotoxinas. En estos casos el resultado sería que cosechas, aparentemente libres de infestaciones por hongos, pueden ser portadoras de altos contenidos de micotoxinas, que solamente serán detectadas realizando el correspondiente análisis.

Es importante señalar en este punto que, en principio, **estos Códigos o Guías de Buenas Prácticas Agrícolas no están diseñados específicamente para prevenir la formación de micotoxinas, sino de una manera más general están diseñados para obtener cosechas sanas y aptas para los usos previstos**, si bien, cada vez se está dando más importancia a la propia contaminación de los cereales por micotoxinas, motivo por el cual, en los últimos años se han intensificado las investigaciones para tratar de conseguir mejores técnicas de control a este nivel que permitan introducir medidas más eficaces para tratar de eliminar la contaminación de cultivos, pero en el momento actual, los Códigos de Buenas Prácticas Agrícolas no son la solución completa a este problema.

En nuestro país, a finales del mes de enero de 2015 se publicó en el BOE el **Real Decreto 9/2015, de 16 de enero, por el que se regulan las condiciones de aplicación de la normativa comunitaria en materia de higiene en la producción primaria agrícola**, mediante el cual se establecen disposiciones específicas a nivel nacional que deben cumplir las explotaciones agrarias en materia de higiene, se crea y regula el Registro General de la

Producción Agrícola y se sientan las bases del Programa de Control Oficial de la Primaria Agrícola.

Paralelamente, en la web del MAGRAMA se ha publicado la **Guía de Buenas Prácticas de Higiene en la Producción Primaria Agrícola**, con la que se pretende ayudar a los agricultores en el cumplimiento de las obligaciones específicas en materia de higiene de los alimentos establecidas a nivel comunitario, tanto en higiene de los alimentos (Reglamento 852/2004) como en higiene de los piensos (Reglamento 183/2005), en cuya elaboración ha colaborado nuestra Asociación.

En la Guía se realiza un repaso por las diferentes obligaciones en materia de higiene que se deben cumplir en la producción primaria agrícola y cada obligación se acompaña de una serie de recomendaciones para su puesta en práctica, de tal modo que se facilite el cumplimiento de dichas obligaciones al agricultor.

Las obligaciones y recomendaciones contenidas en la Guía se han estructurado en función de los factores que pueden provocar una contaminación de los productos, ya sea con agentes químicos o microbianos, durante la fase de la fase de cultivo y operaciones conexas de los productos agrícolas. De este modo, la Guía cuenta con los siguientes capítulos:

- Agua de uso agrícola.
- Uso de productos fitosanitarios.
- Uso de fertilizantes y enmiendas orgánicas.
- Uso de fertilizantes inorgánicos.
- Condiciones higiénico sanitarias de los trabajadores y de las explotaciones agrícolas.
- Recolección, carga, transporte y almacenamiento de productos cosechados.
- Envasado en la explotación agrícola.

La Guía **se completa con una serie de Medidas para prevenir la contaminación por micotoxinas** y con parámetros de referencia para el agua de uso agrícola (se incluyen como anexos) y con un capítulo final dedicado al **Cuaderno de Explotación**, donde se recuerda al agricultor la obligación que tiene de conservar cierta información y registros durante al menos 3 años, como medio para poder garantizar la trazabilidad de los productos agrícolas a lo largo de su ciclo de vida.

De forma complementaria a la Guía también se ha publicado el **Check List de Control de las Prácticas Correctas de Higiene** con el que se pretende ayudar a los agricultores en la autoevaluación del grado de cumplimiento de las obligaciones generales de higiene en su explotación.

En el año 2003, la Comisión del Codex Alimentarius adoptó 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**» que proporciona unas pautas uniformes que todos los países podrán tomar en cuenta en sus esfuerzos de control y gestión de la contaminación de los cultivos de cereal por diferentes micotoxinas, para lo cual, deberá ser sancionado y adaptado a las condiciones agronómicas y climáticas de cada país por sus autoridades nacionales.

Las recomendaciones para la reducción de las micotoxinas en los cereales en dicho Código se dividen en dos partes:

I. **Las prácticas recomendadas sobre la base de las buenas prácticas agrícolas (BPA) y las buenas prácticas de fabricación (BPF);**

Dentro de este apartado, el Código recoge una serie de recomendaciones generales y prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas durante las fases de plantación, cultivo, recolección, almacenamiento y durante el transporte del cereal desde el lugar de almacenamiento.

Posteriormente, en los anexos del documento, se concretan estas medidas para cada tipo de micotoxina.

II. **Un sistema de gestión complementario que ha de considerarse en el futuro es el Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos de Control Crítico (APPCC).**

El Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos de Control Crítico (APPCC) es un método de gestión de la inocuidad de los alimentos que se utiliza para identificar y controlar los peligros en el sistema de producción y elaboración. Si se aplica de manera apropiada, este sistema debería permitir una reducción de los niveles de micotoxinas en muchos cereales.

En el ámbito de las explotaciones agrícolas, especialmente en el campo, muchos factores que influyen en la contaminación de los cereales por micotoxinas están relacionados con el medio ambiente, como las condiciones climáticas y los insectos, y es difícil o imposible controlarlos. En otros términos, a menudo los puntos de control crítico no existen en el campo.

No obstante, tras la recolección se pueden identificar puntos de control crítico para las micotoxinas producidas por hongos durante el almacenamiento. Por ejemplo, un punto de control crítico podría encontrarse al final del proceso de secado, y un **límite crítico sería el contenido de agua / la actividad hídrica (a_w)**.

Para que este Código de Prácticas sea eficaz, será necesario que los productores de cada país consideren los principios generales que en él se enuncian teniendo en cuenta los cultivos, condiciones climáticas y prácticas agrícolas locales, antes de intentar aplicar las disposiciones del Código.

Por su parte, las autoridades nacionales deben **informar y asesorar a los productores en cuanto a los factores ambientales que favorecen la infección, la proliferación fúngica y la producción de toxinas en los cultivos de cereales en las explotaciones agrícolas**, destacándose el hecho de que las estrategias que han de aplicarse para la plantación y antes o después de la cosecha de un cultivo determinado dependerán de las condiciones climáticas del año y tomando en cuenta los cultivos locales y las condiciones de producción tradicionales en el país o región específicos.

Las autoridades nacionales deben apoyar la investigación sobre métodos y técnicas para prevenir la contaminación fúngica en el campo y durante la cosecha y el almacenamiento de los cereales.

Por otro lado, también es necesario crear **métodos de ensayo que sean rápidos, abordables y precisos, y los correspondientes planes de muestreo**, para poder

efectuar pruebas en los cargamentos de cereales sin perturbar excesivamente las operaciones.

En el Diario Oficial de la Unión Europea de fecha 29 de agosto de 2006 se publicó la **Recomendación de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la prevención y reducción de las toxinas de Fusarium en los cereales y los productos a base de cereales**, mediante la cual, basándose en las previsiones contenidas en el referido Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas del Codex Alimentarius, la Comisión recomienda a sus Estados miembros que tengan en cuenta unos principios uniformes cuando adopten medidas dirigidas a los agentes económicos del sector de los cereales con el fin de controlar y gestionar la contaminación de los cereales por toxinas de Fusarium.

Los principios y recomendaciones contenidos en el anexo de la Recomendación de la Comisión **describen factores que promueven la infección, la proliferación y la producción de toxinas en los cultivos de cereales dentro de las explotaciones, así como los métodos para su control**, si bien, para que estos principios generales sean eficaces, los productores de cada Estado miembro deben entenderlos en función de los cultivos, el clima y las prácticas agronómicas locales, antes de tratar de aplicarlos.

Además, las estrategias de siembra, precosecha y poscosecha relacionadas con un determinado cultivo dependerán de las condiciones climáticas predominantes, teniendo en cuenta los cultivos locales y las actuales prácticas de producción en ese país o esa región en particular. Cada Estado miembro puede elaborar sus propios códigos nacionales de prácticas basados en los principios generales, en los cuales, se tendrán en cuenta todas estas cuestiones, pudiendo ser específicos para especies de cereales concretas ya que aumentará su aplicabilidad, sobre todo en el caso de cultivos como el maíz.

La Recomendación de la Comisión realiza un **detallado repaso sobre los factores clave para el control de la contaminación por toxinas de Fusarium en el campo**, entre los cuales, los más importantes son: la rotación de los cultivos, la gestión de los suelos, la elección de la variedad o el híbrido y el uso preciso de los fungicidas, al tiempo que también se dan recomendaciones sobre las medidas a adoptar durante las siguientes fases por las que pasa el cereal (almacenamiento y transporte).

En el Anexo 1 de esta Guía se incluye un listado con una serie de **recomendaciones generales comunes para evitar o reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas durante las etapas cultivo, recolección, almacenamiento y transporte, dentro de las cuales se incluyen también algunas recomendaciones específicas para evitar la contaminación por toxinas Fusarium**. Estas Recomendaciones están basadas en el citado Código de Prácticas del Codex y en la Recomendación de la Comisión.

Otras autoridades nacionales y organizaciones representativas del sector cerealista a nivel europeo también han desarrollado Guías o Códigos de Buenas Prácticas Agrícolas con recomendaciones especialmente orientadas a prevenir y reducir la contaminación por micotoxinas de los cereales en el campo y operaciones relacionadas. Este es el caso de la **Agencia de Normas Alimentarias del Reino Unido (FSA, sus siglas en inglés)**, que ya ha publicado código de buenas prácticas para reducir las contaminaciones por micotoxinas de los cereales en su país.

Code of Good Agricultural Practice for the reduction of mycotoxins in UK cereals

También en Francia, la organización interprofesional Intercéréales ha elaborado una guía con recomendaciones específicas para prevenir y controlar las micotoxinas en los cereales.

Otro ejemplo de Guía específica para tratar de reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas lo constituye el documento elaborado en el mes de febrero de 2015 por la Subdirección General de Medios de Producción Ganaderos del MAGRAMA, en este caso, con **recomendaciones específicas para prevenir la contaminación por aflatoxina B₁ en la producción primaria, y concretamente, en maíz.**

El documento, se encuadra dentro del conjunto de medidas diseñadas por el MAGRAMA en colaboración con los sectores afectados para prevenir, en la medida de lo posible, que las concentraciones de Aflatoxina B₁ en maíz superen los límites establecidos legalmente.

Estas medidas van dirigidas a las distintas fases de la producción primaria que conducen a la producción, comercialización y uso del maíz como materia prima para piensos. El documento puede consultarse en la web del MAGRAMA.

Por último, como se ha indicado en la introducción de este capítulo, actualmente la aplicación de sistemas de autocontrol basados en el APPCC no es de obligado cumplimiento para los agricultores en la UE, si bien, la normativa general de higiene alimentaria contempla la posibilidad de introducir esta obligatoriedad a medio plazo.

Si se decide adoptar el enfoque APPCC, en algunos casos es posible identificar PCC en las etapas precosecha o durante la recolección. Para ello, para que una fase o etapa pueda ser considerada a este nivel PCC, deberán existir controles. **Un ejemplo de PCC, sería el grado de humedad en el momento de la cosecha del cereal.** Dado que la humedad del grano va a ser determinante en la fase posterior de almacenamiento, se debería establecer un nivel de humedad seguro para la recolección y, en caso de que debido a las condiciones climáticas particulares de la zona o del año en cuestión, esto no fuera posible, se debería someter el grano a un proceso de secado hasta disminuir su humedad a un valor que asegure su correcta conservación durante las siguientes fases de almacenamiento y transporte. Junto a los valores de humedad, en éste último caso, debería fijarse también un plazo máximo (tiempo) para realizar la operación de secado.

La consecuencia práctica del uso de Guías o Códigos de Buenas Prácticas Agrícolas o adhesión a sistemas de aseguramiento de cultivos es que, en la posible aplicación de un sistema APPCC integral, se disminuiría el número de Puntos de Control Crítico en las fases de cultivo y recolección.

Las Buenas Prácticas Agrícolas constituyen la primera línea de defensa frente a la contaminación de los cultivos por micotoxinas y su seguimiento resulta especialmente importante para reducir la posible presencia de estos contaminantes en la cadena alimentaria.

El clima es el factor determinante en la contaminación de los cultivos de cereales por micotoxinas, y sobre este factor, a día de hoy, no es posible actuar, pero el mejor conocimiento de los factores ambientales que favorecen la infección, resulta muy valioso a la hora de mejorar la eficacia de las posibles actuaciones a desarrollar. De ahí que muchas organizaciones estén trabajando con modelos predictivos.

4.3 Medidas de prevención y control de la contaminación de los cereales por micotoxinas durante las etapas poscosecha

Como operaciones poscosecha se entienden todas aquellas operaciones que tienen lugar inmediatamente después de la recolección y que van hasta la entrada del cereal en las industrias de primera transformación. De forma general estas operaciones implican: **almacenamiento, secado (si fuera necesario) y transporte.**

La contaminación por micotoxinas en estas fases poscosecha es debida principalmente a "mohos de almacenamiento". Como se ha visto en la introducción de esta Guía, dentro de esta categoría se encuentran diferentes especies de *Aspergillus* y *Penicillium* que son capaces de desarrollarse en condiciones de relativa escasez de agua. La micotoxinas típicas de esta fase de almacenamiento son las aflatoxinas (*Aspergillus*) y la OTA (*Aspergillus* y *Penicillium*), aunque su presencia también puede deberse a contaminación del cereal en campo.

La principal micotoxina asociada al almacenamiento del trigo en Europa es la OTA (producida principalmente por *P. verrucosum*), aunque si las condiciones de almacenamiento son muy inadecuadas, también se pueden llegar a producir toxinas de *Fusarium*.

La prevención de la producción de micotoxinas durante las fases de poscosecha depende fundamentalmente de se adopten unas buenas prácticas de gestión antes de la cosecha y después de ella. Por ejemplo, evitando la infestación del cereal por insectos, limitando el nivel de humedad de los productos, controlando las condiciones estructurales y ambientales de los lugares de almacenamiento, etc.

La etapa poscosecha puede complicarse mucho según el cereal va pasando por las manos de los diferentes operadores que intervienen en la cadena de suministro (cooperativas, almacenistas, importadores, ...) desde su entrega por parte del agricultor hasta su llegada a la industria de primera transformación.

Medidas de control en las fases poscosecha:

El cereal tras su recolección se presenta acompañado de impurezas diversas y puede contener determinados organismos con potencial toxicidad. Esto dependerá en gran medida de las condiciones registradas durante su cultivo y durante su cosecha. Unas condiciones de almacenamiento inadecuadas tras la recolección del cereal pueden derivar en un rápido deterioro del cereal, incluyendo la formación de micotoxinas.

Los principales controles en las fases poscosecha se centran en un único parámetro: **contenido en humedad del cereal.** La importancia del control de la humedad del cereal como medio para prevenir problemas sanitarios durante el almacenamiento es compartida y entendida por todas las industrias, si bien, este control, en la mayoría de los casos, no está pensado específicamente para prevenir la formación de micotoxinas, sino para evitar los efectos adversos sobre la calidad del cereal infestado por mohos.

El objetivo principal que se persigue con el secado del cereal (en aquellos países y regiones donde se realiza) y el control de la humedad durante todo su almacenamiento, es mantener el cereal en un nivel seguro de humedad que evite la proliferación fúngica e, indirectamente, la formación de micotoxinas.

Algunos hongos propios del almacenamiento tienen la capacidad de vivir y desarrollarse en condiciones ambientales relativamente secas (se les conoce como hongos o mohos xerofílicos o xerotolerantes).

Un factor que puede complicar mucho las cosas durante el almacenamiento es que una vez que se ha producido en alguna zona puntual del cereal almacenado una proliferación fúngica – quizás debida a estos mohos xerofílicos o xerotolerantes -, el agua que se genera como consecuencia del metabolismo de los propios mohos puede actuar como catalizador y contribuir a incrementar la formación de otros mohos más favorables a estos ambientes más húmedos.

Cuando hablamos de la importancia de la humedad para el desarrollo y crecimiento de los mohos lo correcto es referirse a la **Actividad de Agua (a_w)** más que al contenido en humedad. La actividad de agua se refiere a la cantidad de agua, del total contenido en la muestra de que se trate, que se encuentra libre (es decir, que no está ligada ni química ni físicamente al material de que se trate) y que por tanto, se encuentra disponible para ser utilizada por los mohos.

La actividad de agua está relacionada con la humedad relativa del ambiente. La a_w puede medirse directamente con un higrómetro electrónico.

La a_w se mide en una escala que va del 1.0 (para el agua pura) al 0.0 (para el material completamente desecado).

Otra posibilidad consiste en la elaboración de gráficos que relacionen el contenido en humedad con la a_w para una determinada materia prima o material. Este tipo de gráficos permitirá convertir los valores de contenido en humedad directamente en valores de a_w y podremos diseñar nuestros controles como función del contenido en humedad, que es mucho más común en la cadena de suministro del cereal y es más fácil de medir sin necesidad de recurrir a higrómetros electrónicos u otros instrumentos más complicados.

Por último, es importante señalar que la a_w depende de la temperatura, por lo que los gráficos o curvas de correspondencia "contenido humedad / a_w " deberán realizarse a una temperatura determinada. De hecho, para un determinado contenido en humedad, la a_w se incrementa gradualmente con el aumento de la temperatura.

La consecuencia práctica de este hecho en las condiciones de almacenamiento es que un aumento en la temperatura media puede actuar incrementando la a_w del cereal hasta niveles que favorezcan la proliferación de mohos. De ahí la **importancia de vigilar también la temperatura durante el almacenamiento.**

Los contenidos de humedad que se consideran seguros varían también en función del producto de que se trate, así para el maíz el contenido máximo de humedad para un almacenamiento seguro se estima en el 14%, y para el trigo entorno al 15% (ambos medidos a 20°C)

De forma general, se puede afirmar que un trigo almacenado con un contenido en agua de 0,70 (a_w) – contenido en humedad <14,5% - no va a ser objeto de deterioro por mohos ni va a soportar la producción de micotoxinas. Pero, mientras que en España nos parece un

contenido en humedad poco frecuente, en otros países el cereal es recolectado a humedades incluso mayores.

Para poder realizar un **adecuado control de temperatura y humedad durante el almacenamiento** se deberá contar con medios y procedimientos adecuados para su rápida y precisa medición.

Otro de los factores que pueden influir en la formación de micotoxinas durante el almacenamiento es la **infestación por insectos**, de ahí la importancia de establecer medidas preventivas para evitar que se produzcan infestaciones del cereal almacenado. Las plagas se alimentan del cereal almacenado, pudiendo ser causa de elevaciones puntuales y localizadas de la temperatura y generar humedad debido a su actividad metabólica, de modo que en estos puntos se favorece indirectamente el crecimiento y desarrollo de mohos y la formación de micotoxinas. Además, los insectos también pueden actuar como vectores en la diseminación de las esporas de los mohos.

En las etapas poscosecha también se suelen realizar evaluaciones directas de los productos para detectar posibles infestaciones y la posible presencia de micotoxinas. Por ejemplo, entre los controles que se realizan al cereal en la recepción normalmente se incluye la **realización de una inspección visual de una muestra** sobre la que, entre otras cosas, se pretenden detectar posibles signos de contaminación fúngica, como por ejemplo, granos con puntitos rosas que denotan contaminación con *Fusarium*, o bien, la presencia de granos atacados por insectos, ya que éstos son más susceptibles al ataque de mohos y la formación de micotoxinas. Cualquier producto que presente evidencia de contaminación fúngica será normalmente rechazado, o al menos, puesto en "cuarentena" a la espera de ser sometido a un análisis más específico, como por ejemplo, mediante un kit o análisis rápido de micotoxinas.

Existe un caso donde la contaminación se puede detectar a simple vista, con una observación visual por microscopía de la muestra: el cornezuelo de centeno. La presencia del esclerocio del cornezuelo de centeno puede ser fácilmente detectada por simple análisis visual del cereal, tanto en campo como en el cereal recolectado. Pero en el momento que ese cereal infectado entra en la cadena de aprovisionamiento (transporte, comercialización, producción de alimentos y piensos), el cuerpo del hongo (esclerocio) empieza a desmenuzarse y, debido a su alto contenido en grasa, va dejando una capa de residuo en todo lo que toca. Por lo que en este caso concreto, **resulta muy importante la detección y retirada temprana del hongo a nivel agricultor como una fase crucial para su control efectivo.**

Por último, otro factor que también puede alertar sobre posibles contaminaciones del cereal con hongos formadores de micotoxinas son los olores anormales, por lo que este aspecto también deberá tenerse en cuenta en la inspección del cereal previa a su ingreso en las instalaciones de almacenamiento.

Códigos de Buenas Prácticas:

Al igual que en las fases de cultivo y cosecha, en las operaciones que integran la etapa poscosecha también pueden seguirse Códigos de buenas prácticas de higiene a fin de evitar el deterioro del cereal recolectado.

Un ejemplo de este tipo de códigos son los **Códigos de Buenas Prácticas de Almacenamiento**, en los cuales se incluyen diversas recomendaciones para evitar el

deterioro del cereal durante el tiempo que permanece almacenado y que si bien, como ocurría anteriormente con los códigos de buenas prácticas agrícolas, pueden no ser recomendaciones especialmente diseñadas para evitar la formación de micotoxinas, su seguimiento resultará en una mejora del estado sanitario general del cereal durante su estancia en el lugar de almacenamiento.

En el **punto 4 del Anexo 1** se citan algunas de las recomendaciones tipo incluidas en los códigos de buenas prácticas de almacenamiento.

Algunos de estos códigos de prácticas también incluyen recomendaciones para la fase del transporte del cereal, o bien, esta fase puede tratarse en otro código de prácticas independiente y complementario al código de buenas prácticas de Almacenamiento. En el caso de esta Guía, las recomendaciones de **buenas prácticas durante el transporte** se reúnen en el **punto 5 del Anexo 1**.

Por ejemplo, en los esquemas de aseguramiento de la calidad del cereal del Reino Unido antes citados, para preservar y dar consistencia a la integridad del cereal obtenido mediante los sistemas de aseguramiento en granja, se ha desarrollado un **Programa para el aseguramiento comercial de cultivos combinables** (en inglés, Trade Assurance Scheme for Combinable Crops – TASCC) que está constituido por cuatro códigos de prácticas (transporte por carretera, almacenaje, pruebas de calidad y comercialización) que aseguran el pleno cumplimiento de las obligaciones legales relativas a la seguridad alimentaria y normas que rigen el sector en las etapas primordiales desde que la cosecha sale de la granja hasta que llega al primer procesador o centro de exportación.

Otro ejemplo de estos esquemas de aseguramiento es el **“Código de Buenas Prácticas para el Abastecimiento de Harineras”**, elaborado por la Asociación de Harineros Británicos e Irlandeses (Nabim), en el cual se incluyen recomendaciones operativas y de manejo del cereal en las fases poscosecha para asegurar un aprovisionamiento seguro de las harineras.

Estos esquemas de aseguramiento además pueden ser auditados y verificados por un tercero, lo cual da garantías de su seguimiento y cumplimiento.

Dentro de los Textos Básicos de Higiene Alimentaria del Codex Alimentarius se incluye un Código General de Buenas Prácticas de Almacenamiento, pero también otras organizaciones internacionales y a nivel europeo han elaborado sus normas o códigos de buenas prácticas específicos para el almacenamiento de cereal: Normas ISO, Códigos de GSP de COCERAL, ... si bien, en estos casos, no están específicamente pensados para el control de micotoxinas.

Por último, como se ha indicado en el punto anterior, tanto 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» del Codex Alimentarius, como la Recomendación de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, incluyen recomendaciones específicamente pensadas para prevenir la contaminación por micotoxinas de los cereales durante las fases de almacenamiento y transporte.

Al igual que en el punto anterior, el seguimiento de estos Códigos de Buenas Prácticas, simplificará el esquema de un posible sistema APPCC, disminuyendo el número de puntos de control crítico. Todos los operadores que intervienen en la cadena cerealista tras la salida del cereal del campo (cooperativas, almacenistas, importadores,...), están obligados a contar con un sistema de autocontrol basado en los principios del APPCC.

4.4 Medidas para la prevención, control y vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas

La normativa general sobre higiene de los alimentos obliga a las fábricas de harinas y sémolas, al igual que al resto de industrias de alimentación y bebidas de la UE, a disponer de un sistema de autocontrol basado en los principios del APPCC como medio para prevenir y gestionar los posibles riesgos sanitarios asociados a sus productos y procesos.

En este caso, las medidas de prevención y control que se adopten deberán integrarse en el sistema de autocontrol general de la industria.

La presencia de micotoxinas en los cereales y productos derivados deberá ser contemplada como un **peligro de tipo biológico** para cuya gestión, en función de la evaluación del riesgo realizada, se deberán adoptar medidas preventivas y de control específicas dentro del sistema general de gestión de peligros y puntos de control crítico de la empresa. Se deberán seguir las mismas etapas o principios que establece el sistema APPCC para el diseño e implantación del sistema.

La adopción de este tipo de sistema proactivo como medio para prevenir la contaminación de los productos por micotoxinas evitará el tener que realizar inspecciones sistemáticas de los productos terminados, con el consiguiente ahorro de tiempo y de recursos técnicos y económicos para las empresas.

Para comenzar, habrá que determinar en qué puntos o fases de la fabricación de harinas y sémolas se puede presentar la contaminación por micotoxinas del cereal o de los productos transformados (evaluación del riesgo) y paralelamente, describir las medidas preventivas a adoptar para evitar o reducir hasta límites seguros su presencia.

Esta fase normalmente lleva aparejada la elaboración de un Diagrama de Flujo del Proceso de Fabricación, donde se describirán en detalle todas las etapas y fases que componen el proceso.

Para realizar un correcto análisis del peligro y de la probabilidad de su ocurrencia (en este caso, de la presencia de micotoxinas) es necesario contar con un amplio conocimiento de todo el proceso de aprovisionamiento y producción y de todo lo relacionado con la formación de la micotoxina de que se trate. Valorando toda esta información en su conjunto se podrán determinar cuáles son las etapas que son determinantes para controlar la contaminación del cereal en cuestión por micotoxinas y establecer adecuadas medidas preventivas para su control.

La **evaluación del riesgo deberá realizarse en cada etapa del proceso y para cada micotoxina en cuestión**, ya que este hecho puede determinar el punto de entrada de esta contaminación en el proceso (ej.: la contaminación del cereal por toxinas de Fusarium se produce en campo, por lo cual, la recepción es una etapa clave para su control).

Esta es la etapa más crucial de todo sistema APPCC, pues de ella dependerá la efectividad del todo el sistema.

Los puntos o fases del proceso donde una pérdida de control puede llevar a que se produzca un riesgo inaceptable para la salud de las personas, o donde el control pueda y deba

aplicarse para prevenir peligros para la seguridad del producto, se consideran Puntos de Control Crítico (PCC). El siguiente paso es la determinación de los PCC.

Para la determinación de las fases o etapas en el proceso de fabricación de harinas y sémolas que constituyen un PCC para prevenir contenidos en micotoxinas por encima de los límites legales establecidos, se deberá estudiar en detalle cada fase del proceso en relación con las etapas que le siguen.

Si para un peligro en cuestión, como por ejemplo, la presencia de DON en trigo por encima de los límites máximos legales, existe una determinada etapa donde, con la adopción de determinados controles, es el mejor lugar para controlar este peligro, probablemente esa etapa sea un PCC.

Por el contrario, si se sabe que el peligro existe en una determinada etapa (por ejemplo, la recepción del trigo) y no existe ningún tipo de medida de control ni en dicha etapa ni en etapas siguientes, el producto en cuestión (siguiendo con el ejemplo, el trigo) no sería seguro para su uso y se deberían diseñar y poner en práctica medidas de control.

En general, la determinación de PCC en las etapas poscosecha dependerá en gran medida del sistema que se haya seguido en fases previas (por ejemplo, si durante el cultivo ha existido adhesión a Códigos de Buenas Prácticas Agrícolas, si durante el almacenamiento se siguen Códigos de Buenas Prácticas de Almacenamiento, si el cereal está dentro de esquemas de aseguramiento de calidad), junto con la valoración de datos disponibles de programas de vigilancia y de experimentos controlados.

Para evaluar mejor la situación y poder determinar los posibles PCC en todo este proceso, se recomienda elaborar un Diagrama de Flujo para cada cereal (en función del tipo de cereal, o del origen) con indicación de todas las posibles fases que componen su cadena de suministro. Esta actuación tiene mucha lógica por cuanto no es comparable el nivel de riesgo entre cereales procedentes de zonas donde la contaminación con micotoxinas es menos probable debido a sus condiciones climáticas, que el riesgo asociado a un cereal procedente de un determinado país donde este tipo de contaminación es más frecuente debido a su climatología.

A cada PCC identificado en el proceso habrá que asociar un Límite Crítico: tolerancia que se aplica a un PCC y que describe la diferencia entre un producto seguro y un producto no seguro. **Los límites críticos siempre deben ser parámetros cuantificables u observables en tiempo real.**

Por ejemplo, para el control de una posible contaminación del cereal con micotoxinas, los límites críticos pueden consistir en **valores de humedad y temperatura**, que garanticen un almacenamiento seguro del cereal.

Las buenas prácticas de almacenamiento recomiendan almacenar el trigo por debajo del 15% de humedad y una temperatura óptima de 15 °C.

La siguiente fase para la aplicación de un sistema APPCC al control de las micotoxinas en las fábricas de harina consistiría en establecer procedimientos para supervisar los PCC.

La vigilancia de los PCC es una de las partes más importantes de todo este sistema, ya que sus resultados nos facilitarán información sobre si el proceso está bajo control. Las operaciones o procedimientos de vigilancia que se establezcan deben ser precisos y rápidos.

En muchos casos, estos procedimientos pueden consistir en meros chequeos (revisiones documentales o visuales a la recepción del cereal o la medición del contenido de humedad en tiempo real).

Los análisis del contenido de micotoxinas no se pueden considerar sistemas de vigilancia de PCC, debido a lo dilatado de los plazos para obtener los resultados.

Sólo los métodos semi-cuantitativos tipo kits rápidos ELISA son potencialmente adecuados para estos fines y pueden ser utilizados en determinados casos como métodos de cribado o para despejar posibles dudas o sospechas respecto a la aceptación o no de una partida o lote.

A continuación, tras la determinación de los procedimientos u operaciones de vigilancia que se van a realizar, deberán determinarse las **acciones correctoras que deberán estar preestablecidas para cada PCC y cada peligro, cuando la vigilancia indique que existe una pérdida de control** (se han superado los límites críticos fijados).

Las acciones correctoras deben estar diseñadas para poder retomar el control sobre un PCC tan rápido como sea posible.

También junto a las propias acciones correctoras deberán establecerse **procedimientos que definan qué hacer con el producto que haya podido verse afectado por una pérdida de control**. En el caso que nos ocupa, el producto sospechoso de estar contaminado por micotoxinas como consecuencia de una pérdida o falta de control, debería ser apartado o segregado quedando pendiente su destino final de los resultados de un análisis. Por ejemplo, en esta situación en concreto, pueden resultar de mucha utilidad los kits rápidos (tarjetas ELISA).

En este caso, cualquier resultado sospechoso activaría un análisis de confirmación para identificar y cuantificar de forma inequívoca las micotoxinas.

Como se ha señalado antes, el destino del producto sospechoso dependerá de los resultados de estos análisis y de la gravedad de la contaminación, pero en función del resultado podría ser: reprocesado (si fuera posible), eliminado, destinado a otros usos (alimentación animal o fabricación de bioetanol u otros procesos industriales).

Las acciones correctoras se complementarán con las medidas a aplicar al proceso o etapa en cuestión en función del fallo que se haya producido, como por ejemplo: la reparación de maquinaria o equipos, calibración de sistemas de medición, revisión de la homologación de proveedores, etc.

A todo este tipo de acciones y procedimientos a aplicar cuando los sistemas de vigilancia alertan sobre una desviación o pérdida de control que pudiera materializarse en una superación de los contenidos máximos legales en micotoxinas en los productos (ya sean materias primas o productos terminados) hay que añadir la obligación general que establece el artículo 19 del Reglamento 178/2002 respecto a la responsabilidad de los operadores de empresas alimentarias en materia de **localización, inmovilización y retirada de productos** no conformes a la normativa.

« Si un explotador de empresa alimentaria considera o tiene motivos para pensar que alguno de los alimentos que ha importado, producido, transformado, fabricado o distribuido no cumple los requisitos de seguridad de los alimentos, procederá inmediatamente a su retirada del mercado cuando los alimentos hayan dejado de estar sometidos al control inmediato de

ese explotador inicial e informará de ello a las autoridades competentes. En caso de que el producto pueda haber llegado a los consumidores, el explotador informará de forma efectiva y precisa a los consumidores de las razones de esa retirada y, si es necesario, recuperará los productos que ya les hayan sido suministrados cuando otras medidas no sean suficientes para alcanzar un nivel elevado de protección de la salud. » (Art. 19 del R. 178/2002)

Finalmente, la manera de comprobar que todo nuestro planteamiento ha sido correcto y que el sistema que hemos diseñado y aplicado para prevenir y controlar la contaminación de nuestros productos por micotoxinas funciona es realizando la verificación del mismo.

Para ello, previamente, deberemos haber elaborado un procedimiento documentado en el cual se describa en qué va a consistir esta verificación periódica del sistema. Para el caso que nos ocupa, es en esta fase donde los análisis de los contenidos de micotoxinas tienen más sentido (sería necesario realizar análisis como parte de proceso de verificación).

Los resultados que se obtengan de la verificación pueden suponer una revisión de los PCC, la introducción de nuevos PCC o la modificación de los límites críticos establecidos.

Toda la documentación, información y registros que se generen como consecuencia de la evaluación de los riesgos asociados a la presencia de micotoxinas en nuestros productos, las medidas preventivas, los procedimientos operativos que se hayan establecido, los registros de las operaciones de vigilancia de PCCs, los procedimientos de toma de muestra, la descripción de acciones correctoras, etc., se integrarán dentro de la documentación general del sistema de autocontrol de la empresa.

Los procedimientos y demás documentos deberán estar redactados de forma sencilla de modo que sean fácilmente comprendidos por el personal encargado de su realización.

A modo de resumen y como complemento a las medidas para la prevención, control y vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas citadas en este punto, en el Anexo 2 de esta Guía se dan algunas recomendaciones comunes para la puesta en práctica de medidas preventivas, de vigilancia y control de las micotoxinas en los sistemas de autocontrol de las fábricas de harinas y sémolas.

5. MÉTODOS DE MUESTREO Y ANÁLISIS DE MICOTOXINAS EN CEREALES

5.1 Introducción

Tal y como se indica en la introducción general de esta guía, todas las micotoxinas tienden a presentarse de una forma muy heterogénea en las materias primas en que pueden estar presentes, ello es debido a que los hongos que las producen tienden a reproducirse y desarrollarse en puntos aislados del material almacenado o incluso sobre determinadas semillas. Este hecho hace que su distribución en el conjunto del lote sea muy heterogénea. Por ello, es **muy importante contar con un protocolo o estrategia para la toma de muestras de modo que la muestra que se recoja para el análisis sea verdaderamente representativa del conjunto del lote o partida**. La posible existencia de errores en el muestreo puede invalidar los resultados de los posteriores análisis.

Por otro lado, la mayoría de las micotoxinas son tóxicas a concentraciones muy bajas y esto hace necesario que los métodos de análisis que se empleen tengan la necesaria sensibilidad y fiabilidad.

El muestreo y el análisis de micotoxinas en su conjunto representan un importante reto para los analistas, ya que la existencia de errores en alguna de estas dos actividades pueden llevar a rechazar partidas que realmente cumplen con los límites, o por el contrario, a aceptar partidas en las cuales se superan los límites máximos establecidos por la legislación. Como las partidas en cuestión pueden tener elevados costes, las disputas en torno a los resultados analíticos pueden ser especialmente costosas, máxime si pueden afectar injustamente a la reputación de comerciantes o vendedores.

5.2 Planes de muestreo y preparación de muestras para el análisis de las distintas micotoxinas en los alimentos. Métodos oficiales y métodos alternativos

La importancia del muestreo en el resultado final de un análisis de micotoxinas no debe ser subestimada. Muy al contrario, tan importante es contar con un método analítico apropiado para detectar y cuantificar la presencia de una determinada micotoxina, como contar con un procedimiento o método de muestreo validado o con suficientes garantías para poder obtener una muestra representativa de la partida o cargamento a analizar.

5.2.1 Método de muestreo para el control oficial de micotoxinas en los cereales y productos derivados

Como se ha indicado en el apartado destinado en esta guía a la presentación de la normativa existente en el UE sobre micotoxinas, en paralelo a la aprobación y publicación de los distintos reglamentos sobre contenidos máximos de contaminantes en los productos alimenticios, la Comisión ha ido publicado normas con los criterios generales que deben cumplir los métodos de muestreo y análisis a realizar con fines de control oficial de productos alimenticios.

Posteriormente, la Comisión consideró que sería importante poder contar con un mismo método de muestreo para poder aplicar a un mismo producto para el control de todas las micotoxinas. En consecuencia, los métodos de muestreo y los criterios de funcionamiento de los métodos de análisis para el control oficial de todas las micotoxinas han quedado reunidos

en el Reglamento 401/2006 de la Comisión, de 23 de febrero de 2006, a fin de facilitar su aplicación.

Además, en este Reglamento, aplicable desde el 1 de julio de 2006, se han previsto disposiciones de muestreo más sencillas para los productos transformados, ya que en éstos productos la distribución de micotoxinas es normalmente menos heterogénea que en los productos a base de cereales no transformados.

Así pues, los controles oficiales se realizarán con arreglo a las disposiciones generales del Reglamento (CE) nº 882/2004 y en lo relativo a la toma de muestras para controlar el contenido de micotoxinas en los productos alimenticios se seguirán específicamente los métodos establecidos en el Reglamento 401/2006.

Descripción del método de muestreo para los cereales y productos a base de cereales según el Reglamento 401/2006:

Este método de muestreo es aplicable al control oficial de los contenidos máximos establecidos para la Aflatoxina B₁, las aflatoxinas totales, la ocratoxina A, las toxinas de *Fusarium* en los cereales y los productos a base de cereales y también para el control de los esclerocios de cornezuelo de centeno.

Para la correcta comprensión del método de muestreo que se describe en dicho Reglamento es importante tener claro el significado de los siguientes términos:

- **Lote:** cantidad identificable de un producto alimenticio, entregada en una vez y que presenta, a juicio del agente responsable, características comunes, como el origen, la variedad, el tipo de envase, el envasador, el expedidor o el marcado;
- **Sublote:** parte de un lote más grande designada para aplicar en ella el método de muestreo; cada sublote deberá estar separado físicamente y ser identificable;
- **Muestra elemental:** cantidad de material tomada en un único punto del lote o sublote;
- **Muestra global:** agregación de todas las muestras elementales tomadas del lote o sublote;
- **Muestra de laboratorio:** muestra destinada al laboratorio.

Disposiciones generales para la toma de muestras

Material objeto de muestreo

Todo lote para analizar será objeto de un muestreo separado. De acuerdo con las disposiciones específicas de muestreo para las diferentes micotoxinas, los grandes lotes se subdividirán en sublotes, que serán objeto de un muestreo separado.

Precauciones

Durante el muestreo y la preparación de las muestras, deberán tomarse precauciones para evitar toda alteración que pueda afectar:

- al contenido de micotoxinas, influir de manera adversa en la determinación analítica o invalidar la representatividad de las muestras globales,
- a la seguridad alimentaria de los lotes que serán objeto de muestreo.

Asimismo, se adoptarán todas las medidas necesarias para garantizar la seguridad de las personas que tomen las muestras.

Muestras elementales

En la medida de lo posible, las muestras elementales se tomarán en distintos puntos del lote o sublote. Toda excepción a esta norma deberá señalarse en la correspondiente acta de inspección.

Preparación de la muestra global

La muestra global se obtendrá agrupando las muestras elementales.

Muestras idénticas

Las muestras idénticas para garantizar el cumplimiento de la normativa o con fines comerciales (defensa) o de referencia (arbitraje) se tomarán de la muestra homogeneizada global, a menos que este procedimiento contravenga la normativa de los Estados miembros relativa a los derechos del operador de la empresa alimentaria.

Acondicionamiento y envío de las muestras

Cada muestra se colocará en un recipiente limpio, de material inerte, que ofrezca una protección adecuada contra la contaminación y el deterioro que pudiera resultar del transporte. Se tomarán todas las precauciones necesarias para evitar cualquier modificación de la composición de la muestra que pudiera ocurrir durante el transporte o el almacenamiento.

Precintado y etiquetado de las muestras

Cada muestra tomada para su uso oficial se precintará en el lugar de muestreo y se identificará según las disposiciones vigentes en el Estado miembro.

De cada toma de muestras deberá establecerse un acta que permita identificar sin ambigüedad cada lote y que indique la fecha y el lugar del muestreo, así como toda información adicional que pueda resultar útil al analista.

Distintos tipos de lotes

Los productos alimenticios pueden comercializarse a granel, en contenedores o en envases individuales, como sacos, bolsas o envases para la venta al por menor. El método de muestreo podrá aplicarse a todas las formas distintas en que se comercialicen los productos.

Sin perjuicio de las disposiciones específicas establecidas en los siguientes puntos, la fórmula siguiente podrá utilizarse como guía para el muestreo de los lotes comercializados en envases individuales, como sacos, bolsas o envases para la venta al por menor.

$$\text{Frecuencia de muestreo } n = \frac{\text{Peso del lote} \times \text{Peso de la muestra elemental}}{\text{Peso de la muestra global} \times \text{Peso de un envase individual}}$$

— peso: expresado en kg,
— frecuencia de muestreo: cada número «n» de envases individuales de los que ha de tomarse una muestra elemental (los decimales se redondearán al número entero más cercano).

Peso de la muestra elemental

El peso de la muestra elemental será de aproximadamente 100 g, a menos que el peso de la muestra esté definido de otra forma en esta parte B del anexo I del Reglamento 401/2006.

En el caso de los lotes que se presentan en envases para la venta al por menor, el peso de la muestra elemental dependerá del peso del envase.

Si se trata de envases para la venta al por menor con un peso superior a 100 g, esto dará como resultado muestras globales de más de 10 kg. Si el peso de un envase individual de ese tipo es muy superior a 100 g, de cada uno de los envases se tomarán 100 g para constituir la muestra elemental. Esto puede hacerse al recoger la muestra o en el laboratorio. Sin embargo, cuando tal método de muestreo pueda tener consecuencias comerciales inaceptables derivadas de los daños ocasionados al lote (debido a las formas de envase, los medios de transporte, etc.), podrá utilizarse un método alternativo de muestreo. Este es el caso, por ejemplo, de productos con valor comercial puestos en el mercado en paquetes para la venta al por menor de 500 g o 1 kg. En tal caso, la muestra global puede obtenerse añadiendo varias muestras elementales más bajas que lo indicado en los cuadros 1 y 2, siempre que el peso de la muestra global sea igual al peso requerido de la muestra global mencionada en dichos cuadros.

Si el peso de un envase para la venta al por menor es inferior a 100 gramos y la diferencia no es muy grande, se considerará que dicho envase es una muestra elemental, lo que dará como resultado una muestra global de menos de 10 kg. Si el peso de un envase de esa clase es muy inferior a 100 g, una muestra elemental consistirá en dos o más envases, para aproximarse lo más posible a los 100 g.

➤ Método de muestreo para los cereales y productos a base de cereales en lotes superiores o iguales a 50 toneladas

Para el **muestreo de los lotes de gran tamaño** (por ejemplo, para el muestreo de grandes lotes de cereal almacenado en silos, graneros, buques...), lo previsto inicialmente en el Reglamento 401/2006 resultaba técnica y económicamente inaplicable.

Por ello, la propia Comisión Europea estableció un grupo de trabajo "ad hoc" para el desarrollo de guías con recomendaciones para realizar el muestreo en diversas situaciones (por ej.: muestreo de cereales almacenados en silos), y la previsión inicial era que esas guías hubieran estado disponibles desde comienzos de julio de 2006, pero finalmente estos trabajos fueron acumulando demoras y no fue hasta mediados de mayo de 2014 cuando se publicó el **Reglamento UE nº 519/2014 mediante el cual se introducen una serie de modificaciones en el Reglamento 401/2006** encaminadas a mejorar los métodos de muestreo en una serie de productos alimenticios con vistas a la determinación del contenido en micotoxinas, particularmente, **modificaciones específicas sobre la toma de muestras de lotes de gran tamaño.**

De las modificaciones introducidas por el Reglamento UE 519/2014 en lo que respecta a los métodos de muestreo para los cereales y productos a base de cereales y concretamente, para el muestreo de grandes lotes, destacamos lo siguiente:

- Se introduce un **nuevo apartado (L) en el anexo I del Reglamento 401/2006**, con el título: MÉTODO DE MUESTREO DE LOTES MUY GRANDES, O TRANSPORTADOS O ALMACENADOS DE MODO QUE NO PUEDAN MUESTREARSE EN SU TOTALIDAD, donde se definen los principios generales y las condiciones particulares de muestreo en función de si se trata de **cereal transportado en buques (L.3), de grandes lotes de cereal almacenados en depósitos (L.4), de muestreo de cereal en almacenes – silos – (L.5), o bien, muestreo de alimentos a granel en grandes contenedores cerrados.**
- Por otro lado, en la parte B, que es donde se especifican los métodos de muestreo para cereales y productos a base de cereales se introducen una serie de modificaciones:

- a) en la **parte B, la nota 1 a pie de página** se sustituye por el texto siguiente:

«(1) La toma de muestras de estos lotes se efectuará con arreglo a lo dispuesto en la parte L. Se facilitarán orientaciones sobre la toma de muestras de lotes de gran tamaño en un documento que estará disponible en:

<http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/guidance-sampling-final.pdf>

Las reglas para la toma de muestras con arreglo a la norma EN ISO 24333:2009 o a la norma nº 124 de la Asociación de Comercio de Granos y Piensos que se aplican a la industria alimentaria para garantizar el cumplimiento de las disposiciones legislativas equivalen a las establecidas en la parte L.

Las reglas para la toma de muestras de lotes con toxinas Fusarium con arreglo a la norma EN ISO 24333:2009 o a la norma no 124 de la Asociación de Comercio de Granos y Piensos que se aplican a la industria alimentaria para garantizar el cumplimiento de las disposiciones legislativas equivalen a las establecidas en la parte B.»;

- b) el **cuadro 1 del punto B.2** se sustituye por el siguiente:

Cuadro 1
Subdivisión de los lotes en sublotos en función del producto y del peso del lote

| Producto | Peso del lote (t) | Peso o número de sublotos | Número de muestras elementales | Peso de la muestra global (kg) |
|---|-------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Cereales y productos a base de cereales | > 300 y < 1 500 | 3 sublotos | 100 | 10 |
| | ≥ 50 y ≤ 300 | 100 t | 100 | 10 |
| | < 50 | — | 3-100 (*) | 1-10 |

(*) Según el peso del lote: véase el cuadro 2.»;

- c) en el **punto B.3**, al final del primer guion se añade la frase siguiente: «*Para los lotes > 500 t, el número de muestras elementales se prevé en el punto L.2 del anexo I.*»

➤ **Método de muestreo para los cereales y productos a base de cereales en lotes inferiores a 50 toneladas**

En el caso de lotes de cereales o productos a base de cereales inferiores a 50 toneladas, se aplicará el plan de muestreo tomando entre 10 y 100 muestras elementales, según el peso del lote, que darán como resultado una muestra global de entre 1 y 10 kg.

En el caso de lotes muy pequeños (inferiores o iguales a 0,5 t) podrá tomarse un número inferior de muestras elementales, aunque el peso de la muestra global obtenida al agregar todas las muestras elementales deberá ser, también en este caso, de al menos 1 kg.

Las cifras del **cuadro 2** podrán utilizarse para determinar el número de muestras elementales necesarias.

Cuadro 2
Número de muestras elementales que deben tomarse, en función del peso del lote de cereales y productos a base de cereales

| Peso del lote (en toneladas) | Número de muestras elementales | Peso de la muestra global (en 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 |

Muestreo en la fase de comercio minorista

La toma de muestras de productos alimenticios en la fase de comercio minorista deberá realizarse, siempre que sea posible, de conformidad con las normas de muestreo descritas.

Cuando esto no sea posible, podrá emplearse en la fase minorista un método alternativo de muestreo, siempre que dicho método garantice que la muestra global es suficientemente representativa del lote objeto de muestreo y esté pormenorizadamente descrito y documentado. En cualquier caso, la muestra global será de al menos 1 kg.

Criterios aplicables a la preparación de las muestras

Precauciones

Dado que la distribución de las micotoxinas no es por lo general homogénea, las muestras se prepararán y, sobre todo, homogeneizarán, con sumo cuidado.

Si el laboratorio realiza la homogeneización, se homogeneizará la muestra completa recibida en él. Para el análisis de las aflatoxinas conviene evitar en la medida de lo posible la luz del día durante la operación, puesto que las aflatoxinas se descomponen progresivamente bajo la influencia de la luz ultravioleta.

Tratamiento de la muestra recibida en el laboratorio

Cada una de las muestras de laboratorio deberá triturarse finamente y mezclarse cuidadosamente según un método reconocido para garantizar una completa homogeneización.

En el caso de que el contenido máximo sea aplicable a la materia seca, el contenido de materia seca del producto se determinará sobre una parte de la muestra homogeneizada, usando un procedimiento que garantice una determinación precisa del contenido de materia seca.

Muestras idénticas

Las muestras idénticas para garantizar el cumplimiento de la normativa o con fines comerciales (defensa) o de referencia (arbitraje) se tomarán del producto homogeneizado, a menos que este procedimiento contravenga la normativa de los Estados miembro relativa a los derechos del operador de la empresa alimentaria.

Aceptación de un lote o sublote

- El lote o sublote será aceptado si la muestra de laboratorio se ajusta al límite máximo, teniendo en cuenta la incertidumbre de medición y la corrección en función de la recuperación,
- El lote o sublote será rechazado si la muestra de laboratorio supera, fuera de toda duda razonable, el límite máximo, teniendo en cuenta la incertidumbre de medición y la corrección en función de la recuperación.

5.2.2 Métodos de muestreo alternativos para el control del contenido de micotoxinas en los cereales y productos derivados:

Los métodos de muestreo descritos en el citado Reglamento 401/2006 están basados en técnicas y datos estadísticos que aseguran y avalan su idoneidad para los fines previstos. Pero en la mayoría de los casos, estos métodos son imposibles de utilizar en el día a día por parte de los distintos operadores que intervienen en la cadena cerealista.

Las principales dificultades que se pueden presentar a la hora de seguir los métodos oficiales de muestreo y que incluso se les pueden presentar a las autoridades responsables del control oficial de productos alimenticios, son debidas a costes asociados, equipamiento requerido y personal necesario.

Por ejemplo, en caso de que sea necesario muestrear grandes lotes o partidas de cereal almacenado, el número de muestras elementales necesarias para conformar la muestra global dependerá del tamaño del lote o partida en cuestión, pero considerando que cada muestra elemental suele ser de 100 g, en conjunto la muestra global resultante estaría en torno a 10 – 30kg. En este caso, la toma de muestras resultaría relativamente sencilla si se cuenta con equipamiento para realizar la toma de muestras con el cereal en movimiento (por ejemplo, durante su descarga o el llenado de un silo), pero resultará una tarea harto laboriosa y costosa en otras situaciones, donde el acceso al producto almacenado es dificultoso y la toma de muestras debe realizarse de forma manual.

Otro problema que puede presentarse es en el modo de conservar las muestras. Lo ideal, para evitar que se produzcan variaciones en el contenido de micotoxinas, es conservar las muestras tomadas en refrigeración. Si resulta que cada muestra global puede tener un peso de alrededor de 30 kg, pronto surgirían problemas de espacio y de capacidad de almacenamiento y conservación de las muestras. Además, a este problema habría que sumar los derivados de la manipulación de estas cantidades de producto por el personal encargado o por los técnicos del laboratorio de análisis.

Estos problemas también se pueden presentar en los laboratorios, donde lo habitual es que estén equipados para manipular muestras mucho menores (0,2 y 1 kg), y por tanto, las mezcladoras, los molinos y otro equipamiento necesario para la preparación de la muestra no están preparados para estas grandes cantidades. Su adecuación supondrá mayores gastos.

Por último, como lo normal es dividir la muestra global en tres muestras de laboratorio y conservar dos de ellas durante algún tiempo después de la realización del análisis inicial por si pudiera surgir algún tipo de disputa en cuanto al resultado, y para evitar la degradación del contaminante en dichas muestras lo idóneo es mantener en almacenamiento a -20°C , es probable que en cuestión de poco tiempo, las instalaciones del laboratorio se vieran desbordadas por el volumen de muestras acumulado.

Por todos estos motivos y posibles dificultades en el empleo de los métodos de muestreo oficial, **la normativa concede a las empresas la posibilidad de utilizar otros métodos alternativos de muestreo, menos costosos y complejos, siempre y cuando sus resultados y efectividad sean comparables a los métodos de muestreo oficial.** Estos métodos de muestreo alternativos podrán ser utilizados por las empresas como **método de rutina para fines de control interno** y para demostrar "debidamente diligencia".

Los principales factores que influyen en la obtención de muestras representativas se resumen a continuación:

- La toma de muestras deberá realizarse por personal cualificado, adecuadamente formado y motivado, conocedor de la importancia que esta operación tiene para obtener muestras verdaderamente representativas.
- Para realizar la toma de muestras se deberán utilizar aparatos / material o instrumentos apropiados a tal fin, limpios y en buenas condiciones de mantenimiento. Es importante tener presentes las características técnicas de los instrumentos para la toma de muestras actualmente disponibles.

- Es muy importante elegir bien el equipo o instrumental de muestreo que sea más adecuado al tipo de lote que se vaya a muestrear. La utilización de picas para toma de muestras que trabajan por succión / en vacío puede acarrear la rotura de granos. Siempre que sea posible es más conveniente utilizar toma muestras automáticos frente a los toma muestras manuales.
- Igualmente, la toma de muestras deberá realizarse de forma que se evite la contaminación del producto durante la realización de la misma, en concreto, se deberá evitar realizar esta operación si las condiciones climáticas o ambientales son adversas y evitar que se produzca contaminación cruzada.
- Deberán tomarse aleatoriamente muestras elementales de diversos puntos del lote o sublote de que se trate. Para cualquier tipo de cereal, e independientemente del tipo de método de muestreo que se emplee, las muestras elementales deberán tomarse a intervalos regulares y en toda la profundidad y extensión del lote. Cualquier cambio en el procedimiento preestablecido para la toma de muestra deberá quedar registrado.
- Las muestras elementales son más fáciles de obtener cuando el producto se encuentra en movimiento, ya que es más fácil acceder a todos los puntos del mismo. Cada parte del lote o partida de que se trate deberá tener la misma probabilidad de ser seleccionada. Se obtienen mejores resultados si el muestreo se realiza sobre cereal en movimiento.
- Los métodos para la toma de muestras (manuales o automáticos) en cereales en movimiento deberán adaptarse a la velocidad de flujo del cereal.
- Es importante tener presente en la toma de muestras de cereal a granel, que las impurezas más ligeras normalmente se encuentran en la superficie y las más pesadas en el centro y que el mayor o menor contenido en impurezas puede afectar al resultado final.
- Los medios para el manejo (incluido su transporte) y para el almacenamiento de las muestras deben ser adecuados y los tiempos de almacenamiento previos a su análisis deben ser tan cortos como sea posible. Conociendo los factores que pueden influir en la variación de los contenidos en micotoxinas, tanto incrementándolos (por ejemplo, temperatura y humedad) como disminuyéndolos (luz solar), se podrá decidir el mejor modo de conservar y mantener la muestra hasta su análisis. Así, por ejemplo, en el caso de aflatoxinas, se recomienda guardar la muestra en bolsas de plástico opacas y conservar en condiciones de refrigeración hasta el momento de su análisis.
- Unas buenas prácticas o procedimiento de muestreo requiere necesariamente contar con un procedimiento adecuado para el etiquetado, claro, seguro e indeleble de las muestras, en el cual deberá reflejarse la información esencial como por ejemplo: nombre del operador responsable de la toma de muestra, lugar del muestreo, número de lote, condiciones, aparamenta o instrumental empleado, fecha, hora y observaciones.

Otro de los factores que se ha demostrado determinante a la hora de muestrear productos para valorar el contenido en un contaminante o propiedad que se presenta de una forma muy heterogénea es el número de muestras elementales a tomar del lote o partida en

cuestión. A mayor número de muestras elementales, más representativa es la muestra global resultante.

Pero es difícil determinar y recomendar un número óptimo de muestras elementales, ya que dependerá de la distribución y concentración del contaminante de que se trate, del tamaño del lote en cuestión y de la naturaleza y valor económico del producto a muestrear.

Lo ideal es que el protocolo o método de muestreo a emplear se establezca teniendo en cuenta tres cuestiones: el coste que tendrá el proceso, el trabajo que llevará realizarlo y la variabilidad o fiabilidad en el resultado.

Sin duda, la toma de muestras es un proceso que puede llevar su tiempo y con unos costes asociados, pero tampoco se debe olvidar que de ello depende básicamente la obtención de resultados analíticos fiables.

En caso de que una empresa en cuestión decida recurrir a un método de muestreo alternativo, éste deberá estar documentado, tan detallado como sea posible y con suficiente información sobre el proceso y los medios utilizados tanto en la toma de muestra como en los pasos subsiguientes hasta que la muestra es analizada o enviada a un laboratorio externo para su análisis. En este caso, si surgiera una disputa de tipo comercial o legal, los tribunales son quienes deberían pronunciarse sobre la aceptabilidad del método de muestreo empleado.

La fase de molido para la homogeneización, como parte de la preparación de la muestra, podrá realizarse en el laboratorio de la harinera en cuestión, pero el local donde se lleve a cabo deberá disponer del equipo de molido y de un entorno y un protocolo de homogeneización adecuados.

Por último, las empresas o los operadores de la cadena cerealista pueden recurrir al empleo de métodos de muestreo desarrollados por organismos de normalización u otros organismos de reconocido prestigio a nivel internacional o europeo.

Tal y como la propia Comisión reconoce, **en el momento actual se puede recurrir a la norma "EN ISO 24333:2009. Cereales y productos derivados. Toma de muestras" como método alternativo para realizar el muestreo.**

La citada norma internacional describe los requisitos relacionados con la toma de muestras dinámica o estática, por medios manuales o mecánicos, de los cereales y los productos derivados de los cereales, destinada a la determinación de su calidad y estado.

Resulta aplicable para la toma de muestras dirigida a la determinación de contaminantes distribuidos de forma heterogénea, de sustancias no deseadas y de parámetros distribuidos normalmente de forma homogénea, como los utilizados para determinar la calidad o el cumplimiento de requisitos.

La referida norma internacional podrá utilizarse como referencia a la hora de diseñar los protocolos o procedimientos de muestreo tanto en cereales en movimiento como sobre lotes estancos (silos y camiones), en trigo y en maíz, utilizando distintos tipos de toma muestras (picas o lanzas), tanto manuales como automáticos.

5.3 Principios generales de los métodos de análisis utilizables para la determinación de las distintas micotoxinas

Como se ha indicado anteriormente, un método de control tiene dos componentes principales: el muestreo y el análisis propiamente dicho. Hoy en día existen métodos de análisis precisos, sensibles y validados para la mayoría de las micotoxinas.

La legislación comunitaria **no establece ningún método de análisis específico para la determinación del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios**, sino que establece unos **criterios generales y específicos** a los que deberá ajustarse el método de análisis en cuestión para poder ser empleado con fines de control oficial del contenido en micotoxinas de los alimentos.

Los laboratorios de control podrán aplicar cualquier método de su elección, siempre que su funcionamiento se ajuste a dichos criterios generales, lo cual permitirá garantizar unos niveles de eficacia comparables.

5.3.1 Métodos de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los cereales y productos derivados

Requisitos generales

Los métodos de confirmación de análisis utilizados para el control de los alimentos se ajustarán a lo dispuesto en el Reglamento CE 882/2004 y en particular, a lo establecido en los puntos 1 y 2 de su anexo III y en lo relativo al análisis del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios se seguirán específicamente los criterios generales y específicos establecidos en el Reglamento 401/2006.

De forma general, los métodos de análisis empleados en el control oficial de productos alimenticios se caracterizaran por seguir los siguientes criterios (punto 1 del Anexo III):

- a) exactitud
- b) aplicabilidad (matriz y gama de concentración)
- c) límite de detección
- d) límite de determinación
- e) precisión
- f) repetibilidad
- g) reproducibilidad
- h) recuperación
- i) selectividad
- j) sensibilidad
- k) linealidad
- l) incertidumbre de medida
- m) otros criterios que puedan adoptarse según las necesidades.

Además, dentro de los criterios específicos que debe reunir un método de análisis según la normativa europea para realizar el control del contenido en micotoxinas de los productos alimenticios se establece la recuperación, límite de cuantificación y la desviación relativa, en vez de establecer un método en concreto.

En general, según el Reglamento 882/2004, los controles oficiales deben realizarse basándose en procedimientos documentados, a fin de asegurar que se llevan a cabo de una manera uniforme y con una calidad elevada constante.

La autoridad competente y responsable del control oficial de los productos alimenticios puede delegar determinadas tareas de control específicas (por ej.: el análisis de micotoxinas) en uno o más organismos de control, para lo cual, deberá definir previamente y con precisión las tareas que dicho organismo de control puede llevar a cabo y las condiciones en que puede realizarlas y si existen pruebas de que el organismo de control:

- posee la experiencia, los equipos y la infraestructura necesarios para realizar las tareas que le han sido delegadas,
- cuenta con personal suficiente con la cualificación y experiencia adecuadas,
- es imparcial y no tiene ningún conflicto de intereses en lo que respecta al ejercicio de las tareas que le han sido delegadas;

Además, el **organismo de control deberá trabajar y estar acreditado de acuerdo con la norma europea EN 45004, « Criterios generales para el funcionamiento de los diversos tipos de organismos que realizan inspección »**, o con otra norma que resulte más pertinente para las tareas delegadas de que se trate y, en concreto, los **laboratorios oficiales** que sean designados por la autoridad competente para realizar el análisis de las muestras tomadas en los controles oficiales deberán funcionar y estar evaluados y acreditados conforme a las siguientes normas europeas: (artículo 12 del Reglamento (CE) nº 882/2004)

a) EN ISO/IEC 17025, « **Requisitos generales relativos a la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración** »;

b) EN ISO/IEC 17011, «**Requisitos generales para los organismos de acreditación que realizan la acreditación de organismos de evaluación de la conformidad**».

Teniendo en cuenta los criterios establecidos en la legislación comunitaria sobre piensos y alimentos aplicables a los diferentes métodos de ensayo (en el caso de análisis de micotoxinas en cereales, los criterios definidos específicamente en el Reglamento 401/2006).

La acreditación y la evaluación de los laboratorios de ensayo podrán referirse a ensayos individuales o a grupos de ensayos.

Los laboratorios que participan en el análisis de muestras oficiales deben aplicar procedimientos conformes con la normativa comunitaria en vigor o, a falta de esta normativa, con las normas o protocolos internacionalmente reconocidos, por ejemplo, los aceptados por el Comité Europeo de Normalización (CEN), o los autorizados internacionalmente o normas de funcionamiento basadas en criterios y emplear métodos de análisis que, en la medida de lo posible, hayan sido validados.

El Comité Europeo de Normalización (CEN) ha elaborado normas europeas (normas EN) adecuadas a efectos del Reglamento 882/2004. Estas normas EN se refieren, en particular,

al funcionamiento y la evaluación de laboratorios de ensayo y al funcionamiento y la acreditación de los órganos de control. También han elaborado normas internacionales la Organización Internacional de Normalización (ISO) y la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), algunas de las cuales definen específicamente métodos de análisis de micotoxinas en cereales y productos derivados.

Estas normas, en casos bien definidos, podrían ser adecuadas a efectos de control del contenido en micotoxinas, teniendo en cuenta que en la legislación sobre piensos y alimentos se han establecido criterios sobre resultados a fin de garantizar la flexibilidad y la rentabilidad.

Por otro lado, la designación de laboratorios comunitarios y nacionales de referencia también contribuye a que los resultados de los análisis sean de elevada calidad y muy uniformes. Este objetivo puede alcanzarse, entre otras cosas, aplicando métodos de análisis validados, asegurando la disponibilidad de materiales de referencia, organizando ensayos comparativos y formando adecuadamente al personal de los laboratorios.

Requisitos específicos

En cuanto a las condiciones específicas que han de reunir los métodos de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios, se deberán cumplir los criterios establecidos en el anexo II del Reglamento 401/2006, según las modificaciones introducidas por el Reglamento 519/2014.

Tratamiento de la muestra recibida en el laboratorio:

Dado que la distribución de las micotoxinas no es por lo general homogénea, las muestras se prepararán y, sobre todo, homogeneizarán, con sumo cuidado.

Si el laboratorio realiza la homogeneización, se homogeneizará la muestra completa recibida en él.

Cada una de las muestras de laboratorio deberá triturarse finamente y mezclarse cuidadosamente según un método reconocido para garantizar una completa homogeneización.

En el caso de que el contenido máximo sea aplicable a la materia seca, el contenido de materia seca del producto se determinará sobre una parte de la muestra homogeneizada, usando un procedimiento que garantice una determinación precisa del contenido de materia seca.

Las muestras idénticas para garantizar el cumplimiento de la normativa o con fines comerciales (defensa) o de referencia (arbitraje) se tomarán del producto homogeneizado, a menos que este procedimiento contravenga la normativa de los Estados miembro relativa a los derechos del operador de la empresa alimentaria.

Método de análisis que utilizará el laboratorio y requisitos de control del laboratorio:

Como se ha señalado anteriormente, el Reglamento 401/2006 no establece un método específico para la determinación del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios,

sino que los laboratorios podrán aplicar cualquier método de su elección, siempre que se ajuste a unos criterios de funcionamiento que están definidos para cada tipo de micotoxina.

En cada caso, al método de análisis se le exige que tenga un determinado grado de precisión para una determinada franja de concentraciones posibles.

Entre los criterios de funcionamiento de los métodos de análisis para las micotoxinas no se indican los límites de detección de los métodos utilizados, puesto que se dan los valores de precisión para las concentraciones que presentan interés. En cuanto a los valores de precisión, se calculan a partir de la ecuación de Horwitz, que es una ecuación de precisión generalizada, independiente del analito y de la matriz, y dependiente únicamente de la concentración en la mayoría de los métodos habituales de análisis.

Por otro lado, en el anexo II se establecen requisitos específicos de funcionamiento para dos tipos de métodos de análisis:

- criterios de **funcionamiento para métodos de confirmación**, que son determinaciones complejas que recurren a técnicas analíticas e instrumentales que requieren de personal e instrumental especializado.

En estos casos, el Reglamento recomienda la utilización de métodos de confirmación plenamente validados (es decir, validados por ensayos colectivos para las matrices correspondientes) cuando resulte oportuno y posible. También pueden utilizarse otros métodos de confirmación validados adecuados (como métodos validados internamente con las matrices correspondientes del grupo de productos pertinente), siempre que cumplan los criterios de funcionamiento establecidos. Cuando sea posible, la validación de los métodos validados internamente incluirá material de referencia certificado.

- Requisitos específicos para **métodos semicuantitativos de cribado**.

Estos requisitos se aplican a los métodos bioanalíticos basados en el inmunorreconocimiento o en la unión a los receptores (por ejemplo, ELISA, medidas de nivel, dispositivos de flujo lateral, inmunosensores) y a los métodos fisicoquímicos basados en la cromatografía o en la detección directa por espectrometría de masas (por ejemplo, espectrografía de masas ambiente). No se excluyen otros métodos (por ejemplo, cromatografía de capa fina), siempre que las señales generadas se refieran directamente a las micotoxinas de interés. Los requisitos específicos se aplican a los **métodos cuyo resultado de medición es un valor numérico**, por ejemplo una respuesta (relativa) de un lector de nivel, una señal de cromatografía líquida acoplada a espectrografía de masas, etc., y que se someten a las estadísticas normales. Los requisitos **no se aplican a los métodos que no dan valores numéricos** (por ejemplo, únicamente una línea presente o ausente), **que requieren diferentes planteamientos de validación**.

Estimación de la incertidumbre de medición, cálculo de la tasa de recuperación y registro de los resultados:

El resultado analítico deberá expresarse como sigue:

- a) **Corregido en función de la recuperación**, indicando su nivel. Dicha corrección no será necesaria si el porcentaje de recuperación se sitúa entre el 90 % y el 110 %.

b) Como " $x \pm U$ ", donde **x es el resultado analítico** y **U la incertidumbre de medida expandida**, utilizando un factor de cobertura de 2, que da un nivel de confianza aproximado del 95 %.

La incertidumbre de medida depende del método de análisis utilizado y de cada laboratorio. Las presentes normas de interpretación del resultado del análisis para la aceptación o el rechazo del lote son aplicables al resultado del análisis de la muestra destinada al control oficial.

En caso de **análisis con fines de defensa del comercio o de arbitraje**, se aplicarán las normas nacionales, o las establecidas en los correspondientes modelos de contrato (ej.: Incograin).

En las operaciones comerciales, es muy recomendable alcanzar un acuerdo entre los operadores intervinientes respecto a: el método analítico a aplicar en la determinación del contenido en micotoxinas de la partida objeto de la transacción; el laboratorio donde se deberá realizar el análisis; y los procedimientos o criterios a aplicar en la interpretación de los resultados.

Normas de calidad aplicables a los laboratorios:

Como se ha señalado anteriormente, el laboratorio debe respetar las disposiciones del artículo 12 del Reglamento (CE) nº 882/2004 sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales.

5.3.2 Resumen de los principales métodos de análisis utilizables para la determinación de las distintas micotoxinas

A continuación, a título informativo, se presenta un resumen de las bases y fundamentos de los principales métodos y técnicas analíticas utilizadas para identificar y cuantificar la presencia de micotoxinas.

La aplicación de este tipo de métodos y técnicas es bastante cara ya que requiere de material y equipos especializados y personal experto, por lo cual, normalmente se realiza en laboratorios especializados.

En el Anexo 4 de esta Guía se incluye un listado de normas sobre métodos de análisis actualmente en vigor.

Aflatoxinas

Muestreo:

El muestreo y la preparación de las muestras supone la principal fuente de error a la hora de realizar la detección de aflatoxinas, por lo que es necesario una sistemática para la determinación de estas toxinas en las muestras, que se encuentran presentes en el producto en un rango de $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Es importante que el muestreo se realice siguiendo los métodos oficiales o métodos alternativos equivalentes en cuanto a su eficacia para obtener muestras representativas.

Las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, pueden determinarse simultáneamente empleando distintos métodos de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC, sus siglas en inglés).

Todos los métodos tienen en común que la extracción se realiza con solventes orgánicos, tras lo cual se realiza una limpieza, antes de llevar a cabo una separación mediante métodos cromatográficos.

Finalmente, la cuantificación de la presencia de aflatoxinas en la muestra se realiza en base a la fluorescencia que presentan.

En los últimos tiempos se ha hecho muy popular el empleo de la técnica Espectroscopia de Masas para su identificación.

Extracción:

En la extracción se va a emplear acetona, cloroformo, metanol o una mezcla de ellos. El empleo de pequeñas cantidades de agua eleva la eficiencia de la extracción.

Limpieza:

El uso de métodos basados en extracción en fase sólida (SPE, sus siglas en inglés) y columnas de inmunoafinidad (IAC, sus siglas en inglés) está bastante extendido para su empleo en el análisis de aflatoxinas. También es bastante frecuente recurrir al empleo de columnas *Mycosep*, que permiten eliminar eficazmente los restos procedentes del producto que se está analizando (matriz) y obtener un extracto purificado en un corto periodo de tiempo. En ocasiones también se emplean columnas de sílice para realizar la limpieza del extracto.

Métodos rápidos:

Hay disponibles comercialmente un elevado número de pruebas, basadas en la afinidad de anticuerpos específicos por estas toxinas, que permiten identificar y cuantificar aflatoxinas en alimentos en un corto periodo de tiempo.

Hay tres tipos de **métodos inmunoquímicos disponibles**: radio inmunoensayo (RAI, sus siglas en inglés), análisis inmunoenzimáticos (ELISA) y columnas de inmunoafinidad (IAC, sus siglas en inglés).

Por otro lado, la cromatografía en capa fina (TLC, sus siglas en inglés) es una técnica fácil de usar para la identificación y cuantificación de las aflatoxinas en concentraciones muy bajas de en torno a nanogramos/gramo.

Otra técnica es la que consiste en realizar una TLC en dos pasos para la separación. El primero de ellos empleando una mezcla de éter/metanol/agua; mientras que el segundo emplea una mezcla de cloroformo/acetona tras la extracción y limpieza.

Ocratoxina A

Se han desarrollado métodos validados para el análisis de Ocratoxina A en maíz, cebada, centeno, trigo, salvado de trigo,... todos ellos basados en la técnica de Cromatografía líquida

de alta resolución, empleando para la detección fluorescencia (HPLC-FLD). El límite de cuantificación es de aproximadamente 0,3-0,6 µg/kg.

Para llevar a cabo un análisis para la detección de OTA es necesario realizar una serie de procesos previos que consisten en: extracción, limpieza del extracto, separación, detección y cuantificación.

Extracción:

La extracción por lo general se realiza con una mezcla de solventes orgánicos y agua, en función del tipo de producto a analizar.

Para la determinación de OTA en trigo se pueden emplear distintas combinaciones de solventes para la extracción, como por ejemplo, mezclas de tolueno / ácido clorhídrico / cloruro de magnesio; cloroformo / etanol / ácido acético o diclorometano / ácido fosfórico. Si bien, actualmente se evita emplear solventes con cloro, debido a los peligros ambientales que conllevan. Otros solventes no clorados para la extracción de OTA en muestras de trigo son metanol / agua y acetonitrilo / agua.

Limpieza:

Para la limpieza del extracto se emplean normalmente columnas de inmovinoafinidad (IAC). El extracto se hace pasar a través de la columna y la OTA presente queda unida a los anticuerpos. Posteriormente se emplea un solvente adecuado (por ej., acetonitrilo) para eluir el analito. Normalmente, se trata de reacciones inmunológicas específicas para OTA, aunque también hay disponibles columnas comerciales para la determinación simultánea de OTA y zearalenona (ZEA).

También se puede realizar la limpieza empleando cartuchos de gel de sílice. Después de la carga de la columna y de una fase de lavado, la elución se realiza con una mezcla de tolueno / acetona / ácido fórmico. En trigo, se emplean mezclas de tolueno y ácido acético para la elución de columnas de sílice y metanol para columnas ICA.

Separación y detección:

Tras la limpieza del extracto, la separación y detección de OTA se lleva a cabo con **HPLC-FLD**. La cuantificación se lleva a cabo en un rango de µg/kg.

Otra técnica que también se puede utilizar es la **Cromatografía en capa fina y detección mediante Espectroscopia de Masas** (LC-MS) para la identificación y cuantificación de OTA.

También se puede emplear **Cromatografía en capa fina** (TLC) y análisis **ELISA**. Ambas técnicas son fáciles de usar y los análisis ELISA en particular, se emplea habitualmente para la control rápido de muestras.

DON

Se han desarrollado métodos validados para el análisis de dioxinivalenol en cereales y productos alimenticios.

Test de evaluación:

Los métodos usados habitualmente se han basado en la **Cromatografía en capa fina** (TLC). Pero con la introducción de la técnica TLC de alta resolución (HPTLC) e instrumentos de exploración, la eficacia en la separación y la precisión han aumentado. Se necesita utilizar determinados reactivos (como por ej.: ácido sulfúrico o el para-anisaldehído) para visualizar la única longitud de onda corta que absorbe el DON. Los límites de detección de DON mediante TLC se sitúan entre los 20-300 ng/g.

Además de las técnicas TLC, más recientemente se han desarrollado análisis ELISA para fines de control rápido. En matrices poco complejas, como los cereales puros, estos análisis pueden ser usados para la cuantificación de DON. En estos casos, el proceso de limpieza del extracto, de existir, es mínimo. La cuantificación exacta de DON mediante ensayos ELISA es a menudo limitada, debido a las reacciones cruzadas que se producen.

Extracción:

La extracción de DON se realiza normalmente por mezclado y/o agitación de la muestra empleando como solvente acetonitrilo/agua. También se pueden emplear otros solventes, como cloroformo/metanol.

Limpieza:

Por lo general, cuando se emplean inmunoensayos no se requiere limpieza, mientras que cuando se emplean métodos fisicoquímicos son necesario procedimientos de limpieza.

Varios son los procedimientos de limpieza que pueden ser utilizados: la división líquido-líquido, la extracción en fase sólida (SPE), la cromatografía en columna, columnas IAC y columnas de limpieza multifuncionales.

La columna cromatográfica que se emplea con mayor frecuencia es aquella que utiliza una mezcla de carbón vegetal / alumina / celite. Una alternativa a las columnas convencionales son las modernas columnas de SPE.

El uso de columnas de inmunoafinidad (IAC) para la purificación se emplea de forma exitosa para varios tipos de micotoxinas. Un nuevo método HPLC que emplea tanto columnas de carbón vegetal / alumina / celite como IAC comerciales dio recuperaciones razonables y una sensibilidad LOQ de 50ng/g.

Otro método que se emplea son las columnas *MycoSep Multifuncional Ô*. Permiten una purificación rápida de la muestra y no requieren fases de aclarado.

Técnicas de separación y detección:

La Cromatografía de gases (GC) con **espectrometría de masas** (MS), o mediante un tandem de espectrometría de masas (MS/MS) tras derivatización. El reactivo que se empleará para la derivatización dependerá del tipo de tricoteceno y del método de detección.

Se han publicado varios métodos HPLC para la determinación de DON en alimentos y cereales. La separación por lo general se alcanza utilizando una columna de C18 con fase invertida utilizando como fase móvil una mezcla metanol/agua. Por otro lado, el uso de

acetonitrilo en lugar de metanol en mezclas acuosas parece ser mejor opción. En cualquier caso, la fase de limpieza para la posterior determinación de DON suele llevar mucho tiempo cuando se trata de matrices complejas (alimentos y piensos).

Se han obtenido resultados analíticos comparables empleando métodos GC, métodos HPLC y derivatización pre-postcolumnas. También se ha estudiado la detección electroquímica para la determinación de DON.

Los límites de detección típicos para DON en cereales se sitúan en torno a los 100-1600 ng/g (HPLC-UV), 6-40 ng/g (HPLC-SRA.), 20 ng/g (HPLC-FLD), 20-50 ng/g (GC-ECD) y bajo aproximadamente 5 ng/g (GC-SRA. con HFB y derivados PFP).

Fumonisinas

Las Fumonisinas aparecen principalmente en el maíz y en productos elaborados a base de maíz. El desarrollo de métodos analíticos se ha concentrado en la detección de Fumonisinas, principalmente FB1 y FB2, aunque es necesario también encontrar métodos válidos para la detección de FB3. Poco se conoce sobre las FB4 y su presencia natural. Los principales productores son especies del género *Fusarium spp.*

Los niveles de fumonisinas en los alimentos se encuentran en un rango muy amplio, que va desde los 30 µg/kg a un nivel de varios mg/kg. Por lo que los métodos de análisis deben cubrir una gama muy amplia de detección.

Los procedimientos analíticos se diferencian en la extracción, limpieza y detección. La elección depende del equipo disponible y de las exigencias analíticas: sensibilidad y el tiempo requerido para el análisis. Los métodos empleados son: **cromatografía en capa fina** (TLC), **cromatografía líquida** (LC), **cromatografía de gases** (GC) y **métodos immunoquímicos**. De estos, TLC es el más simple, pero depende de los procesos de extracción y limpieza obtener una buena exactitud y precisión de los datos obtenidos.

Pruebas de selección:

TLC y los métodos immunoquímicos como ELISA están entre los métodos de selección más frecuentes. Hay equipos ELISA disponibles comercialmente. Además se han desarrollado pruebas de varilla de aceite que tienen un límite de detección de FB1 tan bajo como 0.04-0.06 µg/g en productos de grano.

Métodos cuantitativos:

Una amplia gama de métodos puede ser empleada, pero todos requieren una cierta experiencia en el campo de la química analítica y es necesario el empleo de cantidades considerables de reactivo.

Extracción y limpieza:

La limpieza no es necesaria en los métodos de inmunoafinidad; es necesaria una limpieza exhaustiva después de emplear métodos físico-químicos.

Entre las mezclas de solventes usadas habitualmente para la extracción tenemos: metanol/agua (3:1) y acetonitrilo/agua (1:1). Las mezclas pueden ser usadas con cartuchos de fase invertidos (C18) o columnas de cambio de anión fuertes (SAX).

Más recientemente, se emplean columnas IAC, debido a su alta selectividad. El problema que presenta es que durante el lavado la toxina puede desaparecer por elución. Los cartuchos de fase invertidos (C18) son útiles para la determinación de productos de hidrólisis, y también pueden emplearse cuando las columnas SAX dan recuperaciones pobres.

Para permitir la extracción cuantitativa y la limpieza de otros complejos que no provengan del maíz, se han propuesto mezclas de diferentes solventes: metanol/boro (3:1, pH 9.2), acetonitrilo/metanol/agua (1:1:2) y M de metanol/0.1 HCl (3:1).

Técnicas de separación y detección:

La fase invertida de HPLC es la técnica más empleada para la detección de fumonisinas, debido a su carácter polar. También se ha adoptado como método el Método Oficial Acción Final AOAC (995.15) para la determinación de FB1, FB2 y FB3 en el maíz.

Zearalenona

Los niveles de ZEA en los alimentos se encuentra en un rango que oscila entre los 600 y los 1200 µg /kg, por lo que los métodos de análisis se centran en magnitudes de µg/kg.

Los procedimientos analíticos se diferencian en la extracción, limpieza y pasos para su determinación. La elección depende del equipo disponible y de las exigencias analíticas: sensibilidad y el tiempo requerido para el análisis. Hay que tener en cuenta, que la ZEA es muy sensible a la exposición a la luz, por lo que a la hora de realizar su análisis en el laboratorio, hay que intentar evitar su degradación.

Métodos inmunoquímicos:

Se han desarrollado numerosos métodos inmunoquímicos para la detección de ZEA en cereales, leche y bebidas biológicas. Esto incluye radioinmunoensayos e inmunocromatografías.

Comercialmente hay disponibles dos equipos de prueba. Uno de ellos tiene un LOD de 50 µg/kg y tarda 15 minutos en realizarse. El otro, tiene un LOD de 250 µg/kg, se encuentra por encima de las directrices establecidas por la mayoría de los países europeos.

Ambos equipos de prueba muestran reactividades cruzadas con los derivados ZEA α-ZEA y la β-ZEA. Presentan como ventajas: una buena exactitud, tiempo de análisis rápido y facilidad para ser usados en cualquier laboratorio analítico. Un método ELISA para la determinación de ZEA en el maíz ha sido establecido como Método Primera Acción AOAC.

Métodos cuantitativos:

Los métodos que se emplean incluyen la extracción y limpieza antes de la determinación del analito. Se pueden emplear varios métodos, pero todos ellos requieren experiencia en el campo de la química analítica y cantidades considerables de reactivo.

Extracción:

Los solventes usados para la extracción inicial son por lo general una mezcla de varios líquidos orgánicos: acetato de etilo, metanol, acetonitrilo y cloroformo. El empleo de solventes tratados con cloro tiende a no emplearse, y el acetonitrilo en particular, se ha hecho muy popular para su utilización en la extracción.

Limpieza:

La limpieza no es necesaria en los métodos de inmunoafinidad, pero es necesaria una limpieza exhaustiva después de emplear métodos físico-químicos.

Los procedimientos principales son la división de líquido/líquido, la extracción de fase sólida (SPE), columnas IACs y las columnas de limpieza multifuncionales.

La división de líquido/líquido implica el empleo de altas cantidades de solventes tratados con cloro, y hay que tener cuidado a la hora de usar el NaOH para evitar una posible hidrólisis de ZEA en condiciones alcalinas. Además, las recuperaciones de ZEA son inferiores comparadas con los métodos IAC.

El empleo de SPE requiere mucha experiencia para obtener resultados reproductivos y confiables

Las columnas IAC y las columnas de limpieza multifuncionales son fáciles de usar. Hay que tener cuidado ya que se ha investigado sobre la contaminación de muestras de ZEA cuando se emplean columnas IAC, además de la posible elución de toxinas tras el lavado. Tienen mayor recuperación que la división líquido/líquido estándar y, por lo general, son empleadas junto con el Cromatógrafo Líquido de Alto Rendimiento de Fase Invertida (RP-HPLC).

Además, el empleo de solventes tratados con cloro puede ser evitado. Dos productos de Columnas IAC están disponibles comercialmente y funcionan igualmente bien.

Otro método de limpieza, MycoSep, ha sido desarrollado recientemente. Esto permite a la purificación rápida de la muestra (30 segundos) y no requiere ningún paso para aclararla.

Técnica de separación y detección:

El método más empleado para la separación y detección son RP-HPLC después de realizar una limpieza con IACS. El límite de detección empleado en este método se encuentra en los 3-6 $\mu\text{g}/\text{kg}$

Otro método destacado es la detección directa de ZEA con un fluorimetría después de la limpieza con columnas IACs. Los métodos que usan TLC, GC y GC-SRA. tienen una importancia menor. El empleo de métodos TLC tiene menor sensibilidad aunque sean más fáciles de aplicar.

Actualmente, se está estudiando el empleo conjunto de columnas IAC y sistemas HPLC-FLD así como el empleo continuado de LC-SRA. Se trata de sistemas para la

identificación y cuantificación y es el método más importante hoy para la detección simultánea de ZEA, α -ZEA y β -ZEA.

Toxinas T2 y HT-2

La solubilidad de ambas toxinas es buena en la mayoría de solventes orgánicos incluyendo metanol, etanol, acetona, cloroformo, dietileter y acetonitrilo, pero pobre en agua.

Al igual que otros tricotecenos, son bastante estables en acetonitrilo y en atmósfera de argón por al menos 24 meses, almacenadas a temperaturas de hasta 25°C. En solución acuosa, ambas toxinas son estables dentro de un rango de pH fisiológico durante años.

Los métodos para el análisis y cuantificación de las toxinas T-2 y HT-2 en cereales, alimentos y piensos están basados principalmente en **cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas, normalmente con un enfoque multianalito.**

Las técnicas para la extracción de las toxinas T-2 y HT-2 de las muestras de alimentos y piensos, incluyendo cereales y productos a base de cereales, mayoritariamente su utilizan mezclas de solventes orgánicos con agua, como por ejemplo, metanol/agua y acetonitrilo/agua. El extracto resultante debe ser sometido a un proceso de limpieza para eliminar impurezas o elementos que podrían interferir en la posterior cuantificación, y también es concentrado para hacer posible la determinación de las toxinas que pudieran estar presentes en la muestra en muy pequeña cantidad.

En los procesos de limpieza del extracto normalmente se utilizan varios tipos de columnas de extracción en fase sólida, columnas multifuncionales, columnas basadas en inmovilización...

Para el monitoreo y el control de rutina existen actualmente disponibles diversos métodos analíticos inmunoquímicos, si bien, estos métodos rápidos podrían registrar reacciones cruzadas no deseadas.

Dentro de este tipo de métodos inmunoquímicos destacan los basados en la técnica ELISA (siglas en inglés de "enzyme-linked immunosorbent assays"), aparatos de flujo lateral, tiras reactivas y más recientemente ensayos basados en biosensores.

El elemento fundamental en cualquier tipo de inmunoensayo es especificidad del anticuerpo usado.

Los más usados para la detección y cuantificación de las toxinas T-2 y HT-2 son los basados en la técnica ELISA competitiva, donde la toxina presente en la muestra objeto de análisis compete con la toxina ligada al enzima por su fijación al anticuerpo.

Un factor limitante de este tipo de técnica es el hecho de que toxinas relacionadas estructuralmente (similar estructura química) pueden dar reacciones cruzadas lo que al final puede suponer una sobreestimación del contenido real en toxinas. En el caso de las toxinas T-2 y HT-2 este hecho permite su determinación conjunta son un solo anticuerpo que presenta afinidad a ambas.

Las ventajas de los análisis tipo ELISA es que son rápidos y relativamente baratos, pero sus medidas presentan mayor incertidumbre y normalmente tiene menores límites de determinación que los métodos cromatográficos.

Cornezuelo de centeno

La detección de esclerocios del cornezuelo de centeno en los granos de cereal se puede hacer mediante inspección visual, por técnicas de imagen hiperespectral en el infrarrojo cercano o por determinación del ácido ricinoleico por cromatografía de gases con detección por ionización de llama (GC-FID).

En la actualidad, sólo la cromatografía líquida de alta resolución con detección por fluorescencia (HPLC-FLD) y la cromatografía líquida de alta resolución con espectrometría de masas (HPLC-MS / MS) permiten la determinación individualizada de los alcaloides del cornezuelo de centeno en alimentos y piensos en los niveles pertinentes.

Un método basado en HPLC-FLD para la determinación de los alcaloides de cornezuelo de centeno relevantes en grano y en harina ha sido internacionalmente validado. Como las formas epiméricas de los alcaloides pueden interconvertirse, los métodos analíticos deberían posibilitar la determinación de ambas formas epiméricas.

Tests y métodos rápidos para el análisis de micotoxinas:

Las técnicas empleadas para el análisis de micotoxinas que se emplean están basadas en la producción de anticuerpos contra la toxina. Se dividen de forma general en: análisis basados en columnas de inmunoafinidad y ELISAs.

Los **análisis basados en columnas inmunoafinidad** tienen una elevada eficacia en la limpieza del complejo formado, y permiten el aislamiento y concentración de la toxina especificada. A continuación se cuantifica la toxina usando técnicas analíticas como HPLC, TLC y espectroscopia de masas.

Los **análisis ELISAs** no tienen un procedimiento de limpieza tan intensivo, por lo que no es necesario el empleo de técnicas analíticas que requieran una elevada eficacia del proceso de limpieza. Posteriormente una muestra homogénea se emplea para cuantificar el contenido en toxina de la misma.

Mientras que empleando los análisis de columna de inmunoafinidad, únicamente podemos determinar la presencia o ausencia de micotoxinas en las muestras, empleando ELISAs, podemos cuantificar el contenido en toxinas presente en las muestras.

Otras técnicas que se emplean, aún en fase de investigación, se basan en el uso de biosensores ópticos y acústicos y en el empleo de la electroforesis capilar.

Hay numerosos equipos tipo test que no requieren un equipo caro ni personal entrenado. Resultan rápidos, eficaces y simples, sin suponer un coste elevado por prueba.

Las **ventajas** que presentan el empleo de estos equipos son:

- Sensibilidad: la mayor parte de equipos dan resultados en el margen requerido según la legislación de la CE, o directrices nacionales o internacionales.
- Resultados rápidos: confirman la presencia o ausencia de toxina.

- Coste: no requieren de equipos caros.
- Personal: no requieren de personal entrenado.
- Materiales: no se emplean grandes cantidades de solventes, ni reactivos caros, ni es necesario cumplir ningún tipo de norma sobre el empleo de materiales tóxicos.

Del mismo modo presentan una serie de **desventajas** frente a las pruebas realizadas en laboratorio y por personal especializado:

- Precisión: no es tan elevada como los métodos empleados en laboratorio.
- Posibilidad de resultados erróneos.
- Es necesario invertir en algún aparato sencillo de laboratorio (por ej., preparación de la muestra)
- Se recomienda usar condiciones de laboratorio para utilizar los equipos de prueba.

Para el empleo de estos equipos es necesario seguir **las recomendaciones dadas por el fabricante**. Hay que tener cuidado especialmente en **materia de almacenaje** de estos equipos y en la **vida útil** que tienen los mismos.

Por otro lado, hay que tener en cuenta la **heterogeneidad de la contaminación con micotoxinas** (puede darse el caso de que en un mismo lote existan granos con alto grado de contaminación y granos no contaminados). Por lo que resulta de vital importancia a la hora de utilizar un equipo tipo test, **trabajar con una muestra representativa** del producto analizado

Es necesario, generalmente, **contar con un equipo básico de laboratorio** compuesto por: molinillos, homogeneizadores para productos líquidos o semilíquidos, balanzas analíticas, reactivos de una determinada pureza, mezcladores, equipo de filtración, bomba de vacío. En algunos casos, es necesario el empleo de un equipo más especializado como es: pipetas, horno de laboratorio, instrumentos para medir cuantitativamente la presencia de micotoxinas (fuentes de radiación ultravioleta, densiómetros, espectrofotómetros, fluorómetros,...)

Hay equipos internacionales trabajando en el terreno de la evaluación, certificación y/o estandarización de métodos analíticos. En los últimos años, éstos también están trabajando sobre los métodos analíticos rápidos.

Equipos de Test y Métodos Rápidos que se encuentran disponibles:

Métodos rápidos empleando TLC: para el empleo de estos métodos es necesario un pequeño entrenamiento. Sin embargo, para la obtención de resultados no se requiere la adquisición de ningún equipo caro, porque se observa con luz de UV de manera sencilla la presencia de micotoxinas sobre TLC. En este caso, sí que es necesario el empleo de reactivos y solventes tóxicos.

Equipos de Test basados en columnas de inmunoafinidad además de usarse como instrumento para análisis HPLC o técnicas GC, las columnas de inmunoafinidad pueden usarse como base de una prueba semicuantitativa. Se emplean para aislar y concentrar el analito de una toxina. Comercialmente, con las columnas inmunoafinidad disponibles se puede determinar aflatoxinas, ocratoxina A, dioxinivalenol, la toxina T-2, fumisininas B1 y B2 y zearelonona.

Únicamente se pueden emplear en una ocasión, y suelen ser columnas específicas para analizar un único tipo de toxina.

ELISAs: se emplean para detectar la presencia de una toxina en la muestra de prueba por encima de un cierto nivel, con la ventaja que los procedimientos de limpieza no son tan intensivos como para otras técnicas analíticas.

Los resultados cuantitativos son obtenidos leyendo el color por fluorimetría o fotométricamente, y los resultados semicuantitativos pueden ser obtenidos determinando la concentración por comparación visual - el cambio en color de reacción es inversamente proporcional a la concentración de toxina -.

Otras técnicas: radioinmunoensayos, la prueba de tira de flujo lateral y columnas SPE.

La mayoría de los equipos de test y métodos rápidos necesitan el **uso de estándares** para el análisis de micotoxinas (especialmente los análisis cuantitativos). La exactitud del **procedimiento de calibración** es importante, debido a las pequeñas cantidades suministradas y requeridas, así como la toxicidad del compuesto. Normalmente, los fabricantes suministran los estándares y las normas de calibración de tal forma que su uso sea fácil (por ej., únicamente realizar una dilución).

Este tipo de test rápidos son muy útiles como métodos de cribado.

El resultado del cribado se expresará como "conforme" o como "sospechoso" de no conformidad.

"Sospechoso" significa que la muestra supera el valor de corte y puede contener micotoxinas a un nivel más elevado que en la CCS.

Cualquier resultado sospechoso debería activar un análisis de confirmación para identificar y cuantificar de forma inequívoca las micotoxinas.

"Conforme" significa que el contenido de micotoxinas en la muestra es inferior a la CCS con una certeza del 95 % (es decir, hay un 5 % de probabilidades de que las muestras se califiquen incorrectamente como negativas).

El resultado del análisis se comunicará como "< nivel de CCS" en el nivel de CCS especificado.

"Concentración para cribado selectivo (CCS)": la concentración de interés para detectar la micotoxina en una muestra. Cuando el objetivo es comprobar que se cumplen los límites reglamentarios, la CCS equivale al nivel máximo aplicable. Para otros fines, o en caso de que no se haya establecido un nivel máximo, la CCS se fija de antemano por el laboratorio.

Normalmente, este tipo de test se comercializan en forma de "kit" e incluyen todo lo necesario para realizar la determinación (reactivos listos para usar), tanto la extracción de la micotoxina como la propia medición. Los hay en forma de pocillo, tiras reactivas, tarjetas...Y los hay que permiten la detección cualitativa, semicuantitativa o cuantitativa de las toxinas.

TABLA 1: RESUMEN MICOTOXINAS

| Micotoxina | Mohos | Alimentos afectados | Efectos sobre la salud | Propiedades Físico - Químicas |
|--|---|--|--|---|
| <p>Aflatoxinas (son un grupo de alrededor de 20 toxinas; B₁, B₂, G₁ y G₂ son las más importantes)</p> | <p>Distintas especies de <i>Aspergillus</i>: <i>A. flavus</i>, <i>A. parasiticus</i>, <i>A. nominus</i></p> | <p>Cereales, nueces, especias, frutos secos, higos</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ El hígado es el órgano diana. ▪ Potente efecto hepato-tóxico, pudiendo originar tanto efectos agudos como enfermedades crónicas. ▪ Potente efecto carcinógeno a nivel hepático. Los principales efectos en humanos incluyen cáncer de hígado, hepatitis, cirrosis, ictericia y otros daños hepáticos. ▪ Pueden actuar como mutágenos y afectan el sistema inmune. ▪ Potentes <u>genotóxicos</u>. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sustancias cristalinas, fácilmente solubles en solventes ligeramente polares: cloroformo, metanol y en agua (10-20mg/l) ▪ Presentan fluorescencia a luz UV. ▪ Sensibles a la hidrólisis alcalina. ▪ Muy estables en ausencia de luz, incluso a T^a superiores a 100°C. ▪ Resistentes a la degradación |
| <p>Ocratoxina A (OTA)</p> | <p><i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>,</p> | <p>Cereales, incluidos trigo y maíz. Legumbres. Granos de café. Frutos secos, especias y uvas.</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ El riñón es su órgano diana. ▪ Nefrotóxica ▪ Teratógena y efectos sobre la reproducción en algunas especies. ▪ Efectos sobre el sistema inmune. ▪ <u>Genotóxica</u> (mecanismo desconocido) | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Sustancia cristalina incolora. ▪ Presenta fluorescencia azulada a la luz UV. ▪ Moderadamente soluble en solventes orgánicos polares: cloroformo, metanol, acetoneitrilo y se disuelve libremente en solución acuosa diluida en bicarbonato sódico. ▪ Relativamente estable. |

| Micotoxina | Mohos | Alimentos afectados | Efectos sobre la salud | Propiedades Físico - Químicas |
|--|---|---|--|--|
| Deoxinivalenol (DON o vomitoxina) (Tricoteceno tipo B) | Principalmente distintas especies de <i>Fusarium</i> (ej. <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>) También pueden producirla otros géneros de mohos ej. <i>Trichoderma</i> , <i>Cephalosporium</i> | Cereales, incluidos trigo, cebada, avena, triticale, centeno, maíz, arroz, sorgo y trigo sarraceno. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Efectos agudos y subcrónicos en animales a diferentes niveles: alimentarios, circulatorios y necróticos. ▪ Se asocian efectos alimentarios similares en humanos. ▪ Puede tener efectos sobre el sistema inmune. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Soluble en agua y en disolventes polares, como metanol y acetonitrilo. ▪ Presenta cierta absorbancia de luz UV. ▪ Químicamente muy estable (gran estabilidad térmica). |
| Nivalenol (NIV) (Tricoteceno tipo B) | Los mismos que el DON. | Los mismos que para DON. | Mismos efectos que DON. | |
| Toxina T-2 /HT-2 (Tricoteceno tipo A) | Los mismos que el DON. Algunas especies productoras de Tricotecenos tipo A son <i>F. poae</i> , <i>F. equiseti</i> , <i>F. sporotrichioides</i> y <i>F. langsethii</i> También pueden producirla otros géneros de mohos ej. <i>Trichoderma</i> , <i>Cephalosporium</i> , etc | Diversos granos como el trigo, maíz, avena, cebada, arroz, judías y habas de soja así como sus productos derivados. El más afectado parece ser la avena y sus productos derivados. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ La toxina T-2 inhibe la síntesis de proteínas, de ARN y de ADN, amén de otros mecanismos bioquímicos que pueden afectar a la integridad de las membranas celulares. ▪ El sistema inmunitario es el más afectado por la acción de estas toxinas. ▪ Responsables del síndrome conocido como Aleuquia Tóxica Alimentaria (ATA) por consumo de cereal muy contaminado. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ La toxina T-2 se metaboliza muy rápidamente a un elevado número de metabolitos secundarios, siendo la HT-2 el principal. ▪ La solubilidad de ambas toxinas es buena en la mayoría de solventes orgánicos incluyendo metanol, etanol, acetona, cloroformo, dietileter y acetonitrilo, pero pobre en agua. ▪ En solución acuosa, ambas toxinas son estables dentro de un rango de pH fisiológico durante años. |

| Micotoxina | Mohos | Alimentos afectados | Efectos sobre la salud | Propiedades Físico - Químicas |
|--|---|--|---|---|
| Zearalenona (ZEA) | <i>Distintas especies Fusarium</i> (ej. <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>) | En la mayoría de los cereales, incluidos trigo y maíz. También se puede encontrar en piensos para animales. Frecuentemente asociada con DON. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Efectos estrogénicos. ▪ Efectos a nivel reproductivo en animales (hiperestrogénica), incluyendo esterilidad (en ovejas), abortos, muertes en neonatos, reducción de tamaño y peso al nacer (cerdos). ▪ Se necesitan más investigaciones en relación con su toxicidad en humanos – su genotoxicidad en humanos no está clara; pudiera estar relacionada con la aparición de cáncer de útero. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Compuesto blanco cristalino. ▪ Presente fluorescencia azul – verdosa a la luz UV (360nm); fluorescencia verdosa más intensa a 260nm. ▪ Soluble en agua a razón de 0,002g/100 ml. ▪ Ligeramente soluble en hexano y más soluble en benceno, acetonitrilo, metanol, etanol y acetona. ▪ También soluble en soluciones acuosas alcalinas. ▪ Se descompone parcialmente mediante el calor. |
| Fumonisinias (15 toxinas relacionadas, las más relevantes FB₁, FB₂, FB₃) | <i>Distintas especies de Fusarium</i> (ej. <i>F. proliferatum</i> , <i>F. verticilloides</i>) | Maíz y productos derivados (ej. Polenta, cereales de desayuno, snacks), arroz y sorgo. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Efectos citotóxicos (interfieren en la síntesis de lípidos de las neuronas). Estos efectos se han demostrado en caballos y cerdos. ▪ Pudieran estar relacionadas con algunos tipos de cáncer de esófago en humanos, pero no existen suficientes datos en la actualidad. ▪ Pudieran ser genotóxicas. | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Las mezclas de solventes usadas habitualmente para la extracción son metanol/agua (3:1) y acetonitrilo/agua (1:1). |

| Micotoxina | Mohos | Alimentos afectados | Efectos sobre la salud | Propiedades Físico - Químicas |
|--|---|---|--|--|
| <p>Alcaloides del Cornezuelo de centeno.</p> <p>- La forma visible del hongo es la que se conoce como esclerocio.</p> <p>- Los principales alcaloides producidos por <i>C.purpurea</i> son: Ergometrina, ergotamina, ergosina, ergocristina, ergocriptina, ergocornina, y los correspondientes epímeros ("-inina").</p> | <p><i>Distintas especies de los órdenes de los Hypocreales y Eurotiales.</i></p> <p><i>Las especies del género Claviceps pertenecen al orden Hypocreales.</i></p> | <p>Pueden infestar plantas de la familia de las gramíneas, tanto cereales como hierbas.</p> <p>El centeno es el cereal que más frecuentemente puede verse infectado. Es su huésped favorito.</p> <p>Presencia más frecuente en campos descuidados y regiones lluviosas.</p> | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Toxicidad oral aguda moderada. ▪ La exposición oral aguda subletal induce signos de neurotoxicidad, incluyendo inquietud, miosis, midriasis, debilidad muscular, temblor y rigidez. ▪ La administración repetida puede producir isquemia, especialmente en las extremidades. ▪ Efectos sobre el proceso reproductivo (prevención del embarazo interfiriendo con la implantación del embrión, embriotoxicidad e inhibición de la lactancia). | <ul style="list-style-type: none"> ▪ Desde el punto de vista bioquímico, los alcaloides del cornezuelo de centeno se clasifican como alcaloides derivados del triptófano. |

TABLA 2: CONTENIDOS MÁXIMOS DE AFLATOXINAS EN CEREALES Y DERIVADOS DESTINADOS A CONSUMO HUMANO

| Producto | Contenido máximo (µg/kg) AFLATOXINAS | Fecha de aplicación |
|--|---|---|
| Todos los cereales y todos los productos a base de cereales, incluidos los productos derivados de la transformación de cereales, a excepción de los productos alimenticios enumerados en los siguientes apartados. | B1 2,0 | 01.01.1999 (Reglamento 1525/98) |
| | B1+B2+G1+G2 4,0 | |
| Maíz y arroz destinado a ser sometido a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su uso como ingrediente en los productos alimenticios | B1 5,0 | Maíz: 02.01.2004 (Reglamento 2174/2003) |
| | B1+B2+G1+G2 10,0 | Arroz: 09.03.2010 (Reglamento 165/2010) |
| Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad | B1 0,10 | 01.11.2004 (Reglamento 683/2004) |
| Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes | B1 0,10 | 01.11.2004 (Reglamento 683/2004) |
| <i>Los límites máximos de aflatoxinas serán igualmente aplicables a los productos derivados de su transformación, siempre que no se hayan establecido límites máximos específicos al respecto.</i> | | |

TABLA 3: CONTENIDOS MÁXIMOS DE OCRATOXINA A EN CEREALES Y DERIVADOS DESTINADOS A CONSUMO HUMANO

| Producto | Contenido máximo (µg/kg) OCRATOXINA A | Fecha de aplicación |
|---|--|----------------------------------|
| Cereales no elaborados | 5,0 | 05.04.2002 (Reglamento 472/2002) |
| Todos los productos derivados de los cereales no elaborados, incluidos los productos transformados a base de cereales y los cereales destinados al consumo humano directo, a excepción de los siguientes. | 3,0 | 05.04.2002 (Reglamento 472/2002) |
| Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad | 0,50 | 01.11.2004 (Reglamento 683/2004) |
| Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes | 0,50 | 01.11.2004 (Reglamento 683/2004) |
| Gluten de trigo no destinado a la venta directa al consumidor | 8,0 | 26.07.2012 (Reglamento 594/2012) |

TABLA 4: CONTENIDOS MÁXIMOS DE TOXINAS FUSARIUM EN CEREALES Y DERIVADOS DESTINADOS A CONSUMO HUMANO

| Producto | Contenido máximo (µg/kg) DON | Fecha de aplicación |
|--|---------------------------------|-----------------------------------|
| Cereales no elaborados que no sean trigo duro, avena y maíz | 1.250 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Trigo duro y avena no elaborados | 1.750 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Maíz no elaborado, excepto el destinado a molienda por vía húmeda* | 1.750 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Cereales destinados al consumo humano directo, harina de cereales**, salvado y germen como producto final comercializado para el consumo humano directo, excepto fracciones de la molienda de maíz | 750 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Pasta (seca) | 750 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Pan (incluidos pequeños productos de panadería) pasteles, galletas, aperitivos de cereales y cereales para desayuno | 500 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad | 200 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 µm, (códigos NC 1103 13 u 1103 20 40) , y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 µm, no destinados al consumo humano directo, (código NC 1904 10 10) | 750 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 µm, (código NC 1102 20), y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 µm, no destinados al consumo humano directo, (código NC 1904 10 10) | 1.250 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |

| Producto | Contenido máximo (µg/kg) ZEA | Fecha de aplicación |
|---|---------------------------------|-----------------------------------|
| Cereales no elaborados distintos al maíz | 100 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Maíz no elaborado, excepto el destinado a molienda por vía húmeda* | 350 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Cereales destinados al consumo humano directo, harina de cereales**, salvado y germen como producto final comercializado para el consumo humano directo, excepto productos a base de maíz y fracciones de la molienda de maíz | 75 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |

| | | |
|--|-----|-----------------------------------|
| Aceite de maíz refinado | 400 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Pan (incluidos pequeños productos de panadería) pasteles, galletas, aperitivos de cereales y cereales para desayuno, excluidos los elaborados a base de maíz. | 50 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Maíz destinado al consumo humano directo, aperitivos de maíz y cereales para el desayuno a base de maíz | 100 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Alimentos elaborados a base de cereales (excluidos los elaborados a base de maíz) y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad | 20 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Alimentos elaborados a base de maíz para lactantes y niños de corta edad | 20 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 µm, (códigos NC 1103 13 u 1103 20 40) , y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 µm, no destinados al consumo humano directo, (código NC 1904 10 10) | 200 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 µm, (código NC 1102 20), y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 µm, no destinados al consumo humano directo, (código NC 1904 10 10) | 300 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |

| Producto | Contenido máximo (µg/kg) Fumonisinias FB1+FB2 | Fecha de aplicación |
|--|--|-----------------------------------|
| Maíz no elaborado, excepto el destinado a molienda por vía húmeda*. | 4.000 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Maíz y alimentos a base de maíz destinados al consumo humano directo, a excepción de los que se citan en los siguientes apartados. | 1.000 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Cereales para el desayuno a base de maíz y aperitivos de maíz | 800 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Alimentos elaborados a base de maíz y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad. | 200 | 01.07.2006 (Reglamento 856/2005) |
| Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 µm, (códigos NC 1103 13 u 1103 20 40) , y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 µm, no destinados al consumo humano directo, (código NC 1904 10 10) | 1.400 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |
| Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 µm, (código NC 1102 20), y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula ≤ 500 µm, no destinados al consumo humano | 2.000 | 01.10.2007 (Reglamento 1126/2007) |

| | | |
|---------------------------------|--|--|
| directo, (código NC 1904 10 10) | | |
|---------------------------------|--|--|

* La excepción se aplica únicamente al maíz del que es evidente, por ejemplo por su etiquetado o destino, que está únicamente destinado a su molienda por vía húmeda (producción de almidón).

** En esta categoría se incluyen también productos similares con otras denominaciones, como la **sémola**.

TABLA 5: CONTANIDOS MÁXIMOS DE CORNEZUELO DE CENTENO EN CEREALES Y DERIVADOS DESTINADOS A CONSUMO HUMANO.

| Producto | Esclerocio de cornezuelo (mg/kg) | Fecha de aplicación |
|--|----------------------------------|-----------------------------------|
| Cereales no elaborados, con excepción del maíz y el arroz | 500 | 18.11.2015 (Reglamento 2015/1940) |
| Producto | Alcaloides ergóticos** | |
| Cereales no elaborados, con excepción del maíz y el arroz | -(***) | |
| Harina de cereales, excepto la harina de maíz y arroz | -(***) | |
| Pan (incluyendo panecillos), pasteles, galletas, aperitivos de cereales y cereales para desayuno y pasta | -(***) | |
| Alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad y alimentos infantiles | -(***) | |

(**) Suma de 12 alcaloides: ergocristina/ergocristinina, ergotamina/ergotaminina, ergosina/ergosinina, ergocriptina/ergocriptinina, ergometrina/ergometrinina, ergocornina / ergocorninina

(***) Antes del 1 de julio de 2017 se establecerán contenidos máximos adecuados y alcanzables, que proporcionen un nivel elevado de protección de la salud humana, para estas categorías de alimentos.

Notas aclaratorias comunes a todas las tablas:

- Los contenidos máximos en micotoxinas en la normativa europea sobre contaminantes en alimentos **se expresan en µg/kg**, o lo que es lo mismo, en **ppb (partes por billón)**. Esto no quiere decir que no se puedan expresar en otras unidades, como por ejemplo, en mg/kg o ppm (partes por millón). De hecho, en los Estados Unidos, es más frecuente la utilización de ppm para referirse a los contenidos en DON de sus trigos. Así, un trigo HRS americano con un contenido en DON de 2 ppm, no sería apto para consumo humano conforme a la normativa europea, ya que 2 ppm es lo mismo que 2.000 ppb (supera el límite máximo de 1.250 ppb). **1 mg = 1.000 µg ; 1 mg/kg (ppm) = 1.000 µg/kg (ppb)**
- Alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales** según las definiciones contenidas en el Reglamento (UE) n ° 609/2013 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de junio de 2013 , relativo a los alimentos destinados a los lactantes y niños de corta edad, los alimentos para usos médicos especiales y los sustitutivos de la dieta completa para el control de peso y por el

que se derogan la Directiva 92/52/CEE del Consejo, las Directivas 96/8/CE, 1999/21/CE, 2006/125/CE y 2006/141/CE de la Comisión, la Directiva 2009/39/CE del Parlamento Europeo y del Consejo y los Reglamentos (CE) n ° 41/2009 y (CE) n ° 953/2009 de la Comisión (DO L 181 de 29.6.2013, p. 33).

- El **contenido máximo hace referencia a la materia seca**, que se determina de conformidad con lo establecido en el Reglamento (CE) nº 401/2006. El contenido máximo para los alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes se refiere:
 - en el caso de la leche y los productos lácteos, a los productos listos para el consumo (comercializados como tales o reconstituidos de acuerdo con las instrucciones del fabricante);
 - en el caso de productos distintos de la leche y los productos lácteos, a la materia seca. La materia seca se determina de conformidad con lo establecido en el Reglamento (CE) nº 401/2006.
- A los efectos de la aplicación de los **contenidos máximos de deoxinivalenol, zearalenona** establecidos, el arroz no se incluye en los «cereales» y los productos a base de arroz no se incluyen en los «productos a base de cereales».
- A los efectos de la aplicación de los **contenidos máximos de OTA, DON, ZEA, Fumonisinias, y esclerocios de cornezuelo establecidos**, el contenido máximo se aplica a los **cereales no elaborados comercializados para una primera fase de transformación**.
- Por “**primera fase de transformación**” se entiende cualquier tratamiento físico o térmico, distinto del secado, al que se somete el grano o su superficie. Los procedimientos de limpieza, incluido el descascarillado, de selección y de secado no se consideran “primera fase de transformación” si el grano entero permanece intacto tras la limpieza y la selección.
- El descascarillado consiste en limpiar los cereales cepillándolos y/o frotándolos con energía.
- En caso de que se aplique el descascarillado en presencia de esclerocios de cornezuelo, los cereales deben ser objeto de una primera fase de limpieza antes del descascarillado. El descascarillado, efectuado en combinación con un aspirador de polvo, va seguido de una selección por color antes de la molienda.
- Por **sistemas integrados de producción y transformación** se entienden los sistemas mediante los cuales todos los lotes de cereales que entran se limpian, seleccionan y transforman en el mismo establecimiento. En tales sistemas integrados de producción y transformación, el contenido máximo **se aplica a los cereales no elaborados tras la limpieza y la selección, pero antes de la primera fase de transformación**.
- Los explotadores de empresas alimentarias deben garantizar el cumplimiento a través de su sistema APPCC mediante el cual se establece y se lleva a cabo en este punto de control crítico un procedimiento eficaz de seguimiento.

TABLA 6: NIVELES INDICATIVOS TOXINAS T-2 Y HT-2 PARA LOS CEREALES Y LOS PRODUCTOS A BASE DE CEREALES (*) ()**

| Producto | Niveles indicativos para la suma de T-2 y HT-2 (µg/kg) a partir/por encima de los cuales deben realizarse investigaciones, sobre todo en caso de resultados repetidos (*) |
|---|---|
| Cereales no transformados(***) | |
| cebada (incluida la cebada cervecera) y maíz | 200 |
| avena (con cáscara) | 1.000 |
| trigo, centeno y otros cereales | 100 |
| Granos de cereales para consumo humano directo (****) | |
| avena | 200 |
| maíz | 100 |
| otros cereales | 50 |
| Productos a base de cereales para el consumo humano | |
| salvado de avena y copos de avena | 200 |
| salvado de cereales, excepto salvado de avena, productos de molienda de avena, excepto salvado de avena y copos de avena, y productos de la molienda del maíz | 100 |
| otros productos de la molienda de cereales | 50 |
| cereales para el desayuno, incluidos copos de cereales | 75 |
| pan (incluidos pequeños productos de panadería), pasteles, galletas, aperitivos de cereales y pasta | 25 |
| alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad | 15 |
| Productos a base de cereales en los piensos y los piensos compuestos (*****) | |
| productos de la molienda de avena (cáscaras) | 2.000 |
| otros productos a base de cereales | 500 |
| piensos compuestos, excepto los piensos para gatos | 250 |

(*) Los **niveles indicados** son niveles por encima de los cuales, sobre todo en el caso de resultados repetidos, deben llevarse a cabo investigaciones sobre los factores que conducen a la presencia de toxinas T-2 y HT-2 o sobre los efectos de la transformación de piensos y alimentos. Los niveles indicativos se basan en los datos sobre presencia disponibles en la base de datos de la EFSA, tal como se indica en el dictamen de la EFSA. Los niveles indicativos **no son los niveles de seguridad de los piensos y los alimentos**.

(**) El arroz no se incluye en los cereales y los productos a base de arroz no se incluyen en los productos a base de cereales.

(***) Los cereales no transformados son cereales que no han sido sometidos a ningún tratamiento físico o térmico distinto del secado, la limpieza y la selección.

(****) Los granos de cereales para consumo humano directo son granos que han sido sometidos a un proceso de secado, limpieza, descascarillado y selección, y a los cuales no se aplicará ningún otro proceso de limpieza ni de selección antes de su posterior transformación en la cadena alimentaria.

(*****) Los niveles indicativos para los cereales y los productos a base de cereales destinados a los piensos y los piensos compuestos se refieren a un pienso con un contenido de humedad del 12 %.

TABLA 7: CONTENIDOS MÁXIMOS DE MICOTOXINAS EN ALIMENTACIÓN ANIMAL.

| Producto | Contenido máximo (mg/kg) Aflatoxina B1 | Referencia normativa |
|---|---|--|
| <p>Materias primas para piensos</p> <p>Piensos complementarios y completos excepto:</p> <ul style="list-style-type: none"> — piensos compuestos para vacas lecheras y terneros, ovejas lecheras y corderos, cabras lecheras y cabritos, lechones y aves de corral jóvenes, — piensos compuestos para bovinos (excepto vacas lecheras y terneros), Ovinos (excepto ovejas lecheras y corderos), caprinos (excepto cabras lecheras y cabritos), porcinos (excepto lechones) y aves de corral (excepto animales jóvenes). | <p>0,02</p> <p>0,01</p> <p>0,005</p> <p>0,02</p> | <p>Directiva 2003/100/CE + Reglamento 574/2011</p> <p>Orden PRE/1422/2004</p> |
| Producto | Contenido máximo (mg/kg) Cornezuelo de centeno | Referencia normativa |
| <p>Materias primas para piensos y todos los piensos que contengan cereales sin moler</p> | <p>1.000</p> | <p>Directiva 2002/32/CE + Reglamento 574/2011</p> <p>Real Decreto 465/2003</p> |

VALORES ORIENTATIVOS DE MICOTOXINAS EN ALIMENTACIÓN ANIMAL

| Producto | OTA (mg/kg) | Referencia normativa Recomendación de la Comisión de 17 de agosto de 2006 (2006/576/CE) |
|--|-------------|--|
| Materias primas para piensos | | |
| - Cereales y productos a base de cereales | 0,25 | |
| Piensos complementarios y completos: | | |
| - Piensos complementarios y completos para cerdos | 0,05 | |
| - Piensos complementarios y completos para aves de corral | 0,1 | |
| Producto | DON (mg/kg) | |
| Materias primas para piensos | | |
| - Cereales y productos a base de cereales, con excepción de los subproductos del maíz | 8 | |
| - Subproductos del maíz | 12 | |
| Piensos complementarios y completos, con excepción de: | 5 | |
| - Piensos complementarios y completos para cerdos | 0,9 | |
| - Piensos complementarios y completos para terneros (menores de 4 meses), corderos y cabritos. | 2 | |
| Producto | ZEA (mg/kg) | |
| Materias primas para piensos | | |
| - Cereales y productos a base de cereales, con excepción de los subproductos del maíz | 2 | |
| - Subproductos del maíz | 3 | |
| Piensos complementarios y completos: | | |
| - Piensos complementarios y completos para lechones y cerdas nulíparas. | 0,1 | |
| - Piensos complementarios y completos para cerdas y cerdos de engorde. | 0,25 | |
| - Piensos complementarios y completos para terneros, ganado lechero, ovejas (incluidos los corderos) y cabras (incluidos los cabritos) | 0,5 | |

| Producto | Fumonisin (mg/kg) | |
|--|--------------------|--|
| Materias primas para piensos | | Recomendación de la Comisión de 17 de agosto de 2006 (2006/576/CE) |
| - Maíz y productos a base de maíz | 60 | |
| Pensos complementarios y completos: | | |
| - Cerdos, caballos (équidos), conejos y animales de compañía | 5 | |
| - Peces | 10 | |
| - Aves de corral, terneros (menores de 4 meses), corderos y cabritos | 20 | |
| - Rumiantes mayores de 4 meses y visones | 50 | |
| Producto | T-2 y HT-2 (mg/kg) | Referencia normativa |
| Pensos compuestos para gatos | 0,05 | Recomendación COM 2013/637/UE |

ANEXO 1: RECOMENDACIONES PARA PREVENIR LA CONTAMINACIÓN DE LOS CEREALES POR MICOTOXINAS.

1. ANTES DE LA SIEMBRA:

- 1.1 Considerar la posibilidad de **elaborar y mantener un plan de rotación de cultivos** para evitar que se plante el mismo cultivo en el mismo campo en dos años consecutivos.

Se ha comprobado que el trigo y el maíz son especialmente sensibles a las especies de *Fusarium* y, por lo tanto, no se debería efectuar la rotación entre ambos. Cultivos como las patatas, otras hortalizas, el trébol y la alfalfa, que no son huéspedes de especies de *Fusarium*, se deben utilizar en rotación para reducir el nivel de inóculo presente en el campo.

Los **sistemas de cultivo en los que el maíz forma parte de la rotación conllevan un alto riesgo**. También el trigo y otros cereales cultivados en estas rotaciones, o muy cerca de estos cultivos, requieren una gestión e inspección cuidadosas.

Cuando los cultivos de trigo siguen a los de un huésped de especies de *Fusarium* como el maíz u otros cereales, los niveles de DON son más altos, alcanzándose concentraciones especialmente elevadas de DON cuando el cultivo anterior había sido el maíz, pues este cereal es un huésped alternativo de *Fusarium graminearum*, conocido por ser un potente productor de DON. Sin embargo, los niveles de DON resultan considerablemente menores en cultivos de trigo subsiguientes al cultivo de un huésped de *Fusarium* cuando se aró la tierra, en comparación con los cultivos de trigo subsiguientes al cultivo de un huésped, pero con un labrado mínimo.

- 1.2 Siempre que resulte posible y práctico, **preparar el terreno para la siembra de cada nuevo cultivo** destruyendo, eliminando o arando por debajo de las espigas antiguas, los tallos y otros rastrojos que puedan servir o haber servido de sustrato para el desarrollo de hongos productores de micotoxinas.

La labranza de la tierra ayuda a reducir el inóculo de *Fusarium* para el cultivo siguiente. En zonas vulnerables a la erosión quizás sea necesario aplicar prácticas que excluyan la labranza, en aras de la conservación del suelo. En este último caso, debe prestarse especial atención a la gestión de los residuos de la cosecha que pudieran ser la fuente de contaminación del cultivo siguiente con hongos de *Fusarium*: estos residuos de la cosecha deben triturarse lo más finamente posible durante o tras la cosecha del cultivo precedente, e incorporarse al suelo para facilitar su descomposición (cubrición del suelo).

- 1.3 Utilizar los resultados de los **análisis del suelo** para **determinar si se requieren fertilizantes y/o acondicionadores del suelo** con objeto de garantizar que su pH, así como la nutrición de las plantas, sean adecuados para evitar condiciones adversas a las mismas, especialmente durante el desarrollo de las semillas.

- 1.4 Cultivar, siempre que sea posible, **variedades de semillas desarrolladas especialmente para resistir a los hongos que podrían infectarlas y a las plagas de insectos**.

En cada zona de un país sólo se deberían plantar las variedades de semillas recomendadas para esa zona concreta.

Deben elegirse los híbridos o las variedades más adecuados para las condiciones del suelo y climáticas y para las prácticas agronómicas habituales. Esto reducirá el estrés causado a las plantas, consiguiendo con ello que el cultivo sea menos sensible a la

micosis. En una determinada zona solo deberían plantarse aquellas variedades cuyo uso estuviera recomendado en esa zona en particular, o en el Estado miembro al que pertenece. Cuando se disponga de ellas, deben cultivarse variedades de semillas que hayan sido desarrolladas para resistir a la infección por hongos y a las plagas de insectos. La elección de la variedad en función de su tolerancia a la infección por *Fusarium* también ha de basarse en el riesgo de infección.

Una fuente a la que recurrir en busca de información precisa y práctica sobre la adaptación agronómica y la calidad de las nuevas variedades de cereales a las distintas áreas de cultivo de España es GENVCE, el Grupo para la Evaluación de Nuevas Variedades de Cultivos Extensivos en España). Es un grupo técnico de trabajo integrado por responsables de la realización de los ensayos de las diferentes redes de experimentación de variedades de las Comunidades Autónomas, de la Oficina Española de Variedades Vegetales (OEVV) y del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) y de empresas del sector privado. Para más información sobre las actividades del GENVCE y sobre los documentos que publican, <http://www.genvce.org>

1.5 Se recomienda **utilizar semillas tratadas higiénicamente**.

Los **tratamientos fungicidas de las semillas** son eficaces contra muchos organismos patógenos de plantas semilleras y muchas podredumbres de semillas que se transmiten por las semillas o por el suelo.

1.6 **Planificar el ciclo de cultivo de acuerdo a la meteorología propia del lugar.**

Siempre que resulte práctico se elegirá para sembrar los cultivos un momento que permita evitar altas temperaturas y tensión debida a la sequía durante el período de desarrollo y maduración de las semillas.

1.7 **Evitar el hacinamiento de las plantas**, manteniendo entre éstas y entre los surcos la distancia recomendada para las especies/variedades cultivadas.

Las empresas suministradoras de las semillas pueden brindar información sobre el espaciamiento necesario.

2. DURANTE EL CULTIVO Y ANTES DE LA COSECHA:

2.1 Debe **evitarse en lo posible el estrés vegetal**.

Son muchos los factores que pueden causarlo, como la sequía, el frío, las carencias de nutrientes y las reacciones adversas a materiales utilizados en el cultivo.

Al aplicar medidas para evitar el estrés vegetal, como puede ser el riego, deben adoptarse otras para minimizar el consiguiente riesgo de micosis, **evitando, por ejemplo, el riego por aspersión durante la floración**.

Si se utiliza riego, cerciorarse de que éste se aplica de manera uniforme y de que todas las plantas del campo reciben un suministro de agua adecuado. El riego es un método útil para reducir la tensión de las plantas en algunas situaciones de crecimiento. Las precipitaciones excesivas durante la antesis (floración) crean condiciones favorables para la diseminación e infección por *Fusarium spp*; por consiguiente **se debería evitar el riego durante la antesis y la maduración de los cultivos, y específicamente del trigo, la cebada y el centeno**.

Un **suministro óptimo de nutrientes es esencial** para evitar la debilidad, que puede favorecer la infección por *Fusarium*, pero también para reducir el encamado. Debe

mantenerse un suministro de nutrientes específico para la zona y la planta de que se trate.

2.2 Reducir al mínimo los daños provocados por insectos y por infecciones fúngicas en las proximidades del cultivo, mediante el uso apropiado de insecticidas y fungicidas registrados y otras prácticas idóneas comprendidas en un programa de lucha integrada contra las plagas.

2.3 Controlar la presencia de malas hierbas en el cultivo por medio de métodos mecánicos o herbicidas registrados, o aplicando otras prácticas seguras y adecuadas de erradicación de malezas.

Se han aislado especies de *Fusarium* en una amplia gama de hierbas y especies de malas hierbas de hoja ancha, y se ha demostrado que una alta densidad de malas hierbas incrementa la infección por *Fusarium*.

2.4 Reducir al mínimo los daños mecánicos a las plantas durante el cultivo.

2.5 La infección por *Fusarium* en las espigas de los cereales durante la floración debe vigilarse antes de la recolección, por ejemplo, tomando muestras del cultivo y determinando la presencia de la infección con los métodos microbiológicos habituales.

Asimismo, sería recomendable determinar el contenido de micotoxinas en muestras representativas tomadas antes de la recolección. De este modo, el destino del cultivo podría basarse en los datos obtenidos sobre prevalencia de la infección y el contenido de micotoxinas del cereal.

2.6 Programar la recolección de manera que el grano tenga un bajo contenido de humedad y esté en plena madurez, a no ser que esto último suponga someterlo a condiciones extremas de calor, precipitaciones o sequía.

El retraso en la recolección del cereal que ya esté infectado por especies de *Fusarium* puede provocar un incremento importante de su contenido de micotoxinas.

Hay que asegurarse de que se dispone de procedimientos adecuados, como puede ser la disponibilidad oportuna de recursos para el secado del cultivo, en caso de que no pueda cosecharse con el contenido de humedad ideal.

Se deberá dejar secar lo más posible el grano antes de la cosecha, de acuerdo con las condiciones ambientales locales y las condiciones del cultivo.

Si no es posible recolectar el grano cuando tiene una actividad hídrica inferior a 0,70, será necesario secar el cereal lo más rápidamente posible hasta un contenido de humedad correspondiente a una actividad hídrica inferior a 0,70 (menos del 15 por ciento de contenido de humedad).

Para **evitar la formación de ocratoxina A** en regiones donde la humedad del grano en el momento de la cosecha hace necesario un secado, es importante comenzar el proceso de secado inmediatamente después de la recolección, y preferiblemente efectuarlo con aire caliente. En las regiones de clima templado, cuando es necesario un almacenamiento intermedio o de amortiguación debido a la baja capacidad de secado, asegurarse de que el contenido de humedad sea inferior al 16 por ciento, que el tiempo de almacenamiento sea inferior a 10 días y que la temperatura esté por debajo de 20°C.

Evitar que los granos maduros permanezcan en el campo durante períodos prolongados, sobre todo en condiciones climáticas de frío húmedo. Las toxinas T-2 y HT-2 no suelen encontrarse en los cereales en el momento de la cosecha, pero pueden aparecer en granos dañados por el agua en el campo o que se han humedecido

durante la cosecha o el almacenamiento.

- 2.7** Se recomienda realizar mediciones del contenido de humedad del grano, durante la fase final del cultivo para determinar el momento óptimo para su recolección.

Para ello, se recomienda contar con el **equipo necesario para efectuar las mediciones del contenido de humedad, y asegurarse de que dicho equipo está calibrado.**

- 2.8** Debe evitarse cosechar grano encamado, sobre todo si está húmedo y son visibles los primeros signos de brotes.

Existen datos según los cuales el encamado tiene un efecto significativo sobre los niveles de toxinas de Fusarium en el grano. Por tanto, Debe evitarse pues el encamado de los cultivos ajustando las cantidades de semillas, utilizando de forma racional los fertilizantes y aplicando, cuando sea apropiado, reguladores del crecimiento de la planta. Debe evitarse, asimismo, un acortamiento excesivo de los tallos.

- 2.9** Antes de la recolección, **asegurarse de que todos los equipos que se vayan a utilizar para la misma y para el almacenamiento de las cosechas están en buen estado.**

Una avería en este período crítico puede causar pérdidas de calidad del grano y fomentar la formación de micotoxinas. Disponer de piezas de recambio importantes en la explotación agrícola para perder el menor tiempo posible en reparaciones.

- 2.10** Se deberá **planificar cuidadosamente la época de la recolección del maíz.**

Está demostrado que el maíz que se cultiva y se cosecha en meses cálidos puede contener niveles de fumonisinas muy superiores a los del maíz cultivado y recolectado en meses más fríos del año.

3. DURANTE LA RECOLECCIÓN:

- 3.1** Los **contenedores (vagones, camiones) que vayan a utilizarse para recoger el grano recolectado y transportarlo del campo a las instalaciones de almacenamiento o secado deberán estar limpios, secos y exentos de insectos y proliferación fúngica visible antes de su utilización o reutilización**

- 3.2** En la medida de lo posible, **evitar daños mecánicos al cereal y el contacto con el suelo durante la recolección.**

Se deberán adoptar medidas para reunir las espigas, paja, tallos y rastrojos de plantas infectadas y reducir al mínimo su dispersión hacia el suelo, donde las esporas pueden inocular futuros cultivos.

- 3.3** Durante la recolección, es aconsejable **comprobar el contenido de humedad en varios puntos de cada cargamento de grano recolectado**, puesto que dicho contenido puede variar considerablemente dentro del mismo campo. Las muestras que se tomen para medir la humedad han de ser lo más representativas posible.

- 3.4** Inmediatamente después de la recolección, se recomienda **determinar los niveles de humedad de la cosecha.**

Cuando corresponda, deberá procederse al secado hasta el contenido de humedad recomendado para el almacenamiento del cultivo en cuestión.

Las muestras que se tomen para efectuar las mediciones de la humedad deben ser tan representativas del lote como sea posible. Para reducir la variación del contenido de humedad dentro del lote, el grano puede transportarse a otra instalación (o silo) después del proceso de secado.

Los cereales deben secarse de manera que se reduzca al mínimo el daño sufrido por los granos y los niveles de humedad se mantengan por debajo de los que permiten el desarrollo de mohos durante el almacenamiento (por lo general, menos de 15 por ciento), a fin de evitar la proliferación de una serie de especies de hongos, sobre todo de Fusarium, que pueden estar presentes en los granos frescos.

3.5 Los cereales recién recolectados deben limpiarse para eliminar los granos dañados y otras materias extrañas.

Un grano pequeño y rugoso puede contener mayores cantidades de micotoxinas que un grano sano normal. La retirada del grano rugoso ajustando correctamente la cosechadora o mediante una limpieza posterior para retirar el grano dañado y otras materias extrañas puede ayudar a reducir los niveles de micotoxinas.

Los métodos habituales de limpieza no permiten eliminar los granos que contienen infecciones asintomáticas. Mediante procedimientos de limpieza de semillas como tablas gravitacionales es posible eliminar parte de los granos infectados. Se necesitan más investigaciones a fin de desarrollar sistemas prácticos para separar los granos infectados asintomáticos de los granos que no contienen infección.

3.6 Si fuera posible, debería separarse el grano atendiendo tanto a requisitos de calidad de mercado, como los relacionados con la fabricación de pan o de piensos, como a requisitos de calidad en el campo, por ejemplo, si el grano está encamado, húmedo, limpio o seco.

Deberían ponerse a punto procedimientos adecuados para tratar correctamente, segregándolos, reacondicionándolos, recuperándolos o destinándolos a otros usos, los cultivos de cereales que pueden suponer una amenaza para la salud humana o animal.

4. DURANTE EL ALMACENAMIENTO:

4.1 Evitar el apilamiento o amontonamiento de producto húmedo recién recolectado por un lapso superior a unas pocas horas antes del secado o la trilla, a fin de reducir el riesgo de proliferación de hongos.

El secado al sol de algunos productos en condiciones de humedad elevada puede tener como consecuencia la infección fúngica. **Ventilar los productos mediante circulación forzada de aire.**

4.2 Asegurarse de que las instalaciones de almacenamiento cuentan con estructuras secas y bien ventiladas que las protegen de las precipitaciones, permiten el drenaje de las aguas subterráneas y evitan la entrada de roedores y pájaros, y de que las fluctuaciones de la temperatura son mínimas.

Las cosechas que se van a almacenar con un contenido de humedad alto (por encima del 15%) deberían secarse hasta niveles de humedad seguros y enfriarse lo más rápidamente posible después de la cosecha.

4.3 Se reducirá al mínimo la presencia de materias extrañas y granos dañados en los cereales almacenados.

Los granos pequeños y arrugados pueden contener más zearalenona que los granos sanos normales. El aventamiento del grano durante la cosecha o en un momento posterior eliminará los granos estropeados.

4.4 En la medida de lo posible, ventilar el grano mediante circulación continua de aire para conservar una temperatura y humedad adecuadas en toda la zona de

almacenamiento.

4.5 Comprobar el contenido de humedad y la temperatura del grano a intervalos regulares durante el almacenamiento.

Un incremento de la temperatura de 2°C a 3°C puede indicar proliferación microbiana y/o infestación por insectos. Separar las partes del grano que parezcan infectadas y enviar muestras para su análisis. Una vez separado el grano infectado, reducir la temperatura del cereal restante y ventilarlo. Evitar la utilización de grano infectado para producir alimentos o piensos.

4.6 Adoptar buenos procedimientos de limpieza para reducir al mínimo la presencia de hongos e insectos en las instalaciones de almacenamiento.

Esto puede incluir el uso de insecticidas y fungicidas registrados y adecuados, o métodos alternativos apropiados. Se cuidará de seleccionar únicamente productos químicos que no supongan interferencia o daño considerando el uso al que esté destinado el grano, y se limitará estrictamente el empleo de tales sustancias.

Para los productos ensacados, asegurarse de que los sacos estén limpios, secos y apilados en paletas, o de que existe una capa impermeable al agua entre los sacos y el suelo.

4.7 En el grano que se vaya a destinar a la fabricación de piensos, es posible recurrir a la utilización de un agente conservador idóneo aprobado (por ejemplo ácidos orgánicos, como ácido propiónico).

Dichos ácidos son eficaces para matar los distintos hongos y evitar así la producción de micotoxinas. Las sales de los ácidos suelen ser más eficaces en el almacenamiento a largo plazo. Es necesario tener cuidado porque estos compuestos pueden tener un efecto negativo en el sabor y el olor del cereal.

Este tipo de tratamiento preventivo está **prohibido para el cereal destinado a consumo humano.**

4.8 Cuando haya motivos que lo justifiquen (por ejemplo, periodos de almacenamiento prolongado, desviaciones de temperatura y humedad del intervalo óptimo para la conservación) se deberá vigilar el nivel de micotoxinas del grano que entra y sale del almacén, utilizando programas apropiados de muestreo y ensayo.

4.9 Documentar los procedimientos de recolección y almacenamiento utilizados en cada temporada tomando nota de las mediciones (por ejemplo la temperatura y la humedad) y de cualquier desviación o cambios con respecto a las prácticas tradicionales.

Esta información puede ser muy útil para explicar la(s) causa(s) de la proliferación de hongos y la formación de micotoxinas en una campaña agrícola concreta, y ayudar a evitar que se cometan los mismos errores en el futuro.

5. DURANTE EL TRANSPORTE DESDE EL LUGAR DE ALMACENAMIENTO:

5.1 Asegurarse de que los contenedores empleados para el transporte están exentos de proliferación visible de hongos, de insectos y de cualquier material contaminado.

Si es necesario habrá que limpiarlos a fondo antes de que se utilicen o de que se vuelvan a utilizar; además deberán ser idóneos para la carga prevista. Puede resultar útil el empleo de fumigadores o insecticidas registrados. En el momento de la descarga, el contenedor deberá vaciarse completamente de la carga y limpiarse según sea apropiado.

5.2 Los cargamentos de grano deberán protegerse de la acumulación de humedad adicional utilizando contenedores cubiertos o herméticos, o lonas alquitranadas.

Evitar las fluctuaciones térmicas y las medidas que puedan ocasionar condensación en el grano, ya que esto podría dar lugar a una acumulación local de humedad y al consiguiente desarrollo de hongos con formación de micotoxinas.

5.3 Evitar la infestación por insectos, pájaros y roedores durante el transporte mediante el uso de contenedores resistentes a los insectos y los roedores o tratamientos químicos repelentes de los mismos que estén aprobados para el uso al que está destinado el grano.

ANEXO 2: MEDIDAS PREVENTIVAS, DE CONTROL Y VIGILANCIA DE LA PRESENCIA DE MICOTOXINAS EN LAS FÁBRICAS DE HARINAS Y SÉMOLAS:

La prevención, control y vigilancia de micotoxinas en las industrias de fabricación de harinas y sémolas **deberá integrarse en el sistema general de autocontrol basado en principios APPCC de la empresa.**

Para ello, en primer lugar, **deberán introducirse los ajustes necesarios en los planes generales de higiene o prerequisites existentes**, para mejorar su función de prevención y control sobre este tipo de contaminantes.

A continuación se indican de forma secuencial algunas de las actuaciones o ajustes que sería necesario realizar para mejorar la prevención y el control de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas:

1. HOMOLOGACIÓN DE PROVEEDORES:

La homologación de proveedores se considera **una fase previa esencial para el aseguramiento en general de la aptitud y seguridad de los aprovisionamientos** de cualquier industria de alimentación y bebidas. Es un prerequisite, de cuyo correcto diseño e implantación dependerá en gran medida el propio diseño del sistema de autocontrol de la industria.

La homologación de proveedores deberá estar definida en un procedimiento o plan general de higiene e incluirá, como mínimo, el cumplimiento de una serie de exigencias o requisitos mínimos legales. Pero estos mínimos se pueden complementar con criterios más exigentes o más específicos, de modo que aporten mayores garantías con vistas a controlar un determinado peligro.

Para el caso concreto de las micotoxinas, **es importante que el proveedor cuente con medidas adecuadas para la prevención y control de las micotoxinas en las fases que están bajo su control.**

Así pues, como medidas específicas a contemplar en la homologación de proveedores se recomienda incluir:

- **Si se trata de un agricultor:** solicitar garantías de adhesión o cumplimiento de Guías o Códigos de Buenas Prácticas Agrícolas o pertenencia a algún esquema o sistema de aseguramiento de la calidad sanitaria de la producción primaria. Se puede requerir información extra sobre medidas concretas para prevenir la contaminación por micotoxinas.
- **Si se trata de un almacenista, cooperativa u otro tipo de operador comercial:** solicitar información sobre las medidas existentes en su sistema de autocontrol para prevenir y controlar la contaminación del cereal por micotoxinas (ejemplo, su propio sistema de homologación de proveedores, los controles que realizan a la recepción del cereal, planes de limpieza y desinsectación – desinsectación de sus instalaciones, ...); información y garantías sobre el seguimiento de procedimientos basados en Códigos de Buenas Prácticas de Almacenamiento y Transporte; solicitar

información sobre sus planes de muestreo y control del contenido en micotoxinas, etc.

2. ESTABLECIMIENTO DE ESPECIFICACIONES EN CONTRATOS DE COMPRA DE CEREAL:

Tal y como se ha indicado a lo largo de esta Guía, en la actualidad existen determinados contenidos máximos en micotoxinas establecidos sobre “cereal no elaborado”.

Con la reciente modificación introducida en la definición de “cereal no elaborado” por el Reglamento (UE) 2015/1940 de la Comisión por el que se modifica el Reglamento CE 1881/2006, en relación con el contenido máximo de esclerocios de cornezuelo de centeno en determinados cereales no elaborados, cuya entrada en vigor tuvo lugar el pasado 18 de noviembre de 2015,

- el contenido máximo se aplica a los “cereales no elaborados” comercializados para una “primera fase de transformación”.
- Por “primera fase de transformación” se entiende cualquier tratamiento físico o térmico, distinto del secado, al que se somete el grano o su superficie. Los procedimientos de limpieza, incluido el descascarillado, de selección y de secado no se consideran “primera fase de transformación” si el grano entero permanece intacto tras la limpieza y la selección.
- El descascarillado consiste en limpiar los cereales cepillándolos y/o frotándolos con energía.
- Por **sistemas integrados de producción y transformación** se entienden los sistemas mediante los cuales **todos los lotes de cereales que entran se limpian, seleccionan y transforman en el mismo establecimiento**. En tales sistemas integrados de producción y transformación, **el contenido máximo se aplica a los cereales no elaborados tras la limpieza y la selección**, pero antes de la primera fase de transformación.

La inclusión de este último párrafo es la que marca realmente la diferencia con la situación anterior.

Mientras que antes de la publicación del citado Reglamento estaba muy claro que los contenidos máximos en micotoxinas se aplicaban a los cereales no elaborados en las etapas previas a la recepción de la mercancía en las fábricas de harinas y sémolas, y que por tanto, una referencia general al cumplimiento de la normativa europea en materia de contaminantes era suficiente como medio para asegurar el cumplimiento con los contenidos máximos legales del cereal objeto de la compra, ahora esto no sería suficiente, pues la modificación introducida permitiría a las empresas comprar cereal cuyos contenidos máximos superen el contenido máximo fijado para los cereales no elaborados, siempre y cuando las empresas cuenten con sistemas de limpieza y selección que les permitan reducir la posible presencia de estas micotoxinas hasta valores por debajo de los contenidos máximos establecidos para los cereales no elaborados. Es decir, el contenido máximo aplicaría al cereal tras la limpieza y selección, pero antes de su molienda.

En tales casos, el Reglamento (UE) 2015/1940 de la Comisión establece que las empresas

deberán garantizar el cumplimiento a través de su sistema APPCC mediante el cual se establece y se lleva a cabo en este punto de control crítico un procedimiento eficaz de seguimiento.

Es decir, con la modificación introducida, se da libertad a las empresas que cuentan con sistemas de limpieza y selección del cereal antes del procesado en la propia instalación (como es el caso de las harineras y sémoleras) para adquirir cereal que supera los contenidos máximos establecidos en la normativa europea para los cereales no elaborados.

Para poder recurrir a esta opción, las empresas deberán conocer de antemano el grado de reducción que les permite alcanzar su sistema de limpieza y selección, pues deben poder garantizar que el cereal que ha sido sometido a estos sistemas de limpieza y selección cumple, ahora sí, con los contenidos máximos fijados para el cereal no elaborado. Es decir, en este punto se crea un PCC del cual la empresa está obligada a hacer un seguimiento y, lógicamente, poder demostrar que este PCC está bajo control y que los cereales en el momento de su transformación (molturación) cumplen con los contenidos máximos en micotoxinas establecidos legalmente.

Las empresas harineras y sémoleras son libres de decidir en qué punto aplican los contenidos máximos legales en micotoxinas al cereal: en el momento de la compra y recepción del cereal o, tras la limpieza y selección y antes de la molturación.

Lógicamente, **el establecimiento de especificaciones concretas en cuanto al cumplimiento de contenidos máximos de micotoxinas en los contratos de compra facilitará la prevención y control de estos contaminantes por las fábricas de harina y simplificará sus propios sistemas de autocontrol**, y en caso contrario, deberían ajustarse para contemplar este nuevo PCC, con sus correspondientes medidas de seguimiento.

En definitiva, es aconsejable establecer especificaciones concretas respecto al cumplimiento con los contenidos máximos en micotoxinas para cereales no elaborados en las ofertas y los contratos de compra de cereal, como medida para asegurarse la aptitud y adecuación de los mismos al proceso de elaboración de harinas y sémolas para consumo humano.

Incluso, estas **especificaciones pueden contemplar niveles más restrictivos que los establecidos de modo general para los cereales no elaborados en aquellos casos en los que la empresa tenga necesidad de obtener productos con contenidos más bajos de los establecidos legalmente** de forma general para los productos intermedios derivados de cereal. Por ejemplo, si la empresa en cuestión es proveedora de una industria de alimentación infantil, es probable que deba ajustar los contenidos máximos en micotoxinas en sus productos a los bajos contenidos máximos que se exigen a este tipo de productos.

Junto a la inclusión de referencias claras a los contenidos máximos legales en micotoxinas en los cereales objeto de la transacción, también es **aconsejable incluir otras especificaciones que evitarán o reducirán la probabilidad de que este tipo de contaminación se produzca**, por ejemplo: establecer un contenido máximo de impurezas (restos diversos) en el cereal; especificar la ausencia de insectaciones en el cereal; establecer un contenido máximo de humedad en el cereal en el momento de la recepción de la mercancía; ausencia de olores extraños.

3. POSIBILIDAD DE EXIGIR BOLETINES O INFORMES DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS COMO PASO PREVIO A LA COMPRA DEL CEREAL.

Es muy recomendable **exigir garantías al vendedor sobre la adecuación del cereal objeto de la transacción a las especificaciones de compra en materia de contaminantes**, especialmente, cuando no se tengan suficientes referencias sobre el proveedor en cuestión o sobre la partida en concreto (por ejemplo, porque se trate de un cereal procedente de un país o región con el que no se trabaja habitualmente; por tratarse de las primeras partidas o lotes de una nueva campaña, etc.).

También resulta especialmente importante **exigir estas garantías cuando la cantidad objeto de la transacción es importante** (cantidad / valor económico).

En tales casos, **es importante que el certificado o informe de resultados en cuestión quede indubitativamente ligado a la partida de cereal objeto de la transacción**, por ejemplo, mencionando el código de identificación de la misma (su lote o referencia), para evitar que los resultados correspondan a otra partida.

4. ESTABLECER UN SISTEMA PROPIO DE EVALUACIÓN DEL RIESGO.

Para que las medidas preventivas, controles y vigilancia que se establezcan sean lo más eficaces y eficientes posibles, **es muy aconsejable que cada empresa establezca su propia evaluación del riesgo**, en función de criterios como:

- El origen del cereal (situación agroclimática del país o lugar de procedencia).
- La climatología de la campaña en cuestión.
- Las garantías aportadas por el proveedor.
- La existencia de noticias, informaciones, alertas que aconsejen un reforzamiento de las medidas preventivas ...

Es decir, se deberán tener en cuenta y **ponderar aquellos factores que se sabe pueden aumentar la probabilidad** de que esa partida o lote en cuestión esté contaminada con micotoxinas.

Esta evaluación de riesgos permitirá a cada empresa reforzar las medidas de control sobre aquellas partidas que pueden presentar mayor riesgo de contaminación.

También resulta **muy aconsejable realizar este tipo de evaluación de forma anual**, coincidiendo con las primeras etapas o inicio de la campaña cerealista, ya que permitirá ajustar los criterios de ponderación (por ejemplo, la probabilidad) a las primeras noticias que se vayan recibiendo sobre la nueva cosecha.

5. ESTABLECER CONTROLES APROPIADOS EN LA RECEPCIÓN DEL CEREAL Y PREVIOS A SU ACEPTACIÓN E INGRESO EN FÁBRICA.

La recepción constituye una **etapa clave** para evitar que partidas de cereal contaminadas con micotoxinas ingresen en nuestra instalación. Es un **importante PCC** y como tal, hay que establecer una serie de controles asociados al mismo.

Los controles que se pueden hacer en la recepción del cereal son de dos tipos:

- Determinaciones sobre el propio cereal. Inspección de tipo físico.
- Control documental.

5.1 Determinaciones de tipo físico:

- Contenido en humedad.
- Determinación del % de impurezas.
- **Inspección visual del grano para comprobar su estado sanitario:** inspección visual de una muestra sobre la que, entre otras cosas, se pretenden detectar posibles signos de contaminación fúngica, como por ejemplo, granos con puntitos rosas que denotan contaminación con Fusarium, o bien, la presencia de granos atacados por insectos, ya que éstos son más susceptibles al ataque de mohos y la formación de micotoxinas. Cualquier producto que presente evidencia de contaminación fúngica será normalmente rechazado, o al menos, puesto en “cuarentena” a la espera de ser sometido a un análisis más específico, como por ejemplo, un kit o análisis rápido de micotoxinas.
- Existe un caso donde la contaminación se puede detectar a simple vista, **con una observación visual por microscopía** de la muestra: el **cornezuelo de centeno**. La presencia del esclerocio del cornezuelo de centeno puede ser fácilmente detectada por simple análisis visual del cereal.
- Existencia de **olores extraños**.
- En aquellos casos donde surjan dudas de que el cereal pudiera estar contaminado, se puede incluir la realización de un análisis rápido, mediante un Kit tipo ELISA o similar, para descartar que el cereal en cuestión está contaminado. En caso de duda, se debería dejar en suspenso la aceptación de la partida o lote en cuestión a la espera de los resultados de un análisis más completo (en laboratorio externo) de la muestra.

5.2 Controles de tipo documental.

En este caso se trataría de comprobar que el lote o la partida en cuestión de cereal viene acompañada de los documentos requeridos por la empresa, como por ejemplo: boletín de análisis.

6. MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL CEREAL Y DE LOS PRODUCTOS TERMINADOS EN LA INSTALACIÓN DE LA INDUSTRIA.

A lo largo de este Guía se ha indicado la importancia del control de la fase de almacenamiento como medio para evitar que durante la misma se produzca un incremento indeseado de la presencia de micotoxinas en el producto almacenado. De ahí la importancia de mantener un control y una vigilancia adecuada de todos aquellos posibles factores que se sabe pueden influir en la formación de micotoxinas durante el almacenamiento.

El control y vigilancia de algunos de los factores que pueden influir en que se produzca la formación o incremento de la presencia de micotoxinas durante el almacenamiento se realiza con la **implantación y seguimiento de determinados prerrequisitos o planes generales de higiene**, por lo que en principio, deberían estar bajo control. Este es el caso de:

- **Evitar las posibles infestaciones por insectos, roedores, aves, y otros animales domésticos durante el almacenamiento.** En principio, toda fábrica de harinas y/o sémolas tiene que contar con un plan de Desinsectación y Desratización en funcionamiento para el conjunto de la instalación, por lo que, en principio, estos factores deberían estar controlados.
- **Control de las condiciones estructurales y de limpieza de las instalaciones de almacenamiento.** En este caso, son dos planes generales de higiene o prerrequisitos los que cumplen esta función de control: el plan de mantenimiento y el plan de limpieza. De su correcto diseño e implantación dependerá que el almacenamiento de cereal se realice en las condiciones apropiadas.

En cuanto a medidas de control específicas para evitar que durante la fase de almacenamiento se produzca la formación de micotoxinas o su incremento hasta niveles inaceptables, **tres son los factores que hay que controlar: humedad, temperatura y tiempo de almacenamiento.**

Tal y como se ha señalado en la Guía el factor más determinante es la humedad, y más concretamente, la actividad del agua. Un incremento de la humedad por encima del límite crítico puede desencadenar la formación de micotoxinas.

La humedad en el cereal almacenado puede incrementarse debido a un exceso de humedad en el ambiente (en épocas del año lluviosas), o bien, puede ser debido a la existencia de actividad biológica puntual (por infestación del cereal) lo que genera un incremento del agua libre.

El control del contenido de agua en el cereal durante el almacenamiento puede realizarse de manera manual, sobre un determinado número de muestras suficientemente representativas del cereal almacenado, o bien, de manera automática, a través de sondas u otro tipo de dispositivos de vigilancia colocados a diferente nivel en el interior del silo de almacenamiento.

En ambos casos, se debe procurar que la determinación que se realice sea representativa del conjunto de cereal almacenado.

Si lo que se mide es el contenido de humedad del cereal, y no directamente la actividad de agua, es importante también realizar un control de la humedad ambiente, para poder correlacionar ambos parámetros y determinar la actividad de agua. En este caso, también es importante el control de la temperatura, tanto en el grano, como la temperatura ambiente, por su relación con la actividad de agua del cereal.

El control de la temperatura también es importante por ser un factor cuyo incremento en el grano puede alertar sobre la existencia de actividad biológica (infestaciones), por su relación con la actividad de agua, y porque es por sí mismo un factor que favorece la formación de micotoxinas.

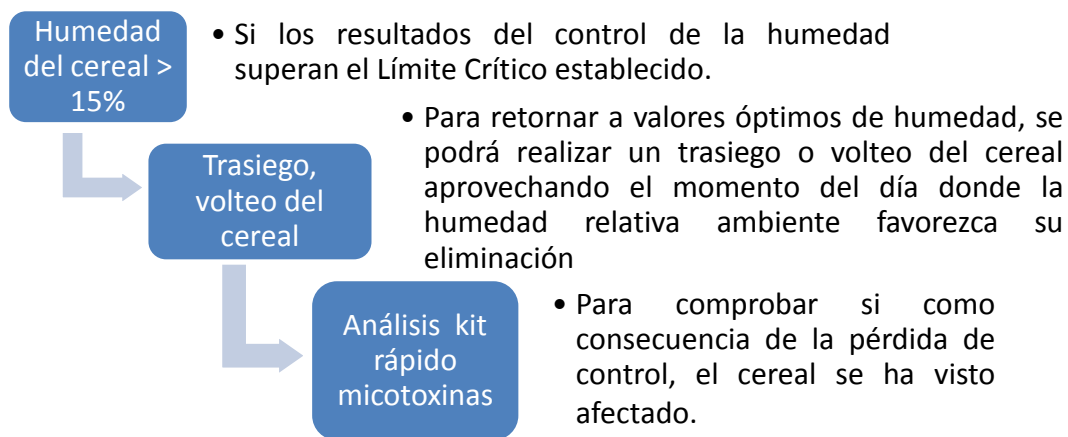
Y finalmente, el tercer parámetro a controlar durante el almacenamiento es el tiempo de almacenamiento. Lógicamente, estancias más prolongadas aumentan el riesgo de que se produzca una contaminación del cereal con micotoxinas, pero también, un deterioro del cereal en general. En este sentido, es importante que la empresa tenga bien definido un protocolo o procedimiento de gestión de sus stocks, en el cual se contemplen, por ejemplo, trasiegos del cereal almacenado cada cierto tiempo.

Para que las medidas de control y vigilancia durante esta fase sean efectivas, es muy importante **contar con los medios adecuados para este control**, en **perfecto estado de mantenimiento y calibración**, de modo que las comprobaciones de los parámetros indicados puedan hacerse de forma rápida.

Igualmente, se deberá contar con **un protocolo o procedimiento preestablecido para realizar esta vigilancia**, donde, en caso de determinaciones manuales, será muy importante tener definido cómo se realizará la toma de muestras para que sea lo suficientemente representativa del conjunto de la partida o lote a muestrear; los dispositivos que deberán utilizarse para realizar esta toma de muestras; el número de submuestras que se deberá tomar, etc.

Finalmente, junto a la determinación de los límites críticos, **deberá tenerse previamente definido el modo de actuación cuando la vigilancia ponga de manifiesto una superación de los valores establecidos como límites críticos**, tanto para descartar la posible contaminación de la partida, como para tratar de retomar el control del proceso y devolver las mediciones al rango de valores óptimo.

Ejemplo:



Además de tener previamente establecidos los procedimientos operativos para realizar las labores de vigilancia y control del cereal durante el almacenamiento, se deberá contar con un sistema de registro donde quede constancia de los resultados de todas estas evaluaciones.



ANEXO 3: LISTADO DE LEGISLACIÓN DE REFERENCIA:

LEGISLACIÓN GENERAL ALIMENTARIA:

- Reglamento (CE) 178/2002, de 28 de Enero de 2002, del Parlamento Europeo y del Consejo, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria.
- Reglamento (CE) Nº 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los productos alimenticios.
- Reglamento (CE) 882/2004, de 29 de abril de 2004, del Parlamento Europeo y del Consejo, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de alimentos y piensos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales.
- Reglamento (UE) nº 16/2011 de la Comisión, de 10 de enero de 2011, por el que se establecen medidas de ejecución del Sistema de Alerta Rápida para los Productos Alimenticios y los Alimentos para Animales. (DO L 6, de 11.1.2011)
- Ley 17/2011, de 5 de julio, de seguridad alimentaria y nutrición. (BOE nº 160, de 06.07.2011)
- Reglamento (CE) nº 183/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de enero de 2005, por el que se fijan requisitos en materia de higiene de los piensos. (DO L 35, de 08.02.2005)
- Real Decreto 821/2008, de 16 de mayo, por el que se regulan las condiciones de aplicación de la normativa comunitaria en materia de higiene de los piensos y se establece el registro general de establecimientos en el sector de la alimentación animal.
- Real Decreto 9/2015, de 16 de enero, por el que se regulan las condiciones de aplicación de la normativa comunitaria en materia de higiene en la producción primaria agrícola.

CONTENIDOS MÁXIMOS DE MICOTOXINAS EN CEREALES Y PRODUCTOS DERIVADOS PARA DESTINADOS A CONSUMO HUMANO:

- 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:
 - 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 Fusarium en el maíz y los productos del maíz**.

- Reglamento (EU) nº 165/2010 de la Comisión, de 26 de febrero de 2010, que modifica, en lo que respecta a las **aflatoxinas (arroz)**, el Reglamento (CE) nº 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios.
- 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 (gluten de trigo)**, PCBs no similares a las dioxinas y melamina en los productos alimenticios.
- Reglamento (UE) 2015/1940 de la Comisión, de 28 de octubre de 2015, por el que se modifica el Reglamento (CE) nº 1881/2006 en relación con el **contenido máximo de esclerocios de cornezuelo de centeno en determinados cereales no elaborados** y con las disposiciones sobre seguimiento y presentación de informes.

MUESTREO Y ANÁLISIS:

- Reglamento (CE) Nº 401/2006 de la Comisión, de 23 de febrero de 2006, por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios.
- Modificado por:
 - Reglamento (UE) nº 519/2014 de la Comisión, de 16 de mayo de 2014, que modifica el Reglamento (CE) nº 401/2006 en lo relativo a los métodos de muestreo de los lotes de gran tamaño, las especias y los complementos alimenticios; **las normas de referencia para las toxinas T-2 y HT-2** y para la citrinina, y los **métodos analíticos de cribado**.

CONTENIDOS MÁXIMOS DE MICOTOXINAS EN CEREALES Y PRODUCTOS DERIVADOS PARA ALIMENTACIÓN ANIMAL:

- Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 7 de mayo de 2002, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal. (Transpuesta al ordenamiento jurídico nacional mediante RD 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.)
- Modificado por:
 - Directiva 2003/100/CE de la Comisión, de 31 de octubre de 2003, por la que se modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre sustancias indeseables en la alimentación animal, en lo que respecta a los **contenidos máximos de Aflatoxina B₁**. (Incorporada a derecho interno mediante Orden PRE/1422/2004, de 20 de mayo, que modifica el RD 465/2003)
 - Reglamento (UE) nº 574/2011 de la Comisión de 16 de junio de 2011, por el que **se modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE** del Parlamento Europeo y del Consejo con respecto a los contenidos máximos de nitritos, melamina y Ambrosia spp., y a la

transferencia de determinados coccidiostáticos e histomonóstatos, **y por la que se consolidan sus anexos I y II.**

- Recomendación de la Comisión (2006/576/CE), de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal.
- Modificado por:
 - Recomendación de la Comisión (2013/637/UE), de 4 de noviembre de 2013, por la que se modifica la Recomendación 2006/576/CE en lo que se refiere a las **toxinas T-2 y HT-2 en piensos compuestos para gatos.**

MUESTREO Y ANÁLISIS:

- Reglamento (CE) nº 152/2009 de la Comisión, de 27 de enero de 2009, por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los piensos.
- Modificado por:
 - Reglamento (UE) nº 691/2013 de la Comisión, de 19 de julio de 2013, que modifica el Reglamento (CE) nº 152/2009 en cuanto a los métodos de muestreo y análisis.
 -

RECOMENDACIONES DE LA COMISIÓN PARA LA PREVENCIÓN Y CONTROL DE MICOTOXINAS EN CEREALES Y PRODUCTOS DERIVADOS DESTINADOS TANTO A CONSUMO HUMANO COMO A ALIMENTACIÓN ANIMAL.

- Recomendación de la Comisión (2006/583/CE), 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.**
- Recomendación de la Comisión (2012/154/UE), de 15 de marzo de 2012, sobre el **control de la presencia de alcaloides de cornezuelo en los piensos y los alimentos.**
- Recomendación de la Comisión (2013/165/UE), de 27 de marzo de 2013, sobre la **presencia de las toxinas T-2 y HT-2 en los cereales y los productos a base de cereales.**

ANEXO 4 NORMAS SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS DE MICOTOXINAS

UNE-EN 15851:2010 Productos alimenticios. **Determinación de aflatoxina B1 en alimentos a base de cereales para bebés y niños.** Método por HPLC con purificación en columna de inmunoafinidad y detección por fluorescencia.

UNE-EN ISO 16050:2011 Productos alimenticios. **Determinación de aflatoxina B1, y contenido total de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en cereales,** nueces y productos derivados. Método por cromatografía líquida de alta resolución. (ISO 16050:2003)

UNE-EN 15891:2011 Productos alimenticios. **Determinación de deoxinivalenol en cereales, productos a base de cereales y en alimentos a base de cereales para bebés y niños.** Método HPLC con purificación de columna de inmunoafinidad y detección por UV.

UNE-EN 13585:2002 Productos alimenticios. **Determinación de fumonisinas B1 y B2 en maíz.** Método por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con lavado por extracción en fase sólida.

UNE-EN 14352:2005 Productos alimenticios. **Determinación de fumonisinas B1 y B2 en productos a base de maíz.** Método por HPLC con purificación en columna de inmunoafinidad.

UNE-EN 15835:2010 Productos alimenticios. **Determinación de ocratoxina A en alimentos a base de cereales para bebés y niños.** Método por HPLC con purificación en columna de inmunoafinidad y detección por fluorescencia.

UNE-EN 14132:2009 Productos alimenticios. **Determinación de ocratoxina A en cebada y café tostado.** Método por HPLC con purificación en columna de inmunoafinidad.

UNE-EN ISO 15141-1:2000 Productos alimenticios. **Determinación de ocratoxina A en cereales y productos derivados.** Parte 1: Método por cromatografía líquida de alta resolución con lavado en gel de sílice. (ISO 15141-1:1998).

UNE-EN ISO 15141-2:2000 Productos alimenticios. **Determinación de ocratoxina A en cereales y productos derivados.** Parte 2: Método por cromatografía líquida de alta resolución con lavado en bicarbonato. (ISO 15141-2:1998).

UNE-EN 15850:2010 Productos alimenticios. **Determinación de zearalenona en harina de cebada, de maíz y de trigo, polenta y alimentos a base cereales para bebés y niños.** Método por HPLC con purificación en columna de inmunoafinidad y detección por fluorescencia.

UNE-CEN/TR 15298:2007 IN Productos alimenticios. **Fragmentación de muestras para análisis de micotoxinas.** Comparación entre molienda en seco y mezcla de pastas húmedas.