

# comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES  
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA  
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN  
MUNDIAL  
DE LA SALUD



S

OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00153 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

**Tema 14(a) del programa**

**CX/CF 07/1/17**  
Febrero de 2007

**PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS**  
**COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS**  
**1ª reunión**

**Beijing (China), 16 - 20 de abril de 2007**

**DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE EL DEOXINIVALENOL**

**Información general**

1. En la 36ª reunión del Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos (CCFAC) se decidió suspender por el momento el examen de los límites máximos para el deoxinivalenol (DON). Se convino, en cambio, en pedir información sobre la presencia de DON en los cereales, así como sobre los efectos de la elaboración, la descontaminación y la selección en la reducción de la concentración de DON; sobre los límites o directrices nacionales para el DON; y sobre procedimientos de muestreo y métodos de análisis, a fin de examinarla en la próxima reunión (1).
2. En la 37ª reunión del CCFAC se señaló que ya había disponible más información sobre la presencia de DON en los cereales y productos elaborados de cereales, o que pronto estaría disponible para consulta internacional. El Comité decidió, en consecuencia, pedir al JECFA que evaluara la exposición con base en la nueva información. A este respecto, el Comité reiteró la importancia de tener en cuenta los alimentos elaborados y los efectos de la elaboración en la concentración de DON (2).
3. El Comité decidió asimismo establecer un grupo de trabajo electrónico dirigido por los Estados Unidos para elaborar un documento de debate con el fin de proporcionar una amplia información pertinente, que contemplara la presencia de DON y los efectos de la elaboración en la concentración de DON, a fin de examinarlo en su próxima reunión. Los miembros del grupo de trabajo son: Alemania, Bélgica, Canadá, la Comunidad Europea, la República de Corea, Finlandia, Francia, Japón, los Países Bajos, el Reino Unido y el Consejo Internacional de Asociaciones de Fabricantes de Comestibles. Este documento, titulado "Documento de debate sobre el deoxinivalenol", se preparó de conformidad con las instrucciones, se distribuyó y se debatió en la 38ª reunión del CCFAC, de abril de 2006.
4. En la 38ª reunión del CCFAC se decidió establecer de nuevo del grupo de trabajo dirigido por los Estados Unidos, a fin de revisar y poner al día el documento de trabajo con: a) más datos de las regiones donde faltan o hay insuficientes datos sobre el DON; b) datos adicionales, en especial sobre las concentraciones de DON en el maíz; c) información de los efectos de las variaciones estacionales en la concentración; y d) información del efecto de la elaboración en la concentración de DON en los alimentos (3). Además, el Comité recomendó que el documento de debate ofreciera una indicación detallada de la información que podría haber disponible en el futuro próximo, incluidos los plazos, a fin de dar curso a la posibilidad de que el JECFA programara la evaluación del DON. El grupo de trabajo nuevamente establecido, dirigido por los Estados Unidos, incluye a Alemania, Australia, Bélgica, Canadá, la Comunidad Europea, la República de Corea, Japón, los Países Bajos y el Reino Unido.

## Introducción

5. El deoxinivalenol (DON, vomitoxina, "toxina-Rd", Deoxynivalenol (DON; vomitoxin; "Rd-toxin"; 3,7,15 trihidroxi -12,13 epoxi tricotec 9-en-8-ene; CAS núm. 51481-10-8), pertenece a una clase de micotoxinas sesquiterpenoides denominadas tricotecenos. Diversos hongos del género *Fusarium* producen los tricotecenos, en especial los hongos *F. graminearum* y *F. culmorum*, que son patógenos del trigo, el centeno, la cebada, el maíz y otros cereales. La distribución mundial de ambas especies de hongos parece relacionarse con la temperatura, y el hongo *F. graminearum* se presenta principalmente en clima más cálidos (4). Los tricotecenos son el grupo más grande de toxinas producidas por hongos del género *Fusarium* (5, 6).

6. Los tricotecenos se dividen en cuatro grupos denominados de la A a la D, de acuerdo a su estructura molecular (7). Los tipos A y B son los predominantes con una amplia distribución en los cereales y los piensos como contaminantes naturales. Los tricotecenos tipo A incluyen la toxina T-2 y la toxina HT-2, mientras que los tricotecenos tipo B incluyen el deoxinivalenol, el nivalenol y sus derivados acetilados 3 y 15. Los tricotecenos del tipo A se caracterizan por la presencia de carbono saturado en C-8, mientras que los tricotecenos del tipo B tienen un carbonilo en la misma posición (8). El deoxinivalenol está presente con mayor frecuencia en los cereales, pero pueden estar presentes simultáneamente otros tricotecenos con el DON (9). Entre los tricotecenos, los miembros del tipo A son más tóxicos que los del tipo B (10).

7. Los hongos *F. graminearum* y *F. culmorum* existen en todo el mundo, están en el suelo y causan la fusariosis de la espiga (FHB) en los cereales, la cual da lugar a la producción de DON. Algunos estudios han revelado que la gravedad de la fusariosis de la espiga depende sobre todo de efectos climáticos (temperatura, lluvias, humedad) (11). Estos hongos por lo general infectan cultivos de cereales susceptibles en el terreno cuando el clima es fresco y húmedo, en la etapa del desarrollo del cereal cuando salen los estigmas o durante la antesis (12). Se sabe que la frecuencia y la gravedad de la contaminación por DON varía de región a región, de una estación a la siguiente, así como entre las distintas especies de cereales (13, 14). Estas variaciones pueden asociarse a períodos de excesiva lluvia, entre la antesis y la cosecha, y pueden facilitar la infección de *F. graminearum* y la acumulación de DON (15). La infección de los cereales por estos hongos puede dar lugar a la producción de una mezcla de diversos tricotecenos estructuralmente relacionados además del DON. Los distintos tricotecenos que forman esa mezcla varían por países y regiones. El DON es soluble en agua, muy estable durante el almacenamiento y la molienda, relativamente estable ante el calor, y está demostrado que subsiste a casi todos los procedimientos de elaboración y cocción, y que la fermentación no lo destruye por completo (16, 17). El DON presente en los cereales contaminados sobrevive los procedimientos de cervecería y se trasmite a la cerveza (18, 19).

## Toxicología

8. En 1993, el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) examinó la toxicidad del DON y de algunas otras toxinas derivadas de los hongos *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum* (20). El CIIC concluyó que la carcinogenicidad en humanos de las toxinas derivadas del *Fusarium graminearum* está *insuficientemente documentada*, al igual que la carcinogenicidad del DON en animales de laboratorio, y que las toxinas derivadas de los hongos *F. graminearum* y *F. culmorum* no son clasificables como cancerígenos para los humanos (Grupo 3).

9. El Consejo Nórdico de Ministros, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA), el Comité científico de alimentación humana (SCF) de la Comisión Europea, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (AESA) y otros investigadores han realizado evaluaciones de riesgos y reseñas toxicológicas sobre el DON (21-25). El JECFA estableció una ingesta diaria tolerable máxima provisional (IDTMP) de 1 µg DON/kg de peso corporal (22). El potencial genotóxico del DON no se ha investigado exhaustivamente. Recientemente se sistematizó importante información sobre la toxicidad de los tricotecenos y otras consideraciones pertinentes para la caracterización de los peligros asociados a estas toxinas (26-28).

10. La exposición de algunos animales domésticos al DON produce pérdida de apetito, rechazo de los piensos y vómito, acompañado de disminución del aumento de peso (24). Se han hecho numerosos estudios de alimentación en cerdos porque esta especie parece más susceptible al DON que las aves de corral, los rumiantes y otros tipos de ganado. Se ha notificado el consumo reducido de piensos y la disminución de aumento de peso como principales efectos clínicos observados en los cerdos después de la ingestión de concentraciones bajas de DON (<2ppm piensos) presentes en piensos naturalmente contaminados.

Concentraciones más elevadas pueden producir vómito y rechazo total del alimento (29). En varios estudios con cerdos, se comparó la reacción toxicológica de animales a los que se dieron piensos en los cuales se había introducido una cantidad conocida de DON puro, con la respuesta observada en animales a los que se suministraron piensos naturalmente contaminados con una cantidad equivalente de DON, y se observó que los piensos naturalmente contaminados producían efectos más fuertes que la toxina pura en los parámetros de ingesta de piensos y aumento de peso (24). Es posible que la inmunosupresión y los cambios hematológicos e histológicos observados en los animales alimentados con piensos naturalmente contaminados con DON puedan haberse intensificado por contaminación simultánea con otras micotoxinas. Se han publicado evaluaciones toxicológicas de la evolución de los tricotecenos en animales de laboratorio así como en otras especies animales (22, 30, 31). Una importante conclusión de estas evaluaciones es que los animales excretan rápidamente los tricotecenos y, por lo tanto, no hay una transferencia significativa de estas toxinas desde los productos de origen animal a los seres humanos.

11. Se han registrado casos de intoxicación humana por consumo de cereales contaminados por tricotecenos (trigo, cebada, maíz) en Corea, Japón, la India, Colombia, China y Sudáfrica (16, 22, 27, 32, 33). Se observaron los siguientes síntomas: náusea, vómito, diarrea, dolor abdominal, dolor de cabeza y vértigo. La función exacta del DON en esos brotes no es segura. Una reseña de datos epidemiológicos publicada en 2001 no permitió establecer un límite por debajo del cual cabría prever que no se producirían los efectos agudos del DON (22). Los datos epidemiológicos disponibles indican que los tricotecenos, o específicamente los productos de cereales contaminados por DON, son un posible factor causal de toxicosis humana aguda.

12. Recientemente se publicó un estudio de la toxicidad del DON y sus efectos potenciales en los seres humanos (27). El principal motivo de preocupación por la seguridad humana con relación al DON debería ser el potencial de esta sustancia de producir gastroenteritis aguda con vómito. Además, puede producir efectos crónicos en el crecimiento, la función inmune y la reproducción, de acuerdo a los resultados de estudios realizados con animales. Recientemente se creó un biomarcador urinario que permite detectar la presencia de DON tanto en seres humanos como en animales. El uso de este biomarcador debería facilitar la realización de estudios epidemiológicos de los efectos toxicológicos negativos asociados a esta micotoxina (34). Se ha observado en cereales la presencia simultánea de diversas toxinas del *Fusarium*, al mismo tiempo que la zearalenona. La presencia de otras toxinas en los cereales es motivo de preocupación debido a la posible interacción de esas toxinas y a sus repercusiones conjuntas en la respuesta toxicológica observada en animales y humanos (23, 35, 36).

## Muestreo

13. Es difícil estimar con exactitud y precisión la concentración de micotoxinas presente en un lote grande de cereales debido a la gran variabilidad asociada al procedimiento de análisis de micotoxinas. Un procedimiento de análisis de micotoxinas por lo general consta de tres pasos: a) se toma del lote una muestra global (formada por muestras diferenciales tomadas de distintas partes de un mismo lote), b) la muestra global se tritura en un molino para reducir el tamaño de las partículas y asegurar la homogeneización y mezcla de la muestra antes de extraer una submuestra para tratarla con solventes, y c) se extrae la micotoxina de la submuestra triturada y se cuantifica mediante técnicas analíticas (37). La varianza asociada al procedimiento de análisis de micotoxinas que mide la concentración de DON en los cereales es la suma de la toma de muestras, la preparación de la muestra y las varianzas analíticas (38).

14. Estudios estadísticos (38) han revelado que los coeficientes de variación asociados al análisis de trigo son relativamente reducidos en comparación con el análisis de otros productos para detectar la presencia de micotoxinas, como las aflatoxinas en cacahuets. Si bien pueden intervenir otros factores, la variabilidad más reducida (respecto a otras micotoxinas y otros productos alimentarios) se debe en parte al conteo de granos del trigo por masa de unidad (unos 30 granos por gramo), que es unas 10 veces más grande que en el caso del maíz descascarillado y 30 veces más grande que en de los cacahuets sin cáscara. Esto indica que la distribución de la contaminación por DON entre los granos de trigo puede ser menos asimétrica que la de la aflatoxina en otros productos.

15. Se puede reducir la variabilidad asociada al procedimiento de análisis de micotoxinas incrementando el tamaño de la muestra, el grado de trituración de la muestra, el tamaño de la submuestra y el número de alícuotas cuantificadas (37). Se puede utilizar el conocimiento de la variabilidad asociada a los procedimientos de muestreo de granos de cereales, aunado a la disponibilidad de métodos analíticos validados e información apropiada sobre la distribución y tolerancia o concentraciones de referencia para el DON, a fin de: 1) proporcionar una estimación de los errores en la evaluación de la concentración de DON en lotes de productos de cereales, 2) elaborar planes de muestreo para detectar la presencia de DON en cereales, y 3) seleccionar el tamaño de la muestra o el número necesario de muestras para reducir la variabilidad total de un procedimiento completo de análisis.

### **Análisis**

16. Se han creado numerosos métodos analíticos para detectar y cuantificar la concentración de DON y otros tricotecenos. Estas toxinas se pueden separar y analizar mediante cromatografía de capas finas, y diversos procedimientos de cromatografía líquida, de gases y fluidos supercríticos, así como a través de métodos inmunoquímicos. Existen amplias reseñas de las metodologías de hoy aptas para detectar y analizar el DON y otros tricotecenos en los cereales (39-42).

17. Los procedimientos de cromatografía de capas finas para la detección y análisis del DON son fiables y eficaces con relación al costo, para utilizarse en laboratorios que disponen de un presupuesto limitado (43-46). Los procedimientos de cromatografía líquida solos o aunados a espectrometría de masas y varios detectores están usándose con más frecuencia en muchos laboratorios para analizar el DON y otros tricotecenos de los tipos A y B (47-61). Los procedimientos de cromatografía de gases también son aptos para determinar numerosos tricotecenos. Las toxinas o sus derivados se detectan principalmente mediante ionización de flama, detectores de captura de electrones o acoplado un espectrómetro de masas (19, 62-66). Siempre que sea posible y asequible, se recomienda que los métodos de cromatografía de capas finas para determinar la presencia de DON se sustituyan gradualmente con técnicas cromatográficas avanzadas, idealmente acopladas a un detector espectrométrico de masas.

18. Los métodos inmunoquímicos han sido objeto de gran atención recientemente porque pueden utilizarse para aplicar métodos de análisis rápidos sobre el terreno o en laboratorio, y algunos también complementan con eficacia los procedimientos de cromatografía de gases o líquida muy utilizados en la vigilancia de rutina. Estos métodos son más sencillos y requieren menos trabajo. Se han publicado amplias reseñas de métodos inmunoquímicos y otros métodos rápidos que pueden utilizarse para el análisis de tricotecenos (67-70) En el portal de AOAC International ([www.aoac.org](http://www.aoac.org)) y en el de la European Mycotoxin Awareness Network (EMAN) ([www.mycotoxins.org](http://www.mycotoxins.org)) hay información sobre bases de datos de materiales para el análisis de micotoxinas.

19. Los métodos analíticos cuantitativos que se vayan a utilizar con fines de supervisión y cumplimiento de disposiciones deberán validarse o estudiarse conjuntamente a fin de garantizar que los resultados analíticos obtenidos ofrezcan una medida exacta del analito en cuestión. Los métodos que se han creado y validado para la extracción y detección del DON en granos de cereales enteros no se pueden utilizar con eficacia sin hacerles casi en todos los casos ulteriores modificaciones para analizar productos de cereales. Al hacer estudios de cereales triturados o productos elaborados a base de cereales es esencial que se realicen estudios de recuperación para cada tipo de producto analizado, a fin de determinar si los cambios percibidos en las concentraciones de DON representan el contenido exacto de la toxina o una recuperación deficiente de la misma obtenida de la matriz del producto. Hay materiales de referencia certificados para el análisis de DON en trigo y maíz, y pueden utilizarse para demostrar que el método utilizado ofrece resultados exactos (41, 71). Se ha determinado que dos normas analíticas de DON cristalino utilizadas por algunos laboratorios en todo el mundo tienen una pureza de >96 y >98, respectivamente (72, 72). Se está estudiando el uso de isótopos estables de tricotecenos como normas internas en procedimientos analíticos de CL/EM, aplicados a tricotecenos (74-76).

20. Los actuales métodos oficiales de la AOAC para el análisis del DON en trigo incluyen la cromatografía de capas finas (método 986.17) y la cromatografía de gases (método 986.18). Un método de cromatografía líquida para la determinación de la presencia de DON en harina de trigo entero, harina blanca y salvado, se sometió a un estudio conjunto de varios laboratorios y AOAC International lo adoptó como método verificado por homólogos (77). Se hizo un estudio internacional conjunto entre varios laboratorios para comparar distintos métodos de análisis del DON (41, 78). Debido a la presencia conjunta natural de DON con otros tricotecenos y zearalenona, debería hacerse énfasis en la creación y validación de métodos aptos para detectar residuos simultáneos de varias toxinas. Recientemente se han presentado métodos conjuntos de cromatografía líquida y espectrometría de masas para la determinación rápida y simultánea de la zearalenona y los tricotecenos (51, 79).

### **El DON en los granos de los cereales**

21. La amplia presencia en todo el mundo de DON en los cereales está bien documentada y hay abundantes reseñas bibliográficas sobre la misma (10, 16, 80, 81). El trigo, la cebada y el maíz en conjunto representan dos terceras partes de la producción mundial de cereales y son los cultivos más susceptibles a las fusariosis y a la contaminación por tricotecenos (82). Se ha encontrado DON en otros cereales, como el centeno, la avena, el arroz y los productos de éstos, en muchas regiones del mundo (10). Diversos estudios han demostrado que el DON y sus derivados acetilados, en concentraciones bajas de contaminación, se producen y permanecen localizados en gran medida en las partes externas de los granos (57, 83). Con todo, en concentraciones más elevadas de contaminación las toxinas pueden distribuirse en forma más uniforme en todo el grano (84). Se sabe que la zearalenona se presenta simultáneamente con el DON y otros tricotecenos, ya que la produce la misma especie de *Fusarium*. Recientemente se descubrió un glucósido "encubierto" del DON (DON-3-glucósido) naturalmente presente en trigo y maíz infectado de *Fusarium* (85). La identidad del compuesto se confirmó mediante resonancia magnética nuclear, y su presencia en maíz y trigo naturalmente contaminados era del 4% al 12% de la concentración de DON.

22. Existen resúmenes de datos analíticos del DON, producidos por estudios realizados con cereales y productos de cereales en muchas partes del mundo (42). Se investigó el DON en 15 187 muestras; el 48,1% eran de trigo (media 531 µg/kg, 61,6% positivas), 20% de maíz (media 230 µg/kg, 60,3% positivas) y 18,5% de productos de trigo (media 314 µg/kg, 52,2% positivas). También se encontraron concentraciones más bajas de DON en otros cereales, como la cebada, la avena, el centeno, el arroz, y en productos alimentarios elaborados, como la cerveza, panqueques cocidos, alimentos para lactantes y niños pequeños, cereales para el desayuno y cereales compuestos, fideos y galletas.

23. En un estudio realizado por la UE, en el que participaron 12 países miembros, se analizó un total de 11 022 muestras de diversos alimentos y materias primas de alimentos para detectar la presencia de DON, 4 166 muestras para detectar la presencia de nivalenol, y 5 675 muestras para detectar la presencia de 3- y 15-acetil DON (86). Resultó positivo el 57% de las muestras analizadas para detectar la presencia de DON, el 16% de las muestras analizadas para detectar la presencia de nivalenol y el 28% de las muestras analizadas para detectar la presencia de los derivados acetilados. El porcentaje de contaminación de las muestras positivas asociadas a cada toxina fue el siguiente: a) DON: 89% en maíz, 61% en trigo y sus productos, b) nivalenol: 35% en maíz, 21% en avena, y 14% en trigo y sus productos, y c) acetil DON: 27% en maíz y 8% en productos de trigo. Entre los cereales analizados en este estudio, el maíz reveló la concentración más alta de contaminación por tricotecenos. El 7% de los cereales y la harina analizados presentaron un contenido de DON de 750 µg/kg o más elevada, y el 6% de los productos de cereales contenían DON en concentraciones de 500 µg/kg o más elevadas. El trigo y los productos que contienen trigo, como la pasta y el pan, representaron las fuentes principales de ingestión de los cuatro tricotecenos medidos.

24. En un estudio realizado con cereales almacenados de la cosecha de 1999 en el Reino Unido, se detectó la presencia de DON en el 88% de las 320 muestras de trigo, cebada y avena analizadas; el 83% presentó concentraciones inferiores a 100 µg/kg, la concentración máxima detectada fue de 600 µg/kg. En las muestras que presentaron concentraciones de DON superiores a 150 µg/kg, también se encontró nivalenol en concentraciones de 50 µg/kg o más elevadas (87).

25. En Croacia se recogieron y analizaron 465 muestras de cereales para piensos, en un período de siete años, tomadas de fabricantes e instalaciones agrícolas de almacenamiento (88). Se encontró DON en concentraciones de 50 a 340  $\mu\text{g}/\text{kg}$  en el 41,2 % de las muestras. Casi todas las muestras eran para piensos avícolas.
26. Se analizaron 272 muestras de avena después de la cosecha, en una zona del suroeste de Alemania, en un período de cinco años (89). La principal toxina encontrada fue DON, con incidencias del 49% al 85% y concentraciones medias en las muestras positivas de 52 a 302  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Se observó una correlación entre la presencia y la concentración de tricotecenos en la avena y las abundantes lluvias de los meses del verano anteriores a la cosecha.
27. En 2001 y 2002 se recogieron 38 muestras de cereales finlandeses (14 de trigo, 22 de cebada, 1 de centeno y 1 de avena) de distintas partes de Finlandia (66). Las concentraciones medias de DON, 3-acetil DON y nivalenol encontradas en las muestras fueron de 272, 17 y 150  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente.
28. En Rusia se hizo un estudio del DON en cereales cosechados, en un período de tres años (90). Se detectó la presencia de DON en el 69% de 2 166 muestras de trigo almacenado de la principal región epidémica de *Fusarium* de Rusia. Las concentraciones de contaminación eran de 100 a 8 600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y se observó una correlación positiva entre la concentración de DON y el porcentaje de granos de trigo dañados por la presencia de *Fusarium*. Se encontró DON en el 11% de 1 908 muestras de trigo para alimentos recién cosechado, las concentraciones de DON eran de 50 a 6 650  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . La incidencia y las concentraciones de DON en avena y centeno recién cosechados fueron considerablemente inferiores que en el trigo.
29. En Arabia Saudita se recogió y analizó en un período de tres años un total de 843 muestras de piensos y alimentos comerciales para detectar la presencia de tricotecenos (91). El tricoteceno más frecuente que se detectó fue el DON (13% de todas las muestras positivas analizadas) y las concentraciones eran  $<2$  a 4 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Se detectó la presencia de DON en el 21% de las muestras de maíz y en el 18% de las de piensos avícolas, pero la concentración más elevada se registró en las muestras de cebada, donde la concentración media fue de 2 553  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .
30. En 1995 se analizaron en Brasil 100 muestras de trigo; la concentración media de DON fue de 618  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (92). En 2003, se analizaron 297 muestras de trigo y el 24,9% estaba contaminado de DON; la concentración media de la contaminación fue de 603  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y la máxima de 8 504. Entre 1998 y 2003 se analizaron en Brasil 563 muestras de cebada, la concentración media de contaminación por DON fue de 114  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y la concentración máxima fue de 5 715  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .
31. En 2000 y 2001 se recogió en Alemania un total de 125 muestras de un grupo formado de trigo, avena, maíz, productos de maíz, plantas de maíz y maíz ensilado, de distintas fuentes del país, y se analizaron para detectar la presencia de 16 toxinas del *Fusarium*. El 94% de las muestras contenía DON (93). La incidencia de la contaminación por DON fue del 100% de todos los productos analizados, salvo el trigo (95%) y la avena (71%). La concentración media de DON en el maíz, productos derivados del maíz, plantas de maíz y maíz ensilado fue de 849, 1 626, 598 y 2 919  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente. Las concentraciones máximas fueron 3 820, 6 682, 818 y 3944  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente.
32. Entre 1994 y 2003 se recogieron y analizaron en los Estados Unidos 2 524 muestras de trigo para observar la presencia de DON (94). El 41% contenía DON en concentraciones inferiores a 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; el 18,6% contenía de  $>500$  a 1 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; el 39,8% contenía de  $>1\ 000$  a 6 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y el 0,6% 6 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . El contenido de DON presentó una considerable variación de un año a otro.
33. Entre 1994 y 2003 se recogieron y analizaron en los Estados Unidos 2 106 muestras de cebada para detectar la presencia de DON (94). El 38% contenía DON en concentraciones inferiores a 490  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; el 14,5% contenía de 490 a 990  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; el 28,5 % contenía de  $>990$  a 4 990  $\mu\text{g}/\text{kg}$  y el 18,6% presentó de 4 990 a  $>5\ 000$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ . El contenido de DON presentó una considerable variación entre los distintos años.

34. En los primeros cuatro años (2002-2005) de un proyecto quinquenal realizado en el Reino Unido para observar los factores agronómicos que repercuten en la producción de toxinas del *Fusarium*, incluido el DON, se analizaron 1 473 muestras de trigo (95). El 97% contenía menos del límite máximo establecido por la UE, de 1 250 µg/kg de DON. El lugar fue un factor importante, aunque no constante, asociado a los cambios producidos en la concentración de DON entre los distintos años. El riesgo de contaminación por DON era elevado cuando se producía una cosecha de trigo después de una cosecha de maíz. No se observó diferencia entre las concentraciones de DON en las muestras de trigo obtenidas de cultivos orgánicos y las de cultivos comunes. En el mismo período, se analizaron 630 y 488 muestras de cebada y avena para detectar la presencia de DON (95). La incidencia y la concentración de DON en la cebada y la avena fueron bajas, y sólo una muestra de cebada presentó una concentración de DON superior al límite fijado por la UE de 1 250 µg/kg.

35. Entre 1998 y 2004 se analizaron 2 924 muestras de trigo en los Países Bajos para investigar la presencia de DON (96). El contenido medio de DON del trigo fue de 580 µg/kg en 1998, que fue el año en el que se observó la contaminación más elevada de *Fusarium*. En otros años, las concentraciones promedio de DON fueron de 190 a 317 µg/kg. También se calculó el efecto de las distintas concentraciones de DON en el contenido medio de esta toxina en los lotes de trigo aprobados para la venta a las industrias de molinería.

36. En Japón se analizaron en 2001 y 2002 136 muestras de trigo descascarillado (97). El 77% de las muestras analizadas en 2001 contenía concentraciones cuantificables de DON, con un promedio de 286 µg/kg. El 95% de las muestras analizadas en 2002 tenía un contenido cuantificable de DON, con un promedio de 184 µg/kg. Además se analizaron 838 muestras de trigo descascarillado de producción nacional en 2002, 2003, 2004 y 2005; el 39% contenía cantidades cuantificables de DON, con concentraciones máximas de 2 100, 580, 930 y 230 µg/kg, respectivamente (98, 99). Los valores al percentil 90 fueron de 570, 260, 140 y 42 µg/kg, respectivamente.

37. En 2002, 2003, 2004 y 2005 se analizaron en Japón 210 muestras de cebada producida en el país para observar las concentraciones de DON. El 50% presentó un contenido máximo de DON de 4 800, 3 700, 1 800 y 460 µg/kg, respectivamente (98, 99). Los valores al percentil 90 fueron de 670, 930, 680 y 190 µg/kg, respectivamente.

38. De 2003 a 2005 se llevó a cabo un estudio de la presencia de DON en trigo cultivado en el Reino Unido para producir harina, el cual reveló que en los cultivos de trigo de este país es frecuente la presencia de esta toxina (100). Se detectaron concentraciones de DON superiores al límite de cuantificación de 10 µg/kg en el 88%, el 89,5% y el 90% de las 60 muestras de 2003, 50 muestras de 2004 y 45 muestras de 2005, respectivamente. Las concentraciones medias de DON en 2003, 2004 y 2005 fueron de 123, 114 y 113 µg/kg, respectivamente, y las concentraciones máximas observadas fueron de 1 250, 1 119 y 775 µg/kg, respectivamente.

39. En 2003 y 2004 se hizo un estudio de la presencia de DON en cebada cervecera del Reino Unido (101). Se detectó un contenido de la toxina superior al límite de cuantificación de 5 µg/kg en el 10% de las 19 muestras de 2003 y el 40% de las 40 muestras de 2004. La concentración media de DON en 2003 y 2004 fue de 5,8 y 6,9 µg/kg, respectivamente, y la concentración máxima observada fue de 13 y 28 µg/kg, respectivamente. Se detectó un contenido de deoxinivalenol superior al límite de cuantificación en el 5% y el 10% de los lotes de malta producidos con la cebada mencionada en 2003 y 2004, respectivamente. El contenido medio y máximo observado fue de 6,1 y 27 µg/kg, respectivamente, en 2003, y de 4,0 y 17 µg/kg, respectivamente, en 2004.

40. En Alemania se hizo un estudio anual de la calidad de los cereales con relación a la presencia de un grupo de micotoxinas y compuestos indeseables en el trigo, el centeno y otros cereales sin elaborar (102). Todos los años se crearon nuevos planes de muestreo estadístico para garantizar la pertinencia de los datos. Se conocía el cultivo y la variedad de las muestras precedentes. De 2001 a 2006, se analizaron 5 387 muestras tomadas de terrenos de todo el país, para observar la presencia de DON (2 443 muestras de trigo, 1 463 de centeno, 736 de triticale, 470 de cebada y 275 de avena) (103-105). Si bien se observó la presencia de DON en el 74% de las muestras de trigo, se detectó en el 64% de las muestras de centeno en los seis años del estudio. Con todo, las frecuencias y las concentraciones detectadas de DON han variado a través de los años. Por ejemplo, la concentración promedio de DON en el trigo fue de 109 µg/kg en 2004 y de 36 µg/kg en 2005. Esta variación obedece en gran medida a las distintas condiciones del clima.

## El DON en el maíz

41. *F. graminearum* es el principal hongo responsable de la *fusariosis* de la mazorca del maíz que da origen a la producción de DON y otros tricotecenos (106). Se ha informado que el maíz es el más contaminado por micotoxinas del *Fusarium* de todos los productos agrícolas (9). Las cantidades de metabolitos fúngicos, como el DON y la zearalenona, que se acumulan en los granos de maíz por lo general son más elevadas que las cantidades presentes en los granos de trigo o de cebada infectados por la misma especie de hongo. Esto se debe a que hay un mayor número de especies toxigénicas de *Fusarium* que pueden infectar las mazorcas del maíz (9). Los hongos *F. graminearum* y *F. moniliforme* son las principales especies de *Fusarium* que se presentan en el maíz en las regiones más cálidas del mundo. En las regiones más frescas del mundo predominan las especies *F. culmorum* y *F. subglutinans*.

42. Se han documentado concentraciones elevadas de DON en el maíz en muchos países (10). En estudios realizados antes de 1999, se documentaron concentraciones de hasta 927 mg/kg de DON en Polonia, 8,5 mg/kg en Nueva Zelanda, 4,09 mg/kg en Canadá y de hasta 1,83 mg/kg en Sudáfrica.

43. Se estudió el contenido de diversas micotoxinas, incluido el DON, en muestras de maíz recogidas de recipientes de almacenamiento y molinos para piensos en el norte de Italia entre 1995 y 1999 (107). El contenido de DON fue mucho más elevado en 1996 que en otros años. En ese año, las condiciones del clima extremadamente lluviosas retrasaron las operaciones de la cosecha pero propiciaron la formación de hongos productores de DON y la síntesis de la toxina. Específicamente, en 1996, el 7,7% de las muestras presentó concentraciones de DON de <500 µg/kg, el 16,4 % presentó concentraciones de 500 a 1 000 µg/kg, y el 75,9% contenía cantidades de >1 000 µg/kg. En el período de cinco años, el contenido medio y el máximo de DON fueron de 7% a 30%, y de 13% a 33%, respectivamente, expresado en porcentajes de los contenidos de 1996.

44. En 2002 se recogieron 46 muestras de maíz recién cosechado en Italia central y septentrional, y se analizaron para observar el contenido de tricotecenos del tipo B (47). Se piensa que el clima húmedo, las temperaturas frías y el retraso del momento de la cosecha fueron los factores que contribuyeron a la elevada concentración de la contaminación por DON. El DON fue el contaminante más abundante (hasta 3 430 µg/kg) y se detectó en una frecuencia del 40%. El 26% de las muestras contenían 15-acetil DON en concentraciones de hasta 3 500 µg/kg. La presencia simultánea de DON y acetil DON se observó en el 23% de las muestras.

45. En un estudio de muestras de maíz recogidas, inmediatamente después de la cosecha, en granjas situadas en distintas zonas de Italia, menos del 27% de las 93 muestras analizadas resultaron positivas de tricotecenos (108). La toxina predominante fue el DON, su concentración era de 4 a 871 µg/kg. En las muestras muy contaminadas, se detectaron además del DON cantidades considerables de monoacetatos.

46. En 1992 y 1997 se analizó en Brasil maíz destinado a piensos para aves de corral y cerdos, en muestras tomadas de lotes a granel, para observar el contenido de DON (92). Las concentraciones medias de DON aumentaron de 14,7 µg/kg en 1992 a 637 µg/kg en 1996, pero disminuyeron a 559 µg/kg en 1997. De 1994 a 1995 se analizaron en Brasil 195 muestras de maíz para elaborar alimentos, el 6,2% presentó contaminación por DON en concentraciones de 102 a 542 µg/kg. Entre 2002 y 2006 se analizó un total de 2 123 muestras de maíz. Las concentraciones medias de contaminación por DON fueron de 82 µg/kg (2002), 67 µg/kg (2003), 20 µg/kg (2004), 60 µg/kg (2005) y 119 µg/kg (2006).

47. En 1997 se llevó a cabo un estudio de maíz y trigo recogido en granjas al pie de las colinas de los Himalaya en Nepal (109). Se encontraron concentraciones de DON y nivalenol superiores a 1 000 µg/kg en el 16% de las 76 muestras de maíz y concentraciones superiores a 2 000 µg/kg en el 12% de las muestras. No se detectó DON ni nivalenol en el trigo nepalés por encima del límite de detección de 1 000 µg/kg.

48. Se analizaron 16 muestras de maíz de Indonesia para detectar la presencia de tricotecenos y otras toxinas (119). Se encontró DON, nivalenol y zearalenona en dos muestras (12%); 21, 32 y 49 µg/kg, y 169, 11 y 12 µg/kg, respectivamente. Los investigadores opinaron que éste era el primer informe de la presencia natural de micotoxinas del *Fusarium* en el maíz en Indonesia, y también el primer informe de la presencia de DON en maíz de las zonas cálidas de Asia sudoriental.

### **Estudios para reducir la concentración de DON en los cereales**

49. Se han utilizado diversos procedimientos físicos, incluidos: limpieza, lavado, cribado, separación por densidad, descascarillado, fraccionamiento con mesa de gravedad específica y pulido, por sí solos o en combinación con los procedimientos de molido, a fin de reducir la concentración de DON en los cereales. La eficacia de estos procedimientos dependió del alcance de la contaminación y de la distribución de la toxina en el cereal (111, 112). Los procedimientos de molido para eliminar el DON del trigo y otros cereales por lo general separan físicamente las capas externas más contaminadas de los granos del cereal.

50. El molido en seco es un procedimiento a través del cual los componentes de los cereales se separan en fracciones de determinado tamaño de la partícula. Las distintas fracciones, como las de los distintos tipos de harinas, conservan casi todas las características del grano original (17). Algunos estudios han demostrado que en el trigo refinado, aparecen concentraciones más elevadas de tricotecenos en la fracción del salvado que en el trigo original, y concentraciones menores en la harina blanca (112-115). Las técnicas de elaboración de las harinas pueden reducir la concentración de DON por un factor aproximado de 2 o mayor. La medida en que el molido en seco pueda reducir el contenido de DON en la harina depende del alcance de la penetración fúngica en el endosperma del grano de trigo, y de la distribución del DON dentro de los granos. El alcance de la penetración fúngica depende del cultivar de trigo (116, 117). El molido en seco de maíz contaminado por DON da por resultado la concentración de DON en la fracción de harina de germen (118).

51. El molido en húmedo es un procedimiento muy utilizado para el maíz a fin de obtener almidón, para la producción de jarabes y otros productos para consumo humano. Como el DON es muy soluble en agua, se fracciona en la fase acuosa del procedimiento de molido en húmedo, con una acumulación insignificante en el residuo sólido utilizado para productos alimentarios (17, 119).

52. Se ha probado la eficacia de numerosas sustancias químicas líquidas y gaseosas para reducir la concentración de DON en cereales contaminados. Casi todas las sustancias químicas probadas produjeron una reducción pequeña o no considerable de las concentraciones de DON (111, 112). Se observó que el bisulfito sódico reduce las concentraciones de DON en el maíz, pero no se puede utilizar directamente en los alimentos humanos porque afecta las propiedades reológicas de la harina, y las fracciones de DON que se forman no son estables y se vuelven a hidrolizar en DON en ciertas condiciones de elaboración (116).

53. Se han creado procedimientos de radiación ionizante, extrusión y tratamiento térmico que pueden reducir las concentraciones de DON en cierta medida y en condiciones muy específicas. Sin embargo, no existe un método único disponible hoy en día que pueda eliminar por completo todo el DON presente en los cereales (111, 120, 121). Sigue siendo necesario determinar con mayor precisión las condiciones óptimas de extrusión para eliminar o retirar el DON con un método práctico. Se ha observado que el ozono acuoso degrada muchos tricotecenos en productos más simples, pero la identidad y toxicidad de los productos resultantes no se han estudiado suficientemente (122).

54. Se logró reducir las concentraciones de DON en granos de trigo naturalmente contaminados tratados con vapor a altas temperaturas (123). La reducción más grande se obtuvo a 160°C y 185°C. A 185°C y en 6 minutos de tratamiento se obtuvo una reducción de hasta 52%, debido únicamente a degradación térmica y no a solubilización y extracción.

### **DON en productos elaborados**

55. El procedimiento de conversión de cereales crudos y molidos en alimentos para consumo humano repercute considerablemente en el contenido de DON en los productos terminados. Los humanos están expuestos a la contaminación por DON principalmente a consecuencia de la contaminación de los productos terminados. El DON es una molécula relativamente estable en el calor; es estable a 120°C, moderadamente estable a 180°C y parcialmente estable a 210°C. El DON es soluble en agua y estable en condiciones de poca acidez, pero no es estable en álcalis (22).

56. En Dinamarca se recogió entre 1998 y 2001, de molinos y el mercado minorista, un total de 190 muestras de harina de trigo común, trigo durum y centeno, para analizar la presencia de DON y nivalenol (14). El DON presentó una tasa de incidencia de 78% en todas las muestras de todos los años. La contaminación variaba de un año a otro. La incidencia y las concentraciones más elevadas de DON se observaron en las muestras de trigo y centeno de la cosecha de 1998, lo cual se atribuyó a la temporada agrícola extraordinariamente fría y húmeda de ese año. Las concentraciones medias en las harinas de trigo y centeno fueron de 191 y 99  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente. Se encontró DON en alrededor del 50% de las muestras de centeno recogidas entre 1998 y 2000, con una concentración media de 49  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . La harina de trigo durum presentó la contaminación más elevada por DON, y todas las muestras recogidas en 2000 y 2001 contenían DON, con medias y medianas superiores a 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Más del 70% de las muestras contenía más de 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  de DON, y la concentración más alta que se observó fue de 2 591  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

57. De 60 muestras de trigo analizadas en Argentina para observar la presencia del DON, el 93,3% resultó contaminado, y la concentración media fue de 1 798  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (124). Se analizaron 61 muestras de harina de trigo y la concentración promedio de DON fue de 1 309  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; la concentración promedio de DON en 42 productos distintos de panadería fue de 464  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Este estudio se realizó con muestras de la cosecha de trigo de 1993-1994, que experimentó una temporada lluviosa.

58. Durante los años 2001-2004 se analizó un total de 4 965 muestras de alimentos, comprados en el mercado alemán, para observar la presencia de DON (125). Se encontró DON casi en todos los alimentos que contenían cereales, con una incidencia mayor del 50%. En alimentos como distintos tipos de pan, panecillos dulces y pasta, la incidencia de la contaminación por DON fue comúnmente de entre 70% y 90%. La contaminación más elevada por DON se encontró en trigo durum y sus productos. El contenido promedio de DON fue de 2 a 10 veces más elevado que el de otros cereales frecuentemente contaminados (trigo blando, maíz y productos derivados de éstos), con concentraciones máximas de DON de 2 000 a 3 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . El promedio de las concentraciones media y mediana de DON casi en todos los productos, con pocas excepciones, fue muy inferior a las concentraciones máximas permitidas en la UE (200-750  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Se observaron diferencias cualitativas y cuantitativas relativamente menores en la contaminación de alimentos por DON entre los distintos años. No se observaron diferencias regionales, si bien la incidencia y las concentraciones eran mucho más bajas en productos orgánicos que en los de los sistemas comunes.

59. En los Estados Unidos se recogió y analizó un total de 562 productos de trigo de la campaña agrícola de 1993 (126). El porcentaje de muestras que presentó contaminación por DON superior a 1 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  en salvado, harina blanca, harina de trigo entero y muestras de productos varios para análisis fue de 12, 10, 16 y 5, respectivamente. Alrededor del 52%, 50%, 40% y 27% de las mismas muestras para análisis presentaron contaminación por DON en concentraciones de  $>100\mu\text{g}/\text{kg}$ . Los cultivos de trigo de 1993 en la región central de los Estados Unidos experimentaron condiciones de frío y humedad durante los meses de primavera y verano, que dieron por resultado concentraciones elevadas de DON en la cosecha recogida en ese año.

60. Entre 2000 y 2004 se analizó en los Estados Unidos un total de 728 productos elaborados a base de trigo (94). El porcentaje de muestras que presentó contaminación por DON superior a 1 000  $\mu\text{g}/\text{kg}$  en salvado de trigo, harina de trigo y otros productos de trigo molido fue de 17,5, 1,0 y 1,8, respectivamente. El porcentaje de las mismas muestras de análisis que contuvo más que 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  fue de 31, 37 y 36, respectivamente.

61. Se estudiaron alimentos para adultos para el desayuno a base de cereales, del mercado minorista del Canadá, a fin de investigar la presencia de diversas micotoxinas en un período de tres años iniciado en 1999/2000. De acuerdo al año, se encontró DON en del 40% al 59% de las muestras, con concentraciones medias de 10 a 70  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (127).

62. Se estudiaron alimentos para lactantes a base de cereales del mercado minorista del Canadá para investigar la presencia de diversas micotoxinas, durante un período de tres años. Se encontró DON en el 63% de las muestras con concentraciones medias de 32 a 150  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (128). En otro estudio análogo de alimentos a base de cereales para lactantes y alimentos para niños pequeños, realizado en el suroeste de Alemania, se detectó la presencia de DON en el 60% de las muestras, en concentraciones de 15 a 314  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (129).

63. En un estudio de 101 panes comerciales disponibles en el mercado alemán, realizado en 1999, se observó una incidencia de la concentración de DON, nivalenol y 3-acetildeoxinivalenol equivalente a 92%, 5% y 8%, respectivamente, con concentraciones medias en las muestras positivas de 134, 25 y 40 µg/kg, respectivamente (130). Las concentraciones de DON fueron inferiores en las muestras de pan producidas con cereales orgánicamente cultivados, en comparación con los cereales cultivados en forma ordinaria. En 2002 y 2003 se obtuvieron resultados análogos en Bélgica al observarse que la concentración de DON en trigo de cultivos orgánicos era inferior que la de trigo de cultivos comunes. También se observaron concentraciones de DON superiores al límite de cuantificación con mayor frecuencia en las harinas de trigo ordinarias que en las producidas con métodos orgánicos, aunque la concentración de la contaminación era equivalente en ambos tipos de harinas (59). Son muchos los factores que pueden contribuir a las diferencias observadas entre los cereales cultivados en forma orgánica y ordinaria y en sus productos molidos y terminados (131).

64. En 2000 y 2001 se recogieron en Alemania 219 muestras de alimentos a base de cereales, pseudocereales y alimentos exentos de glúten, de tiendas de alimentos y de alimentos naturales (132). Estas muestras se analizaron para observar 13 toxinas de tricotecnos, incluidos el DON, 3-acetil DON, 15-acetil DON y nivalenol; las incidencias de contaminación fueron del 57%, 1%, 13% y 10%, respectivamente. El contenido más alto de DON fue de 389 µg/kg, mientras que la concentración de las otras toxinas fue inferior a 100 µg/kg.

65. En 1999 se recogieron en molinos y tiendas de alimentos 60 muestras de harina blanca y harina de trigo entero, en una zona del suroeste de Alemania (83). La principal toxina que se encontró fue el DON. A partir del total de las muestras, la incidencia de DON, nivalenol, 3-acetil DON, 15-acetil DON, HT-2, T-2 y zearalenona fue de 98%, 12%, 2%, 3%, 7%, 2% y 38%, respectivamente; la concentración media de las muestras positivas fue de 199, 25, 11, 15, 12, 4 y 3 µg/kg, respectivamente.

66. En 2003 la Agencia de Normas Alimentarias recogió en el Reino Unido 335 muestras de avena del mercado minorista, que se analizaron en un período de seis meses (133). Se detectó un total de seis tricotecnos, en concentraciones de 10 a 404 µg/kg en el 52% de las muestras. Entre las toxinas más frecuente estuvieron el DON, la toxina T-2 y la toxina HT-2.

67. En un estudio del Reino Unido realizado en 2003, se analizaron 377 muestras de cereales del mercado minorista para investigar diversos tricotecnos (134). Contuvieron toxinas detectables 298 muestras (79%); el DON y el nivalenol fueron las más frecuentes. Las concentraciones más elevadas de DON se presentaron principalmente en cereales para el desayuno y aperitivos a base de maíz, de 2 261 y 879 µg/kg, respectivamente.

68. En 2002-2003 se analizaron en Japón 164 muestras de harina de trigo (97). El 85% de las muestras analizadas en 2002 contenía DON, con una concentración media de 138 µg/kg. El 74% de las muestras de 2003 contenía DON; la concentración promedio fue de 43 µg/kg. La reducción de la concentración de DON en las muestras de harina en 2003 se atribuyó a la concentración máxima provisional para el DON en trigo descascarillado fijada en mayo de 2002 por el gobierno de Japón en 1,1 mg/kg.

69. Las dependencias reglamentarias de control de los Países Bajos analizaron de 2001 a 2004 muestras de cereales y productos de cereales para investigar la presencia de DON (96). De 447 muestras analizadas de cereales sin elaborar, el 19% presentó concentraciones de DON inferiores a 100 µg/kg, el 52% contenía de 100 a 750 µg/kg, el 2% de 750 a 1 000 µg/kg, y el 3% presentó una concentración superior a 1 000 µg/kg. Se analizaron 239 muestras de harina leudante; el 91% tenía concentraciones de DON inferiores a 100 µg/kg. También se analizaron 447 muestras de pasta para observar el contenido de DON, el 95% de las muestras contuvo menos de 500 µg/kg de DON, el 4% contuvo entre 500 y 750 µg/kg y el 3% contenía más de 750 µg/kg de DON. Se observó la presencia simultánea de ocratoxina A en algunas muestras de harina y cereales sin elaborar.

70. En 1996-1997 se analizaron en Brasil 200 muestras de salvado de trigo (*farelo*). La concentración media de DON fue de 1 412 (1996) 1 506 (1997) µg/kg (92). También se analizaron 78 muestras de harina de trigo (*farinha*) entre 2001 y 2004, el 34,6% presentó contaminación por DON, con una concentración media de 284 µg/kg y una concentración máxima de 794 µg/kg. Se analizaron 72 muestras de cerveza, el 5,25% presentó contaminación por DON, con concentraciones de 50 a 336 µg/kg.

71. En 2003 se analizó en el Reino Unido un total de 218 productos de maíz, incluidos maíz dulce, maíz en mazorca, alimentos para niños pequeños, aceite de maíz, harinas de maíz, polenta, pasta de maíz, aperitivos a base de maíz y tortillas de maíz, para observar la presencia de DON (95). Casi en todas las muestras analizadas la concentración observada fue baja y sólo 5 muestras (2 de harinas de maíz, 2 de cereales para el desayuno y 1 de polenta) presentaron un contenido de DON superior a 500 µg/kg en las demás muestras.

72. Se analizaron trigo y maíz destinados a utilizarse como materia prima para piensos avícolas en Kuwait, a fin de observar la presencia de DON (135). Se detectó la presencia de DON en el 79% de las muestras de salvado de trigo y en el 91% de las muestras de maíz analizadas, en concentraciones de hasta 220 y 350 µg/kg, respectivamente. La concentración de DON en piensos preparados para la cría y el engorde de pollos para asar fue de 220 a 1 200 µg/kg, y la contaminación fue de 79% y 100%, respectivamente.

73. En el mercado minorista de Canadá se recogieron, en un período de tres años, 156 muestras de cereales para el desayuno (de maíz, avena, trigo y arroz, así como de mezclas de cereales) (136). El DON fue la micotoxina más frecuente, se encontró en el 40% de todas las muestras analizadas.

74. Entre noviembre de 2001 y enero de 2002 se recogió en tiendas de alimentos y supermercados de Sao Paulo, Brasil, un total de 78 muestras de productos elaborados a base de maíz (137). Se detectó la presencia de DON y nivalenol sólo en una de las 11 muestras analizadas de harina de maíz precocido. La concentración de DON y nivalenol estimada fue de 167 y 166 µg/kg, respectivamente. Una de las 6 muestras de sémola de maíz presentó una concentración de toxinas HT-2 y T-2 de 555 y 767 µg/kg, respectivamente.

75. En Turquía se detectó la presencia de DON en 6 de 68 muestras de cereales comercialmente elaborados (138). La cantidad máxima detectable fue de 2,67 µg/kg (ppm) en una muestra de harina de maíz; se encontraron concentraciones inferiores en maíz seco y macarrones.

76. Un estudio de 685 muestras para control de alimentos de origen europeo se analizó paralelamente para observar el contenido de DON y toxina T-2 (49). El DON fue más frecuente, con una presencia superior a 20 µg/kg en el 50% de las muestras analizadas. La concentración máxima de DON en cereales (trigo, centeno, cebada), avena, salvado y maíz/productos de maíz, fue de 2 589, 2 380, 2 690 y 1 950 µg/kg, respectivamente. Las cantidades más elevadas de toxina T-2 se observaron en las muestras de maíz (8,4 µg/kg), avena o productos a base de avena (266 µg/kg), respectivamente. Los autores concluyeron que el contenido de DON siempre se presenta en algunos órdenes de magnitud más elevados, o por lo menos en el mismo orden respecto a la contaminación por toxina T-2, independientemente de los productos o matrices.

### **Estudios sobre la reducción de la concentración de DON en alimentos elaborados**

77. Se han publicado amplias reseñas de los efectos y la eficacia de diversos procedimientos de elaboración utilizados para reducir el contenido de DON en productos de cereales molidos, cerveza y productos terminados de panadería (111, 134, 139-141).

78. Recientemente se hizo un estudio para comparar el contenido de DON en cervezas de producción orgánica y ordinaria disponibles en el mercado belga (141). Se observó que las concentraciones de DON eran de 1 a 22 µg/l (promedio = 6 µg/l) en las cervezas comunes, mientras que las cervezas orgánicas presentaron concentraciones de 2 a 14 µg/l (promedio = 4 µg/l). La incidencia general de DON fue de 67% y 80% en las cervezas de producción ordinaria y orgánica, respectivamente.

79. Se hizo un estudio reciente en Argentina para determinar la distribución del DON en diversas fracciones producidas en la molienda de trigo naturalmente contaminado, utilizando procedimientos industriales de molido (115). Las concentraciones de DON en el trigo crudo, salvado y glúten, fueron de 1 928, 994, 4 680 y 293 µg/kg, respectivamente.

80. En Argentina se evaluó la estabilidad del DON en la harina de trigo durante la etapa de fermentación en la elaboración de pan, en escala experimental (142). Utilizando harina con un contenido de 150 µg/kg de DON, fermentando la masa a 50°C, la concentración de DON resultante se redujo un 56% en el pan vienés y 49% en el pan francés. Los investigadores concluyeron que la reducción del DON durante la elaboración del pan podría obedecer a algún proceso que se produce durante la fermentación de la levadura y no sólo a descomposición térmica.

81. En Alemania se hizo un estudio detallado para determinar cómo repercute la infección de *Fusarium* en trigo, en la calidad del trigo para panadería (143). Los resultados indicaron que un contenido elevado de infección de *Fusarium* a la vez que una concentración elevada de DON no necesariamente deterioran la calidad para panadería del trigo contaminado por DON.

82. Se inició un estudio para determinar en qué medida se puede reducir la concentración de DON en diversas etapas de la elaboración de trigo durum naturalmente contaminado sin limpiar en la producción de espaguetis cocidos (13). Respecto al trigo sin limpiar, las concentraciones promedio de DON disminuyeron al 77% en el trigo limpio, 37% en la semolina, 33% en los espaguetis crudos y 20% en los espaguetis cocidos. Las concentraciones promedio de DON observadas en el análisis de salvado y salvado fino fueron de 4,1, 1,6 y 0,6 respectivamente, con relación al trigo sin limpiar. Los resultados de este estudio indican moderadamente que la pasta cocida mantiene el 25% o menos de la concentración de DON presente en los cereales.

83. En Japón se estudió la retención de DON en procedimientos de molido y producción de alimentos terminados utilizando trigo naturalmente contaminado. La harina molida mantenía del 40% al 55% de la concentración original de DON presente en el trigo crudo, y se observó casi el 200% de la concentración de DON en la fracción del salvado (144). Análisis químicos y biológicos revelaron que la concentración de DON en el pan se mantenía igual que en la harina, pero en los fideos japoneses de trigo sólo se detectó el 30% de la concentración de DON en fideos cocidos, y los sólidos presentes en el agua de cocción mantuvieron más del 40% de la concentración original de DON. A partir de estos datos y de datos del Estudio Nacional de Nutrición sobre el consumo de productos de trigo en Japón, se estimó que la exposición al DON a través de los productos finales de harina de trigo sería de entre el 60% y el 70% de la concentración de DON presente en la harina contaminada (145).

### **Estado de la reglamentación**

84. Por lo menos 37 países han establecido concentraciones reglamentarias o concentraciones de referencia para el DON en los alimentos y los piensos (146). Las concentraciones de referencia para los cereales y productos terminados de cereales destinados al consumo humano van de 100 µg/kg a 2 000 µg/kg. Las concentraciones de referencia para el DON en la alimentación de cerdos, aves de corral y bovinos van de 500 µg/kg a 10 000 µg/kg, de acuerdo a la edad de la especie animal.

### **Gestión de riesgos**

85. La incidencia y las concentraciones de DON en los cultivos cerealeros de todo el mundo varían considerablemente, de acuerdo a numerosos factores como son las condiciones ambientales, el cultivar del cereal plantado, y las prácticas agronómicas tradicionales utilizadas en los diversos países. Para la gestión del riesgo asociado a la contaminación por DON en los cereales, se requiere un enfoque de sistema integrado de gestión de riesgos. Esto incluye la gestión antes de la cosecha (comprendidas las buenas prácticas agrícolas), gestión de la cosecha (incluye el momento de la cosecha, control de la temperatura y la humedad durante el transporte y el almacenamiento de los granos) y gestión postcosecha (incluye buenas prácticas de fabricación, descontaminación y estrategias de desviación), con medidas apropiadas de control para cada etapa (147). Se necesita más información sobre la variabilidad de un año a otro en las concentraciones de DON en los cereales cultivados en muchas partes del mundo, así como sobre las pautas de consumo de diversas poblaciones.

86. En 2003, la Comisión del Codex Alimentarius adoptó un *Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas, con anexos sobre la ocratoxina A, la zearalenona, las fumonisinas y los tricotecenos* (CAC/RCP 51-2003). La aplicación de las prácticas indicadas en este documento, así como los adelantos en las técnicas de postcosecha, un secado correcto y condiciones adecuadas de almacenamiento seguidos de buenas prácticas de fabricación (BPF), pueden reducir sustancialmente las concentraciones de DON en el suministro de alimentos.

87. Recientemente se han publicado en la bibliografía científica amplias reseñas de sistemas de cultivo y prácticas agrícolas para antes y después de la cosecha, aptas para reducir o prevenir la contaminación de los cultivos de cereales por *Fusarium* (11, 148-151).

**Investigación en curso**

88. En algunos países se están investigando posibles formas de reducir las concentraciones de DON en los productos alimentarios terminados, preparados con cereales crudos que podrían estar contaminados por DON. En los estudios de este tipo es importante que los granos de cereales naturalmente contaminados (infectados en el terreno) se utilicen como material inicial porque la pauta de la infección de *Fusarium* en los granos es decisiva en la evolución posterior de las toxinas durante la elaboración (134).

89. El Ministerio de Agricultura, Bosques y Pesca de Japón financió un proyecto preliminar de investigación que tiene como finalidad detectar y clasificar granos de trigo contaminados por DON (152). Los resultados del proyecto obtenidos hasta 2006 indican que un seleccionador a todo color, que utiliza luz visible, es eficaz para eliminar los granos contaminados y reducir de esta manera el contenido de DON. En un nuevo proyecto de investigación se probará en los próximos tres años un método combinado de luz visible y luz casi infrarroja para hacer una selección más rápida y exacta.

90. En el Reino Unido se está realizando, en colaboración con la industria de los cereales, una investigación que tiene como objetivo medir las concentraciones de micotoxinas del *Fusarium*, incluido el DON, en cereales crudos (trigo, maíz y avena), y determinar posteriormente cómo repercuten las etapas principales de la elaboración de alimentos en la contaminación del producto alimentario final (95). La investigación tiene como finalidad determinar los factores que repercuten en las concentraciones de toxinas en cada etapa del procedimiento, mediante estudios de laboratorio y en escala piloto, y toma de muestras de los establecimientos de producción. El conocimiento producido por este proyecto tiene como objetivo ayudar a la industria a reducir ulteriormente la contaminación por micotoxinas. Este trabajo también contempla la formación de metabolitos y residuos combinados, así como todas las consecuencias toxicológicas derivadas de ellos. Se prevé que los resultados finales y las conclusiones de esta investigación se darán a conocer hacia fines d 2008.

91. Canadá está preparando nuevos métodos de HPLC y ELISA para el DON, basados en la modificación de los métodos actuales (153).

### Conclusiones y recomendaciones

92. Se debería alentar a los países miembros del Codex a seguir presentando datos de estudios sobre las concentraciones de DON en productos de cereales en sus países, utilizando métodos analíticos validados, y que abarquen un período de varios años a fin de que reflejen las variaciones estacionales. Estos datos se utilizarían, teniendo en cuenta las diferencias regionales en las pautas de consumo de alimentos, para determinar estimaciones de la exposición y utilizarse en la creación de una norma internacional adecuada para el DON en el trigo.
93. Se debería impulsar la investigación del mejoramiento de cultivares de los cereales (específicamente del trigo) resistentes a la formación de *F. graminearum* y *F. culmorum* y a la fusariosis consiguiente que se puede producir en el trigo, así como la investigación de estrategias susceptibles de aplicarse para ayudar a prevenir la formación de tricotecenos en los granos de los cereales.
94. Se debería impulsar y proseguir la investigación de métodos para prevenir y reducir la contaminación de los granos de los cereales en el terreno, durante el almacenamiento y la elaboración, por especies de *Fusarium*. Se necesita entender mejor la interacción entre el *Fusarium* y los granos en las infecciones sintomáticas y asintomáticas de éstos en el terreno. Se necesitan estudios para identificar y determinar la toxicidad de los productos debida la degradación y modificación química del DON y otros tricotecenos, a consecuencia de diversos procedimientos de elaboración.
95. El Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos debería postergar la elaboración de normas internacionales hasta que haya un nuevo panorama general de datos sobre exposición –que incluya más datos regionales sobre la incidencia y la concentración del DON en los cereales a lo largo de un período de varios años–, así como información adecuada sobre las pautas de consumo de diversos países.
96. Es necesario investigar la toxicidad del 3-acetil y el 15-acetil DON que se presentan simultáneamente al DON, con relación a su contribución a la toxicidad general del DON ya que a menudo se presentan en concentraciones del 10% al 20% del contenido de DON.
97. En vista de la presencia simultánea natural de DON, otros tricotecenos y zearalenona, debería hacerse más énfasis en la creación y validación de métodos aptos para detectar residuos de distintas micotoxinas simultáneas.

## Referencias

1. ALINORM 04/27/12, para.158.
2. ALINORM 05/28/12, para. 149,150.
3. ALINORM 06/29/12, para. 137,138.
4. Miller J.D., Greenhalgh, R., Wang, Y-Z. and Lu, M. Trichothecene chemotypes of three *Fusarium* species. *Mycologia* 83: 121-130, 1991. .
5. Krska, R., Baumgartner S. and Josephs, R. The state-of-the-art in the analysis of type-A and type-B trichothecene mycotoxins in cereals. *Fresenius J. Analytical Chemistry* 371:285-289, 2001.
6. Yoshizawa, T. and Jin, Y-Z. Natural occurrence of acetylated derivatives of deoxynivalenol and nivalenol in wheat and barley in Japan. *Food Addit. Contam.* 12: 689-694, 1995.
7. Ueno, Y. *Trichothecenes-Chemical Biological and Toxicological Aspects*. Elsevier Science Publishers, New York, pp.7-111, 1983
8. Ueno, Y. *Trichothecenes in food*. IN: Krogh, P. (ED). *Mycotoxins in Food*. Food Science and Technology. Academic Press, London. pp. 123-147, 1987.
9. Chelkowski, J. Distribution of *Fusarium* species and their mycotoxins in cereal grains. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha and D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp 45-64, 1998.
10. Placinta, C.M., D'Mello, J.P.F., and Macdonald, A.M.C. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science Technology* 78:21-37, 1999.
11. Champeil, A., Fourbet, J.F., Dore, T. and Rossignol, L. Influence of cropping system on *Fusarium* head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Protection* 23:531-537 2004.
12. Sutton, J.C. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Can. J. Plant Pathol.* 4:195-209, 1982.
13. Visconti, A., Haidukowski, E.M., Pascale, M.and Silvestri, M. Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking. *Toxicology Letters* 153:181-189, 2004.
14. Rasmussen, P.H., Ghorbani, F. and Berg, T. Deoxynivalenol and other *Fusarium* toxins in wheat and rye flours on the Danish market. *Food Addit. Contam.* 20(4):396-404, 2003.
15. Trigo-Stockli, D.M., Sanchez-Mariflez, R.I., Cortez-Rocha, M.O. and Pedersen, J.R. Comparison of the distribution and occurrence of *Fusarium graminearum* and deoxynivalenol in hard red winter wheat for 1993 -1996. *Cereal Chem.* 75(6):841-846, 1998.
16. Scott, P.M. Trichothecenes in grains. *Cereal Foods World* 35:661, 1990.
17. Bennett, G.A.and Richard, J.L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology* 50(5): 235-238, 1996.
18. Scott, P.M. Mycotoxins transmitted into beer from contaminated grains during brewing. *J. AOAC Int.* 79(4):875-881, 1996.
19. Schothorst, R.C. and Jekel, A.A. Determination of trichothecenes in beer by capillary gas chromatography with flame ionization detection. *Food Chem.* 82:475-479, 2003.
20. IARC. Toxins derived from *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, and *F. crookwellense*: zearalenone, deoxynivalenol, nivalenol and fusarenone X. *IARC Monograph on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans*, pp. 397-444, 1993.
21. Eriksen, G.S. and Alexander, J. (EDS). *Fusarium* toxins in cereals-a risk assessment. Nordic Council of Ministers. TemaNord 502, pp. 1-115, Copenhagen, 1998.

22. Canady, R.A., Coker, R.D., Egan, S.K., Krska, R., Kuiper-Goodman, T., Olsen, M., Pestka, J., Resnik, S., and Schlatter, J. Deoxynivalenol. IN: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additive Series 47. pp. 419-555, World Health Organization, Geneva 2001.
23. SCF (Scientific Committee on Food) Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group evaluation of T-2 toxin, HT-2 toxin, nivalenol and deoxynivalenol, adopted on 26 February 2002. European Commission SCF/CS/CNTM/MYC/27, Final.  
[http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123\\_en.pdf](http://www.europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf)
24. The EFSA Journal. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed (Question N° EFSA-Q-2003-036) Adopted on 2 June, 2004.
25. Pieters, M.N., Freijer, J.L., Baars, A.J., Fiolet, D.C.M., van Klaveren, J. and Slob, W. Risk assessment of deoxynivalenol in food. Concentration limits, exposure and effects. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:235-248, 2002.
26. Schlatter, J. Toxicity data relevant for hazard characterization. *Toxicology Letters* 153:83-89 2004.
27. Pestka, J.J. and Smolinski, A.T. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. *J. Toxicol. Environ. Health, Part B*: 39-69, 2005.
28. Cavret, S. and Lecoeur, S. Fusariotoxin transfer in animal. *Food and chem. toxicol.* 44:444-453, 2006.
29. Rotter, B.A. and Prelusky, D.B. Toxicology of deoxynivalenol (vomitoxin). *J. Toxicol. Environ. Health.* 48:1-34, 1996.
30. Eriksen, G.S. and Pettersson, H. Toxicological evaluation of trichothecenes in animal feed. *Animal Feed Science and Technology* 114: 205-2239, 2004.
31. Prelusky, D.B. Residues in food products of animal origin. IN: Miller, J.D., Trenholm, H.L. (EDS). *Mycotoxins in Grain. Compounds Other Than Aflatoxin.* Eagen Press, St. Paul, MN, pp 405-414, 1994.
32. Li, F-Q., Li, Y.W., Luo, X.Y., and Yoshizawa, T. Fusarium toxins in wheat from an area in Henan Province, PR China, with a previous human red mold intoxication episode. *Food Addit. Contam.* 19(2):163-167, 2002.
33. Henry, S.H. and Bosch, F.X. Foodborne disease and mycotoxin epidemiology. IN: Hui, Y.H., Smith, R.A., and Spoerke, D.G. (EDS). *Foodborne Disease Handbook*, Marcel Dekker, Inc. New York:, pp.593-626, 2000.
34. Meky, F.A., Turner, P.C., Ashcroft, A.E., Miller, J.D., Qiao, Y.L., Roth, M.J. and Wild, C.P. Development of a urinary biomarker of human exposure to deoxynivalenol. *Food Chem. Toxicol.* 41:265-273, 2003.
35. Speijers, G.J.A., and Speijers, M.H.M. Combined toxic effects of mycotoxins. *Toxicology Letters* 153:91-98, 2004.
36. Sudakin, D.L. Trichothecenes in the environment: relevance to human health. *Toxicology Letters.* 143, 97-107, 2003.
37. Whitaker, T.B. Sampling techniques. IN: *Methods in Molecular Biology, Vol. 157: Mycotoxin Protocols.* M.W. Trucksess and A.E. Pohland (EDS). Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp. 11-24, 2000.
38. Whitaker, T.B., Hagler, W.M., Giesbrecht, F.G. and Johansson, A.S. Sampling, sample preparation, and analytical variability associated with testing wheat for deoxynivalenol. *J. AOAC Int.* 83(5):1285-1292, 2000.
39. Lombaert, G.A. Methods for the determination of deoxynivalenol and other trichothecenes in foods. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504: 141-153, 2002.
40. Koch, P. State of the art of trichothecenes analysis. *Toxicology Letters* 153: 109-112, 2004.

41. Krska, R., Welzig, E., Berthiller, F., Molinelli, A. and Mizaikoff, B. Advances in the analysis of mycotoxins and its quality assurance. *Food Addit. Contam.* 22(4): 345-353, 2005.
42. Samar, M.M. and Resnik, S.L. Analytical methods for trichothecenes surveillance- An overview over the period 1990-2000. *Food Sci. Tech. Int.* 8(5):257-268, 2002.
43. Scott, P.M. Mycotoxin methodology. *Food Addit. Contam.* 12(3): 395-403, 1995.
44. Langseth, W. and Rundberget, T. Instrumental methods for determination of nonmacrocyclic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures. *J.Chromatogr. A*, 815:103-121, 1998.
45. Lin, L., Zhang, J., Wang, P., Wang, Y. and Chen, J. Thin-layer chromatography of mycotoxins and comparison with other chromatographic methods. *J. Chromatogr. A* 815:3-20, 1998.
46. Yoshizawa, Y. Chromatographic methods for trichothecenes. IN: *Methods in Molecular Biology*, Vol. 157: *Mycotoxin Protocols*. M.W. Trucksess and A.E. Pohland (EDS). Humana Press Inc. Totowa, N.J. pp.115-129. 2000.
47. Cavaliere, C., D'Ascenzo, G., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. and Lagana, A. Determination of type B trichothecenes and macrocyclic lactone mycotoxins in field contaminated maize. *Food Chem.* 92: 559-568, 2005.
48. Berthiller, F., Schuhmacher, R., Buttinger, G. and Krska, R. Rapid simultaneous determination of major type A- and B- trichothecenes as well as zearalenone in maize by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1062:209-216, 2005.
49. Biselli, S. and Hummert, C. Development of a multicomponent method for *Fusarium* toxins using LC-MS/MS and its application during a survey for the content of T-2 toxin and deoxynivalenol in various feed and food samples. *Food Addit. Contam.* 22(8): 752-760, 2005.
50. MacDonald, S.J., Chan, D., Brereton, P., Damant, A. and Wood, R. Determination of deoxynivalenol in cereals and cereal products by immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography: interlaboratory study. *J.AOAC Int.* 88(4): 1197-1204, 2005.
51. Cavaliere, C., Foglia, P., Pastorini, E., Samperi, R. and Lagana, A. Development of a multiresidue method for analysis of major fusarium mycotoxins in corn meal using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19(14):2085-2093, 2005.
52. Razzazi-Fazeli, E., Bohm, J., Jarukamjorn, K. and Zentek, J. Simultaneous determination of major B-trichothecenes and the de-epoxy-metabolite of deoxynivalenol in pig urine and maize using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B. Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 796:21-33, 2003.
53. Royer, D., Humpf, H-U. and Guy, P.A. Quantitative analysis of *Fusarium* mycotoxins in maize using accelerated solvent extraction before liquid chromatography/atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam* 21(7):678-692, 2004.
54. Plattner, R.D. and Maragos, C.M. Determination of deoxynivalenol and nivalenol in corn and wheat by liquid chromatography with electrospray mass spectrometry. *J..AOAC Int.* 86(1):61-65, 2003.
55. Abramovic, B., Jajic, I., Juric, V. and Gaal, F.F. Optimization of the determination of deoxynivalenol in corn by liquid chromatography and a comparison of two clean-up principles. *J. Serb. Chem. Soc.* 70(7): 1005-1013, 2005.
56. Tanaka, H., Takino, M., Sugita-Konishi, Y. and Tanaka, T. Development of a liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometric method for the simultaneous determination of trichothecenes, zearalenone and aflatoxins in foodstuffs. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 20 (9):1422-1428, 2006.
57. Klotzel, M., Lauber, U. and Humpf, H-U. A new solid phase extraction clean-up method for the determination of 12 type A and B trichothecenes in cereals and cereal-based food by LC-MS/MS. *Mol. Nutr. Food Res.* 50:261-269, 2006.

58. Stroka, J., Derbyshire, M., Mischke, C., Ambrosio, M., Kroeger, K., Arranz, I., Sizoo, E. and van Egmond, H. Liquid chromatographic determination of deoxynivalenol in baby food and animal feed: interlaboratory study. *J AOAC Int* 89:1012, 2006.
59. Pussemier, L., Pierard, J.-Y., Anselme, M., Tangni, E.K., Motte, J.-C. and Larondelle, Y. Development and application of analytical methods for the determination of mycotoxins in organic and conventional wheat. *Food Addit. Contam.* 23(11): 1208-1218, 2006.
60. Sugita-Konishi, Y., Tanaka, T., Tabata, S., Nakajima, M., Nouno, M., Nakaie, Y., Chonan, T., Aoyagi, M., Kibune, N., Mizuno, K., Ishikuro, E., Kanamaru, N., Minamisawa, M., Aita, N., Kushiro, M., Tanaka, K. and Takatori, K. Validation of an HPLC analytical method coupled to a multifunctional clean-up column for the determination of deoxynivalenol. *Mycopathologia* 161:239-243, 2006.
61. Tanaka, H., Takino, M., Sugita-Konishi, Y., Tanaka, T., Development of a liquid chromatography/time of flight mass spectrometric method for the simultaneous determination of trichothecenes, zearalenone and aflatoxins in foodstuffs, *Rapid Commun Mass Spectrom.* 20, 1422-1428, 2006.
62. Eke, Z., Kende, A. and Torkos, K. Simultaneous detection of A and B trichothecenes by gas chromatography with flame ionization or mass selective detection. *Microchemical J.* 78:211-216, 2004.
63. Eke, Z. and Torkos, K. *N,N*-dimethyl-trimethylsilyl-carbamate as a derivatizing agent in gas chromatography of trichothecene mycotoxins. *Microchemical J.* 77:43-46, 2004.
64. Melchert, H-U. and Pabel, E. Reliable identification and quantification of trichothecenes and other mycotoxins by electron impact and chemical ionization-gas chromatography-mass spectrometry, using an ion-trap system in the multiple mass spectrometry mode. Candidate reference method for complex matrices. *J. chromatogr. A* 1056:195-199, 2004.
65. Olsson, j., Borjesson, T., Lundstedt, T. and Schnurer, J. Detection and quantification of ochratoxin A and deoxynivalenol in barley grains by GC-MS and electronic nose. *Int. J. food Microbiol.* 72:203-214, 2002.
66. Jestoi, M., Ritieni, A. and Rizzo, A. Analysis of the *Fusarium* mycotoxins fusaproliferin and trichothecenes in grains using gas chromatography-mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 52:1464-1469, 2004.
67. Wilson, D.M., Sydenham, E.W., Lombaert, G.A., Trucksess, M.W., Abramson, D. and Bennett, G.A.. Mycotoxin analytical techniques. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha and D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp135-182, 1998.
68. Schneider, E., Curtui, V., Seidler, C., Dietrich, R., Usleber, E. and Martlbauer, E. Rapid methods for deoxynivalenol and other trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:113-121, 2004.
69. Zheng, M.Z., Richard, J.L. and Binder, J. A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia* 161:261-273, 2006.
70. Yoshizawa, T., Kohno, H., Ikeda, K., Shinoda, T., Yokohama, H., Morita, K., Kusada, O. and Kobayaashi, Y. A practical method for measuring deoxynivalenol, nivalenol, and T-2 + HT-2 toxin foods by an enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 68(10):2076-2085, 2004.
71. Josephs, R.D., Derbyshire, M., Stroka, J., Emons, H. and Anklam, E. Trichothecenes: reference materials and method validation. *Toxicology Letters* 153:123-132 2004.
72. Krska, R., Sente, E., Freudenschuss, M., Hametner, C. and Zoller, P. Purity assessment of commercially available crystalline deoxynivalenol. *J. AOAC Int.* 87(4): 909-919 2004.
73. Krska, R., Schothorst, R.C., van Egmond, H.P., Josephs, R.D., Lepschy, J., Pettersson, H., Chan, D., Berthiller, F., Schuhmacher, R., Kandler, W., Parich, A. and Welzig, E. Processing and purity assessment of standards for the analysis of type-B trichothecene mycotoxins. *Anal. Bioanal. Chem.* 382(8):1848-1858, 2005.
74. Bretz, M., Beyer, M., Cramer, B. and Humpf, H-U. Stable isotope dilution analysis of the *Fusarium* mycotoxins deoxynivalenol and 3-acetyldeoxynivalenol. *Mol. Nutr. Food Res.* 50:251-260,2006.

75. Bretz, M., Beyer, M., Cramer, B. and Humpf, H-U. Synthesis of stable isotope labeled 3-acetyldeoxynivalenol. *Mol. Nutr. Food Res.* 49:1151-1153, 2005.
76. Haubl, G., Berthiller, F., Krska, R. and Schuhmacher, R. Suitability of a fully <sup>13</sup>C isotope labeled internal standard for the determination of the mycotoxin deoxynivalenol by LC-MS/MS without clean up. *Anal. Bioanal. Chem.* 384:692-696, 2006.
77. Trucksess, M., Page, S., Wood, G. and Cho, T. Determination of deoxynivalenol in white flour, whole wheat flour, and bran by solid phase extraction/liquid chromatography: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 81:880-886. 1998.
78. Joseph, R.D., Schuhmacher, R. and Krska, R. International interlaboratory study for the determination of the *Fusarium* mycotoxins zearalenone and deoxynivalenol in agricultural commodities. *Food Addit. Contam.* 18(5):417-430, 2001.
79. Biselli, S., Hartig, L., Wegner, H. and Hummert, C. Analysis of *Fusarium* toxins using LC-MS-MS. Application to various food and feed matrices. *LC-GC North America*, 23 (4): 404-416, 2005.
80. Tanaka, T., Hasegawa, A., Yamamoto, S., Lee, U-S., Sugiura, Y. and Ueno, Y. Worldwide contamination of cereals by the *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone. 1. Survey of 19 countries. *J. Agric. Food Chem.* 36: 979-983, 1988.
81. Jelinek, C.F., Pohland, A.E. and Wood, G.E. Worldwide occurrence of mycotoxins in foods and feeds-an update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 72(2):223-230, 1989.
82. Abramson, D. Mycotoxin formation and environmental factors. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K.Sinha and D. Bhatnagar (EDS). Marcel Dekker, Inc., New York, pp.255-277, 1998.
83. Schollenberger, M., Jara, H.T., Suchy, S., Drochner, W. and Muller, H-M. *Fusarium* toxins in wheat collected in an area in southwest Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 72:85-89, 2002.
84. Scott, P.M., Kanhere, S.R., Dexter, J.E., Brennan, P.W. and Trenholm, H.L. Distribution of the trichothecene mycotoxin deoxynivalenol (vomitoxin) during the milling of naturally contaminated hard red spring wheat and its fate in baked products. *Food Addit. Contam.* 1(4): 313-323, 1984.
85. Berthiller, F., Dall'Asta, C., Schuhmacher, R., Lemmens, M., Adam, G. and Krska, R. Masked mycotoxins: determination of a deoxynivalenol glucoside in artificially and naturally contaminated wheat by liquid chromatography- tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 53:3421-3425, 2005.
86. Schothorst, R.C. and van Egmond, H.P. Report from SCOOP task 3.2.10 "collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU member states" Subtask:trichothecenes. *Toxicology Letters* 153: 133-143, 2004.
87. MacDonald, S., Prickett, T.J., Wildey, K.B. and Chan, D. Survey of ochratoxin A and deoxynivalenol in stored grains from the 1999 harvest in the UK. *Food Addit. Contam.* 21(2):172-181, 2004.
88. Sokolovic, M. and Simpraga, B. Survey of trichothecene mycotoxins in grains and animal feed in Croatia by thin-layer chromatography. *Food Control* 17:733-740, 2006.
89. Muller, H-M., Reimann, J., Schumacher, U. and Schwadorf, K. Natural occurrence of *Fusarium* toxins in oats harvested during five years in an area of southwest Germany. *Food Addit. Contam.* 15(7):801-806, 1998.
90. Tutelyan, V.A. Deoxynivalenol in cereals in Russia. *Toxicology Letters* 153:173-179 2004.
91. Al-Julaifi, M.Z, and Al-Falih, A.M. Detection of trichothecenes in animal feeds and foodstuffs during the years 1997 to 2000 in Saudi Arabia. *J. Food Prot.* 64(10):1603-1606, 2001.
92. Martinelli, M.A. Privileged Communication. Brazil, 2006.
93. Schollenberger, M., Muller, H-M., Rufle, M., Suchy, S., Plank, S. and Drochner, W. Natural occurrence of 16 *Fusarium* toxins in grains and feedstuffs of plant origin from Germany. *Mycopathologia* 161:43-52, 2006.
94. Wood, G.E. Privileged Communication, U.S. 2005.

95. Matthews, W. Privileged Communication. U.K. 2005.
96. Tas, W. Privileged Communication. The Netherlands, 2005.
97. Fukushima, K. Privileged Communication, Japan, 2005.
98. Fukushima, K. Privileged Communication. Japan, 2006.
99. Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries of Japan. Domestically produced cereals survey (in Japanese). April, 27, 2003, May 9, 2003, March 17, 2005 and May 23, 2006.  
[http://www.maff.go.jp/syohi\\_anzen/kabi/chosa\\_kekka.html](http://www.maff.go.jp/syohi_anzen/kabi/chosa_kekka.html) Survey.
100. Salmon, S. Monitoring of contaminants in wheat grain. Home Grown Cereals Authority Project Report No. 386, HGCA, London, 2006.
101. Baxter, D. Review of food safety issues relating to the supply and market acceptability of UK malting barley and UK malt. Home grown Cereals Authority Project Report No. 380, HGCA, London, 2006.
102. Lindhauer, M., Münzing, K., Seling, S., Betsche, T., Kersting, H.J., Masloff, S., Seifert, M. High-quality cereals through continuous quality controls. Special yield and quality assessment as an advisory instrument for agricultural and consumer policy and its target groups. Research report 2: 21-25, 2005 ([www.bmvel-forschung.de](http://www.bmvel-forschung.de)).
103. Masloff, S., Betsche, T. and Wolff, J. Evaluation of processing suitability of bread cereals in official responsibility. Mycotoxin Research 21: 94-96, 2005.
104. Masloff, S. Undesirable substances. Special yield and quality assessment 2004. Series: data analyses, BMELV, Germany, pp. 42-43, 2004 ([www.bfel.de](http://www.bfel.de)).
105. Masloff, S. Undesirable substances. Special yield and quality assessment 2005. Series: data analyses, BMELV, Germany, pp. 42-43, 2005 ([www.bfel.de](http://www.bfel.de)).
106. Abramson, D. Mycotoxin formation and environmental factors. IN: Mycotoxins in Agriculture and Food Safety. K.K.Sinha and D. Bhatnager (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, N.Y. pp 255-277. 1998.
107. Pietri, A., Bertuzzi, T., Pallaroni, L. and Piva, G. Occurrence of mycotoxins and ergosterol in maize harvested over 5 years in Northern Italy. Food Addit. Contam. 21(5):479-487, 2004.
108. Lagana, A., Curini, R., D'Ascenzo, G., De Leva, I., Faberi, A. and Pastorini, E. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the identification and determination of trichothecenes in maize. Rapid Commun. Mass Spectrom. 17(10):1037-1043, 2003.
109. Desjardins, A. E., Manandhar, G., Plattner, R.D., Maragos, C.M., Shrestha, K. and McCormick, S.P. Occurrence of *Fusarium* species and mycotoxins in Nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels. J. Agric. Food Chem. 48:1377-1383, 2000.
110. Sardjono, A.N., Yamashita, A. and Yoshizawa, T. Natural co-occurrence of aflatoxins and *Fusarium* mycotoxins (fumonisins, deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone) in corn from Indonesia. Food Addit. Contam. 15(4):377-384, 1998.
111. Jackson, L.S. and Bullerman, L.B. Effect of processing on *Fusarium* mycotoxins. Adv. Exp. Med. Biol. 459:243-261, 1999.
112. Charmley, L.L. and Prelusky, D.B. Decontamination of *Fusarium* mycotoxins. IN: Miller, J.D., Trenholm, H.L. (EDS). Mycotoxins in Grain. Compounds Other Than Aflatoxin. Eagen Press, St. Paul, MN, pp. 421-435, 1994.
113. Trigo-Stockli, D.M., Deyoe, C.W., Satumbaga, R.F. and Pedersen, J.R. Distribution of deoxynivalenol and zearalenone in milled fractions of wheat. Cereal Chem. 73(3):388-391, 1996.
114. Lee, U-S., Jang, H-S., Tanaka, T., Oh, Y-J., Cho, C-M and Ueno, Y. Effect of milling on decontamination of *Fusarium* mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol, and zearalenone in Korean wheat. J. Agric. Food Chem. 35:126-129, 1987.

115. Samar, M.M., Fontan, C.F., Resnik, S.L., Pacin, A.M. and Castillo, M.D. Distribution of deoxynivalenol in wheat, wheat flour, bran, and gluten, and variability associated with the test procedure. *J. AOAC Int.* 86(3):551-556, 2003.
116. Young, J.C., Subryan, L.M., Potts, D., McLaren, M.E. and Gobran, F.H. Reduction in levels of deoxynivalenol in contaminated wheat by chemical and physical treatment. *J. Agric. Food Chem.* 34:461-465, 1986.
117. Nowicki, T.W., Gaba, D.G., Dexter, J.E., Matsuo, R.R. and Clear, R.M. Retention of DON in wheat during processing and cooking of spaghetti and noodles. *J. Cereal Science* 8:189-202, 1988.
118. Patey, A.L. and Gilbert, J. Fate of *Fusarium* mycotoxins in cereals during food processing and methods for their detoxification. IN: Chelkowski, J. (ED), *Fusarium: Mycotoxins, Taxonomy, and Pathogenicity*. Elsevier: New York. pp.399-420, 1989.
119. Lauren, D.R. and Ringrose, M.A. Determination of the fate of three *Fusarium* mycotoxins through wet-milling of maize using an improved HPLC analytical technique. *Food Addit. Contam.* 14(5):435-443, 1997.
120. Castells, M., Marin, S., Sanchis, V. and Ramos, A.J. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. *Food Addit. Contam.* 22(2):150-157. 2005.
121. Cetin, Y. and Bullerman, L.B. Confirmation of reduced toxicity of deoxynivalenol in extrusion-processed corn grits by the MTT bioassay. *J. Agric. Food Chem.* 54:1949-1955, 2006.
122. Young, J.C., Zhu, H. and Zhou, T. Degradation of trichothecene mycotoxins by aqueous ozone. *Food Chem. Toxicol.* 44:417-424, 2006.
123. Pronyk, C., Cenkowski, S. and Abramson, D. Superheated steam reduction of deoxynivalenol in naturally contaminated wheat kernels. *Food Control* 17:789-796, 2006.
124. Pacin, A.M.; Resnik, S.L.; Neira, M.S.; Molto, G. and Martinez, E. Natural occurrence of deoxynivalenol in wheat, wheat flour and bakery products in Argentina. *Food Addit. Contam.* 14(4): 327-331, 1997.
125. Curtui, V., Brockmeyer, A., Dietrich, R., Kappenstein, O., Klaffke, H., Lepschy, J., Maertlbauer, E., Schneider, E., Seidler, C., Thielert, G., Usleber, E., Weber, R. and Wolff, J. German research project "Analysis and occurrence of important *Fusarium* toxins (Deoxynivalenol, Zearalenone) and dietary intake of these toxins by the German consumer". SANCO/2004/2884.
126. Trucksess, M.W., Ready, D.E., Pender, M.K., Ligmund, C.A., Wood, G.E. and Page, S.W.. Determination and survey of deoxynivalenol in white flour, whole wheat flour, and bran. *J. AOAC Int.* 79(4): 883-887, 1996.
127. Health Canada, Privileged Communication. 2005.
128. Lombaert, G.A., Pellaers, P., Roscoe, V., Mankotia, M., Neil, R. and Scott, P.M. Mycotoxins in infant cereal foods from the Canadian retail market. *Food Addit. Contam.* 20(5):494-504 2003.
129. Schollenberger, M., Suchy, S., Jara, H.T., Drochner, W. and Muller, H-M. A survey of *Fusarium* toxins in cereal-based foods marketed in an area of southwest Germany. *Mycopathologia* 147:49-57, 1999.
130. Schollenberger, M., Drochner, W., Ruffle, M., Suchy, S., Terry-Jara, H. and Muller, H-M. Trichothecene toxins in different groups of conventional and organic bread of the German market. *J. Food Comp. Anal.* 18: 69-78, 2005.
131. Pussemier, L., Larondelle, Y., Van Peteghem, C. and Huyghebaert, A. Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs, a tentative comparison under Belgium conditions. *Food Control* 17:14-21, 2006.
132. Schollenberger, M., Muller, H.-M., Ruffle, M., Suchy, S., Planck, S. and Drochner, W. Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 97: 317-326, 2005.
133. United Kingdom Food Standards Agency. Retail oat products survey. February 6, 2004, <http://food.gov.uk/multimedia/webpage/174922>

134. Hazel, C.M. and Patel, S. Influence of processing on trichothecene levels. *Toxicology Letters* 153:51-59 2004.
135. Beg, M.U., Al-Mutairi, M., Beg, K.R., Al-Mazeedi, H.M., Ali, L.N. and Saeed, T. Mycotoxins in poultry feed in Kuwait. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 50: 594-602, 2006.
136. Lombaert, G.A., Roscoe, V.A., Huzel, V., Neumann, G., Melietio, J., Kitchen, D., Kotello, S., Krakalovich, T., Trelka, R.W. and Scott, P.M. Mycotoxins in breakfast cereals from the Canadian retail market: Three-year survey. AGFD Abstract 121, 232<sup>nd</sup> ACS National Meeting, San Francisco, CA September 2006.
137. Milanez, T.V., Valente-Soares, L.M. and Baptista, G.G. Occurrence of trichothecene mycotoxins in Brazilian corn-based food products. *Food Control* 17:293-298, 2006.
138. Omurtag, G.Z. and Beyoglu, D. Occurrence of deoxynivalenol (vomitoxin) in processed cereals and pulses in Turkey. *Food Addit. Contam.* 20(4): 405-409, 2003.
139. Trigo-Stockli, D.M. Effect of processing on deoxynivalenol and other trichothecenes. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:181-188, 2002.
140. Wolf-Hall, C.E. and Schwarz, P.B. Mycotoxin and fermentation-beer production. *Adv. Exp. Med. Biol.* 504:217-226, 2002.
141. Anselme, M., Tangni, E.K., Pussemier, L., Motte, J.-C., Van Hove, F., Schneider, Y.-J., Van Peteghem, C. and Larondelle, Y. Comparison of ochratoxin A and deoxynivalenol in organically and conventionally produced beers sold on the Belgian market. *Food Addit. Contam.* 23(9):910-918, 2006.
142. Samar, M.M., Neira, M.S., Resnik, S.L. and Pacin, A. Effects of fermentation on naturally occurring deoxynivalenol (DON) in Argentinean bread processing technology. *Food Addit. Contam.* 18(11): 1004-1010, 2001.
143. Prange, A., Birzele, B., Kramer, J., Meier, A., Modrow, H. and Kohler, P. *Fusarium*-inoculated wheat: deoxynivalenol contents and baking quality in relation to infection time. *Food Control* 16: 739-745, 2005.
144. Sugita-Konishi, Y. Privileged Communication. Japan, 2005.
145. Sugita-Konishi, Y., Park, B.J., Kobayashi-Hattori, K., Tanaka, T., Chonan, T., Yoshikawa, K. and Kumagai, S. Effect of cooking process on the deoxynivalenol content and its subsequent cytotoxicity in wheat products. *Biosci. Biotech. Biochem.* 70:1764-1768. 2006.
146. FAO Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003, FAO Food and Nutrition Paper 81. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy ISBN 92-5-105162-3. 2004.
147. Lopez-Garcia, R. and Park, D.L. Effectiveness of postharvest procedures in management of mycotoxin hazards. IN: *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*. K.K. Sinha and D. Bhatnagar (EDS). Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 407-433, 1998.
148. Schrodter, R. Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals. *Toxicology Letters* 153:47-49, 2004.
149. Aldred, D. and Magan, N. Prevention strategies for trichothecenes. *Toxicology Letters* 153:165-171 2004.
150. Edwards, S.G. Influence of agricultural practices on *Fusarium* infection of cereals and subsequent contamination of grain by trichothecene mycotoxins. *Toxicology Letters* 153:29-35, 2004.
151. Snijders, C.H.A. Resistance in wheat to *Fusarium* infection and trichothecene formation. *Toxicology Ltrs.* 153:37-46, 2004.
152. Takafumi, I. Improvement on Wheat Flour Quality-Production of Quality Wheat Flour by Colour Sorting and Debranning. Abstract of Australasian Milling Conference – 9<sup>th</sup> Biennial Conference of the Flour Millers' Council of Australia and the Stock Feed Manufacturers' Council of Australia pp 133-138, 2006
153. Health Canada. Privileged Communication. 2006.