

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la prospección de peligros químicos de interés en seguridad alimentaria en España

Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición

Montaña Cámara Hurtado, María Pilar Conchello Moreno, Álvaro Daschner, Ramón Estruch Riba, Rosa María Giner Pons, María Elena González Fandos, Susana Guix Arnau, Ángeles Jos Gallego, Jordi Mañes Vinuesa, Olga Martín Belloso, María Aránzazu Martínez Caballero, José Alfredo Martínez Hernández, Alfredo Palop Gómez, David Rodríguez Lázaro, Gaspar Ros Berruezo, Carmen Rubio Armendáriz, María José Ruiz Leal, Jesús Ángel Santos Buelga, Pau Talens Oliag, Josep Antoni Tur Marí

Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AESAN-2018-005

Documento aprobado por la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico en su sesión plenaria de 28 de noviembre de 2018

Grupo de trabajo

Ángeles Jos Gallego (Coordinadora)

Pilar Conchello Moreno

Olga Martín Belloso

María José Ruiz Leal

Giorgiana M. Catunesco (Colaboradora externa)

Resumen

A lo largo de la cadena alimentaria pueden estar presentes, incorporarse o producirse distintos peligros de tipo químico que podrían suponer un riesgo para el consumidor.

El Comité Científico ha realizado una revisión de los peligros químicos de mayor interés para la seguridad alimentaria en España que no cuentan con una regulación específica, identificándolos y señalando aquellos alimentos o condiciones que, a priori, podrían implicar un mayor riesgo para el consumidor, con el fin de realizar, eventualmente, estudios prospectivos.

En el informe se han contemplado los siguientes peligros químicos y matrices: Cilindrospormop-sina (toxina de cianobacterias) en agua de bebida (no envasada), Cloropropanoles y Glicidol en alimentos infantiles, Furano y derivados en alimentos procesados en general y alimentos infantiles en particular, Hidrocarburos de aceites minerales, Micotoxinas producidas por hongos del género *Claviceps* en cereales y alimentos derivados, Toxinas de *Alternaria* en frutas, hortalizas, cereales y tomate, Micotoxinas de *Fusarium* (Eniáticas, Nivalenol) en cereales y Alcaloides de la pirrolizidina en alimentos infantiles, complementos alimenticios, miel, polen, té, infusiones y cereales.

De cada uno de ellos se describe su identificación y caracterización, la evaluación de la exposición, y se incluyen así mismo recomendaciones y consideraciones futuras.

Por otro lado, la identificación de nuevos peligros para los que puede producirse una exposición significativa, o la evaluación del riesgo derivado de una exposición o susceptibilidad nuevas o incrementadas significativamente a un peligro conocido es importante, no solo a efectos de un eventual control de estos peligros emergentes, sino también de promover la investigación y mejorar su conocimiento por parte de los consumidores y de la comunidad científica.

Palabras clave

Cilindropermopsina, Cloropropanol, Furano, Hidrocarburos de aceites minerales, Micotoxinas de *Claviceps*, *Alternaria* y *Fusarium*, Alcaloides de la pirrolizidina.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the prospection of chemical hazards of interest in food safety in Spain

Abstract

Along the food chain different chemical hazards may be present, incorporated or produced that could pose a risk to the consumer.

The Scientific Committee has reviewed the chemical hazards of most concern for food safety in Spain that are not specifically regulated, identifying them and drawing attention to those foods or conditions which, a priori, may involve a greater risk to consumers, with the purpose of eventually carrying out prospective studies.

The following chemical hazards and matrices have been considered in the report: Cylinderpermopsin (cyanobacteria toxin) in drinking water (not bottled), Chloropropanols and Glycidol in baby food, Furan and derivatives in processed foods in general, and particularly in baby food, Hydrocarbons of mineral oils, Mycotoxins produced by fungi of the *Claviceps* genus in cereals and derived foods, *Alternaria* toxins in fruits, vegetables, cereals and tomatoes, *Fusarium* mycotoxins (Enniatins, Nivalenol) in cereals and Pyrrolizidine alkaloids in baby food, food supplements, honey, pollen, tea, infusions and cereals.

The identification, characterisation, and exposure assessment of each are described, and recommendations and future considerations are also included.

Furthermore, the identification of new hazards which may have a significant exposure, or the risk assessment derived from a new or substantially increased exposure or susceptibility to a known hazard is important in order to not only eventually control these emerging hazards, but to also promote research and improve the knowledge of both consumers and the scientific community.

Key words

Cylinderpermopsin, Chloropropanol, Furan, Hydrocarbons of mineral oils, *Claviceps*, *Alternaria* and *Fusarium* Mycotoxins, Pyrrolizidine alkaloids.

1. Introducción

A lo largo de la cadena alimentaria pueden estar presentes, incorporarse o producirse distintos peligros de tipo químico o biológico que pueden suponer un riesgo para el consumidor.

Los programas de control oficial tratan de garantizar la realización de controles de los peligros de interés en seguridad alimentaria en función del riesgo pero sólo afectan a aquellos parámetros con límites máximos fijados en determinados alimentos.

Sin embargo, existen otros peligros de interés en seguridad alimentaria para los que no existe una regulación específica, o existe pero sólo en determinados alimentos, que pueden ser objeto de programas de prospección con el fin de obtener datos que, además de proteger al consumidor de una exposición puntual a un peligro, permitan realizar una evaluación del riesgo.

Por otro lado, la identificación de nuevos peligros para los que puede producirse una exposición significativa, o la evaluación del riesgo derivado de una exposición o susceptibilidad nuevas o incrementadas significativamente a un peligro conocido es importante, no solo a efectos de un eventual control de estos peligros emergentes, sino también de promover la investigación y mejorar su conocimiento por parte de los consumidores y de la comunidad científica.

Por ello, se ha solicitado a la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) que realice una revisión de los peligros de mayor interés en seguridad alimentaria en España que no cuenten con una regulación específica, identificándolos y señalando aquellos alimentos o condiciones que, a priori, podrían implicar un mayor riesgo para el consumidor con el fin de realizar, eventualmente, estudios prospectivos.

2. Peligros químicos

Se han contemplado los siguientes peligros químicos y matrices:

- Cilindropermopsina (toxina de cianobacterias) en agua de bebida (no envasada).
- Cloropropanoles y Glicidol en alimentos infantiles.
- Furano y derivados en alimentos procesados en general y alimentos infantiles en particular.
- Hidrocarburos de aceites minerales en todas las matrices.
- Micotoxinas producidas por hongos del género *Claviceps* en cereales y alimentos derivados.
- Toxinas de *Alternaria* en frutas, hortalizas, cereales y tomate.
- Micotoxinas de *Fusarium* (Eniatinas, Nivalenol) en cereales.
- Alcaloides de la pirrolizidina en alimentos infantiles, complementos alimenticios, miel, polen, té, infusiones y cereales.

2.1 Cilindropermopsina

2.1.1 Identificación y caracterización del peligro

La cilindropermopsina (CYN) es una toxina producida por distintas especies de cianobacterias, entre ellas *Cylindropermopsis raciborskii*, *Aphanizomenon* (actualmente *Chroococcum*) *ovalisporum*, *Anabaena lapponica*, *Aphanizomenon flos-aquae* o *Raphidiopsis curvata* (Buratti et al., 2017). Se trata de un alcaloide tricíclico derivado de la guanidina unido a un grupo hidroximetiluracilo

(Ohtani et al., 1992), con un peso molecular de 415 Daltons y una elevada solubilidad en agua (Figura 1). También se han identificado variantes estructurales como la 7-epi-CYN y la 7-deoxi-CYN (Norris et al., 1999) (Banker et al., 2000).

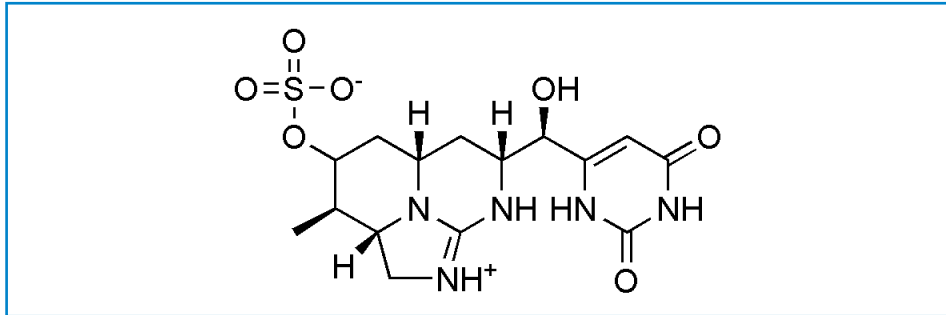


Figura 1. Estructura química de la CYN

Con respecto a su toxicidad, el hígado y el riñón son los principales órganos diana de su toxicidad aguda, aunque también produce efectos en otros órganos (Terao et al., 1994) (Falconer et al., 1999) (Seawright et al., 1999).

Presenta distintos mecanismos de acción tóxica. Así, la CYN es un potente inhibidor de la síntesis de proteínas lo que conduce a citotoxicidad (Terao et al., 1994) (Froschio et al., 2003). Además, también inhibe la síntesis de glutatión (Runnegar et al., 1995), induce la producción de especies reactivas de oxígeno, estrés oxidativo y muerte celular por apoptosis (Buratti et al., 2017). Su toxificación por acción del citocromo P450 parece que tiene un papel importante en su toxicidad (Norris et al., 2002) y es considerada una sustancia pro-genotóxica (Zegura et al., 2011), no estando aún clasificada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC).

El principal accidente de toxicidad humana asociado con CYN tuvo lugar en Palm Island (Queensland, Australia) en 1979 donde más de 100 niños de familias aborígenes tuvieron que ser hospitalizados con síntomas de hepatoenteritis (Byth, 1980). El accidente tuvo lugar tras aplicar sulfato de cobre para eliminar una floración de *C. raciborskii* en el único depósito de agua potable de la isla. Una de las razones esgrimidas para explicar la escasez de episodios tóxicos por floraciones de cianobacterias en humanos es la dificultad para establecer una relación causal cuando los síntomas son subclínicos (Buratti et al., 2017).

En la literatura científica existen diversos estudios sobre la toxicidad de CYN principalmente *in vitro* (Pichardo et al., 2017) pero también *in vivo*, en modelos experimentales de mamíferos (por ejemplo, Terao et al. (1994), de Almeida et al. (2013)) y peces (por ejemplo, Gutiérrez-Praena et al. (2012), Guzmán-Guillén et al. (2015)).

La dosis letal media (DL₅₀) de la CYN pura en ratón por vía intraperitoneal depende del tiempo de observación siendo 2,1 mg/kg p.c. tras 24 horas, y 0,2 mg/kg p.c. a las 120-144 horas (Ohtani et al., 1992). Por vía oral, la DL₅₀ fue de 4,4-6,9 mg CYN equivalentes/kg p.c. tras 2-6 días (Seawright et al., 1999). Humpage y Falconer (2003) expusieron a ratones a un extracto de cianobacterias

conteniendo CYN tanto a través del agua de bebida durante 10 semanas como por sonda gástrica durante 11 semanas y establecieron como dato de nivel sin efecto adverso observado (NOAEL) 30 µg/kg p.c./día, del que derivaron una ingesta diaria tolerable (IDT) de 0,03 µg/kg p.c./día y un valor guía en agua de 1 µg/l. No obstante, en la actualidad no existen límites legislados de CYN en agua en España.

2.1.2 Evaluación de la exposición

Se han detectado cianobacterias productoras de CYN en todos los continentes. En Europa, entre otras, *Chrysochloris ovalisporum* en España, *Anabaena laponica* en Finlandia, *Aphanizomenon flos-aque* en Alemania, *A. gracile* en Alemania y Polonia, *Anabaena planctonica* en Portugal y Francia, etc. La variedad de productores indica que esa producción no es específica de especie y que la lista de especies productoras puede seguir incompleta (Kokocinski et al., 2017). *Aphanizomenon gracile* y *A. flos-aquae* son las especies productoras de CYN más importantes en Europa (Cires y Ballot, 2016).

En cuanto a los niveles de CYN, el dato más alto del que se tiene constancia en el medio ambiente es 173 µg/l en un lago árido de Arabia Saudí (Mohamed y Al-Shehri, 2013). Rzymiski y Poniedziątek (2014) recogen una tabla con niveles máximos de CYN en aguas superficiales en distintos países, por ejemplo 12,1 µg/l en Alemania, 126 µg/l en Italia, 9,4 µg/l en España (Quesada et al., 2006), etc., superiores al valor propuesto por Humpage y Falconer (2003) de 1 µg/l. No obstante, generalmente se ha documentado la presencia de CYN en bajas concentraciones en el agua de bebida (Buratti et al., 2017). Dada su presencia en agua, la CYN también puede estar presente en alimentos como pescados, plantas y complementos alimenticios, aunque los datos al respecto son escasos (Buratti et al., 2017).

La exposición humana a CYN puede tener lugar principalmente por vía dérmica a través del baño y actividades recreativas en agua contaminada, y por vía oral al ingerir agua y alimentos contaminados o tragar agua durante actividades acuáticas.

Existen distintas técnicas analíticas que permiten detectar y/o cuantificar CYN en distintas matrices (agua, alimentos), tales como el ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), la cromatografía líquida con detector de ultravioleta (LC-UV) o la cromatografía líquida asociada a espectrometría de masas (LC-MS/MS), considerándose ésta como la de elección. Hay disponibles protocolos publicados para su identificación y cuantificación (Guzmán-Guillén et al., 2012) (Triantis et al., 2017), existiendo además estándares comerciales aunque no materiales de referencia certificados.

2.1.3 Consideraciones futuras

Se espera una mayor incidencia de floraciones de cianobacterias (productoras o no de cianotoxinas) tanto en número como en distribución por distintos motivos, tales como su plasticidad genotípica, el cambio climático y la eutrofización de las aguas. De hecho, CYN fue identificada en aguas superficiales por primera vez en el año 2000 en Alemania, en 2004 en España e Italia, en 2006 en Francia, etc. (Rzymiski y Poniedziątek, 2014) indicativo de la naturaleza emergente de este tipo de peligro.

Actualmente la CYN no es un parámetro a controlar según el Real Decreto 140/2003, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano (BOE, 2003), que sí incluye a otra cianotoxina, la microcistina con un valor de 1 µg/l (el mismo propuesto por Humpage y Falconer (2003) para CYN). La determinación de la misma sólo es preceptiva realizarla cuando exista sospecha de eutrofización en el agua de la captación, a la salida de la estación de tratamiento de agua potable o depósito de cabecera.

Recientemente, Testai et al. (2016) publicaron un informe científico externo para la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en relación al análisis de la presencia, exposición y toxicidad de las toxinas de cianobacterias en alimentos. Con respecto a la CYN se indica que son necesarios más datos toxicológicos, principalmente en lo que concierne a su genotoxicidad, a partir de los que se puedan derivar valores guía en salud. La bibliografía científica también establece la necesidad de monitorizar de forma sistemática la presencia de CYN en los embalses.

2.2 Cloropropanoles y Glicidol

Los cloropropanoles integran un grupo de contaminantes químicos derivados del glicerol que se forman durante el procesado y elaboración de determinados alimentos e ingredientes.

Estructuralmente los cloropropanoles están formados por una cadena de tres átomos de carbono, átomos de cloro y grupos alcohol. Los cloropropanoles que se encuentran habitualmente en los alimentos se distinguen entre sí por el número de átomos de cloro, de grupos hidroxilo y de su posición en la molécula: 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD), 2-monocloropropano-1,3-diol (2-MCPD), 1,3-dicloropropanol (1,3-DCP), 2,3-dicloropropanol (2,3-DCP), y 3-cloropropan-1-ol. El 3-MCPD es el contaminante más común del grupo de los cloropropanoles en los alimentos, seguido de 2-MCPD mientras que el compuesto 2,3-DCP se encuentra generalmente en los alimentos en concentraciones mucho más bajas que el 1,3-DCP y 3-cloropropan-1-ol.

Se conocen diferentes rutas de formación en los alimentos:

a. Hidrólisis ácida de proteínas vegetales (PVH-ácido)

El 3-MCPD se detectó por primera vez en proteína vegetal hidrolizada mediante hidrólisis ácida (PVH-ácido) que es un ingrediente muy utilizado como acentuador del aroma en productos alimenticios procesados (Velíšek et al., 1978). En este proceso las proteínas (proteínas de maíz, trigo, caseína, levadura y arroz) son sometidas a un proceso de hidrólisis con ácido hidrocórico (a una temperatura entre 70 y 135 °C), el cual reacciona también con triglicéridos, fosfolípidos y glicerol presentes en la materia prima, dando lugar a la formación de cloropropanoles. Igualmente se encuentran en salsa de soja y condimentos afines, cuyo proceso de fabricación incluye el tratamiento del grano de soja con ácido hidrocórico. En este mecanismo, se propone la formación de un epóxido (glicidol) como producto intermedio de reacción.

b. Procesado térmico de los alimentos

Posteriormente los cloropropanoles se han detectado también en cantidades más pequeñas en otros alimentos que no son sometidos a hidrólisis ácida durante la fabricación, como productos a

base de cereales y de panadería, carnes procesadas, pescado ahumado, cerveza y café (Crews et al., 2002). Se ha demostrado que se puede formar 3-MCPD cuando se someten alimentos que contienen lípidos y cloruro de sodio a una elevada temperatura, tales como los productos de pan y bollería (JECFA, 2006). También el cocinado/asado a la parrilla (tratamiento a alta temperatura) puede dar lugar a alguna formación de 3-MCPD en los alimentos. Hamlet et al. (2004a) proponen la formación de 3-MCPD cuando el glicerol reacciona con el cloruro sódico en presencia de otros ácidos, tales como ácido cítrico y acético, a temperatura elevada. Asimismo, se ha sugerido que el uso de la sucralosa en productos horneados puede conducir a la formación de cloropropanoles mediante la pirólisis del edulcorante sintético sucralosa, un compuesto policlorado, en presencia de glicerol (Rahn y Yaylayan, 2010). En alimentos procesados térmicamente, la formación y estabilidad del 3-MCPD depende del pH y temperatura a la que se expone el alimento, de hecho se ha comprobado que aditivos como el bicarbonato de sodio pueden inhibir su formación o acelerar su degradación (IFST, 2011).

c. Migración de materiales en contacto con los alimentos

Existe otra vía de contaminación alimentaria documentada por migración de 3-MCPD de resinas de poliamida-epiclorhidrina resistentes a la humedad presentes en cubiertas de papel y celulosa de uso alimentario (Pace y Hartman, 2010). No obstante, el desarrollo y utilización de resinas con niveles más bajos de 3-MCPD hace suponer que la exposición al 3-MCPD a partir de esta fuente seguirá disminuyendo.

d. Hidrólisis de ésteres de ácidos grasos de 3-MCPD

Por otra parte, diversos estudios describen una nueva fuente de 3-MCPD a partir de los ésteres del 3-MCPD (3-MCPDE) presentes en diversos productos alimenticios, puesto que de ellos se puede liberar 3-MCPD *in vivo* por la reacción de hidrólisis catalizada por la enzima lipasa. Estos estudios sugieren que las exposiciones al 3-MCPD liberado de sus ésteres son significativamente superiores a las observadas por el 3-MCPD en forma libre. Actualmente se acepta la hipótesis de un equivalente biodisponibilidad de 3-MCPD en forma libre y en forma de éster (EFSA, 2013).

Al igual que el 3-MCPD, sus ésteres se producen en los alimentos procesados a altas temperaturas, que tienen bajo contenido en agua, altos niveles de cloruro sódico y se almacenan durante largos períodos (FAO, 2007). Hamlet et al. (2004b) encontraron este tipo de ésteres en cereales procesados y mostraron que podían ser generados como intermedios estables o como productos de formación a partir de mono y diacilglicerol. Asimismo, diversos estudios han puesto de manifiesto la presencia de niveles significativos de ésteres de 3-MCPD en los aceites y grasas comestibles refinados y productos elaborados con ellos (BfR, 2007) (FSA, 2009) (EFSA, 2016). Estos se forman por reacción de los ácidos grasos libres presentes en los aceites y grasas con 2- y 3-MCPD. Dependiendo del ácido graso se pueden formar 14 monoésteres y 49 diésteres diferentes de 3-MCPD.

Por otra parte, el glicidol es un compuesto orgánico formado por un anillo epóxido y un grupo alcohol (2,3-Epoxy-1-propanol) considerado genotóxico y carcinógeno. Fue detectado por primera vez en aceite de palma y en cantidades más pequeñas en otros aceites refinados (Weibhaar y Pertz,

2010). Durante el proceso de refinado de los aceites, principalmente durante la fase de desodorización, reacciona con los diglicéridos generando ésteres del ácido graso glicidil (GE), los cuales se hidrolizan en el tracto gastrointestinal en su precursor glicidol.

Los estudios para dilucidar el mecanismo de formación de estos compuestos tóxicos esterificados muestran que en alimentos procesados térmicamente con baja actividad de agua y que contienen grasa, el 3-MCPD y sus ésteres se forman a partir de glicerol o/y acilgliceroles (triacilgliceroles y diacilgliceroles) e iones cloruro, mientras que los GE se forman principalmente a partir de diacilgliceroles o monoacilgliceroles independientemente de la presencia de compuestos clorados. La formación de 3-MCPDE tiene lugar a temperaturas de 160-200 °C y el proceso de formación no se acelera a temperaturas más elevadas, mientras que la formación de GE se inicia a >200 °C, viéndose incrementada de manera exponencial a una temperatura creciente cuando los diacilgliceroles superan en un 3-4 % los lípidos totales.

La mayor parte de aceites no refinados no contienen niveles detectables de 3-MCPDE ni GE sin embargo, tienen distintas capacidades para formar 3-MCPDE y GE durante la desodorización del proceso de refinado. Entre los factores que contribuyen a esta variación se incluyen el clima, el terreno y las condiciones de cultivo de las plantas, su genotipo, las técnicas de recogida y las condiciones de procesamiento, que afectan, todos ellos, a los niveles de precursores de 3-MCPDE y GE (acilgliceroles y compuestos que contienen cloro). En general, los niveles de 3-MCPDE y GE en alimentos elaborados con aceites refinados se corresponden con las concentraciones de 3-MCPDE y GE en los propios aceites. En la actualidad preocupa especialmente la presencia de estos compuestos en fórmulas infantiles.

2.2.1 Caracterización toxicológica

La presencia de cloropropanoles en los alimentos es preocupante debido a sus propiedades toxicológicas. En el momento actual no se dispone de suficiente información toxicológica sobre los cloroésteres y GE en los alimentos para poder evaluar su importancia sobre la salud. Sin embargo, los datos toxicocinéticos indican que los 3-MCPDE y GE se descomponen en sus formas no esterificadas, por lo que las evaluaciones toxicológicas llevadas a cabo se basan en el 3-MCPD y el glicidol, compuestos para los que se dispone de datos toxicológicos (JECFA, 2016).

El 3-MCPD ha sido clasificado como posible agente carcinógeno (Grupo 2B) por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2012), al provocar infertilidad y disminución en la actividad del sistema inmunológico en ratas de experimentación, lo que provoca cáncer de testículo y de riñón. La evaluación llevada a cabo en 2001 por el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) reunió los estudios de toxicidad a corto y largo plazo concluyendo que el riñón y los testículos son los órganos diana y demostrando su actividad mutagénica *in vitro* en ausencia de estudios clínicos o epidemiológicos en humanos (JECFA, 2001). Por el contrario, el 2-MCPD no ha sido evaluado por la IARC y hasta la fecha no se ha confirmado su potencial toxicológico (efectos en los músculos estriados, corazón, riñón e hígado).

En relación al 1,3-DCP, JECFA concluyó en 1993 que es cancerígeno y que se debería reducir su contenido en los alimentos tanto como fuera posible. Actualmente se reconoce que tiene hepato-

toxicidad, nefrotoxicidad, neurotoxicidad, teratogénesis y mutagenicidad (Lu et al., 2014), además muestra similitudes de estructura-actividad con otros conocidos carcinógenos identificados por la IARC, y ha sido clasificado como posiblemente cancerígeno para los seres humanos (grupo 2B) (IARC, 2012). Hoy en día, el interés de su estudio se debe a su potencial tóxico como carcinógeno a través de mecanismo genotóxico, y a que actúa como un disruptor endocrino en los seres humanos y animales. El 2,3-DCP además de toxicidad testicular, hepática y renal produce efectos de inmunotoxicidad en las células T tanto *in vivo* como *in vitro* (Lu et al., 2013).

En 2001, JECFA asignó provisionalmente un valor máximo tolerable de ingestión diaria por kg de peso (IDTMP) de 2 µg de 3-MCPD basándose en el nivel más bajo con efecto observado (LOEL) y un factor de seguridad de 5 para la extrapolación desde el LOEL hasta el nivel sin efecto observado (NOEL) (JECFA, 2001), dicho valor fue ratificado en 2006 (JECFA, 2006). Posteriormente, JECFA determinó una ingesta diaria tolerable máxima provisional (IDTMP) de 4 µg/kg p.c. para el 3-MCPD y los 3-MCPDE (de forma individual o combinada, expresada como equivalentes del 3-MCPD) con base en la hiperplasia tubular renal en ratas macho (JECFA, 2016).

Por su parte, el Comité Científico de la Alimentación Humana (SCF) adoptó en 2001 una ingesta diaria tolerable (TDI) de 2 µg/kg p.c. para el 3-MCPD (SCF, 2001). En 2016, el Panel Científico sobre Contaminantes en la Cadena Alimentaria (CONTAM) de EFSA concluyó que no era posible mantener la TDI previamente establecida para el 3-MCPD y determinó una ingesta diaria tolerable (IDT) de 0,8 µg/kg p.c./día para la suma de 3-MCPD y sus ésteres de ácidos grasos basándose en la evidencia científica que vincula esta sustancia con nefrotoxicidad en ensayos de experimentación animal (EFSA, 2016). Ante la divergencia de opinión con JECFA, EFSA ha revisado dicho valor y basándose en el nuevo enfoque "Benchmark dose" (BMDL₁₀ de 0,20 mg/kg p.c./día para efectos renales) ha establecido una TDI de 2 µg/kg p.c./día, más cercana a la posición de JECFA, a la vez que recomienda la realización de estudios adicionales para confirmar la toxicidad del 3-MCPD (EFSA, 2018).

Por otra parte, el glicidol ha sido clasificado como probable agente carcinogénico (Grupo 2A) por la IARC (2000). Actualmente se considera probado que el glicidol, precursor del GE, es genotóxico y cancerígeno, por lo que no se puede establecer un nivel de seguridad para la ingesta de ésteres de ácidos grasos de glicidilo (expresados como glicidol). En su lugar JECFA aplica la aproximación del margen de exposición (MOE) calculado a partir del límite más bajo de confianza en la dosis de referencia BMDL₁₀ de 2,4 mg/kg p.c./día para los mesoteliomas en ratas macho mientras que EFSA ha usado la T₂₅ de 10,2 mg/kg p.c./día para los efectos neoplásicos en ratas como punto de referencia toxicológico, considerándose que un margen de exposición inferior a 10 000 y 25 000, respectivamente es preocupante para la salud (EFSA, 2016) (JECFA, 2016).

2.2.2 Evaluación de la exposición y riesgo para la población infantil

Diversos informes científicos publicados en los últimos años ponen de manifiesto la presencia de cloropropanoles y cloroésteres en los alimentos. La opinión publicada por el Instituto Alemán de Evaluación de Riesgos (BfR) sobre ésteres de 3-MCPD concluyó la existencia de altos niveles de ésteres de 3-MCPD en grasas y aceites vegetales refinados, aceites de fritura, crema de avellanas y en preparados infantiles (BfR, 2007). El informe de la Agencia Británica de Seguridad Alimentaria

(FSA) señaló que los contenidos más altos de 3-MCPD se encontraron en las galletas y pastas (FSA, 2009). El Instituto Internacional de Ciencias de Salud (ILSI) publicó datos que relaciona la presencia de ésteres de 3-MCPD con alimentos derivados de cereales, café, pescado, carne, patatas, frutos secos y aceites refinados (ILSI, 2011). La opinión científica publicada por EFSA (2016) señaló que los valores promedio más altos de GE, así como 3-MCPD y 2-MCPD y sus ésteres se encontraron en los aceites de palma y en las grasas de palma y que eran 5 a 10 veces más altos que los valores promedio encontrados en la mayoría de los demás aceites comestibles refinados.

Los estudios más recientes han concluido que la exposición de la población a los 3-MCPDE y GE se produce principalmente por consumo de aceites vegetales refinados y productos alimenticios que los contengan (productos de patata y productos de panadería fina), incluyendo preparados para lactantes.

En la Unión Europea (UE), la evaluación de los datos analíticos sobre la presencia de 3-MCPD/GE en los alimentos aportados por diversos países demostró que los aceites comestibles aportaban la mayor contribución a la ingesta diaria de estos contaminantes y que las margarinas, y los productos de bollería y pastelería eran las principales fuentes de exposición a dichos contaminantes químicos para la población infantil a partir de 3 años y para la población joven. Asimismo, se estimó para niños alimentados exclusivamente con fórmulas infantiles una ingesta diaria promedio de 2,4 mg/kg p.c. y de 1,8 a 2,1 mg/kg p.c. para el 3-MCPD y glicidol, respectivamente (EFSA, 2013, 2016). De acuerdo a la última evaluación de la exposición estimada por EFSA (2018), la exposición media al 3-MCPD y a sus ésteres no se excede en la población adulta mientras que se encuentra por encima de su estimación de una dosis segura en los grupos de edades jóvenes de mayor consumo, incluyendo adolescentes (hasta los 18 años de edad), y en particular para los lactantes que consumen solamente fórmulas infantiles. Para este grupo poblacional la ingesta diaria de 3-MCPD puede ser tres veces superior a la IDT, constituyendo por ello una preocupación potencial para la salud de dichos grupos de población.

Por su parte, JECFA (2016) concluyó que la exposición alimenticia estimada al 3-MCPD para la población general, incluso para los grandes consumidores, no excedía su dosis segura. Sin embargo, la media de la exposición alimentaria al 3-MCPD de los grupos alimentados con preparados para lactantes excedía la IDTMP 2,5 veces.

Respecto al glicidol, tanto EFSA (2016) como JECFA (2016) han encontrado evidencia científica de que es genotóxico y cancerígeno, y suponiendo una conversión completa de los ésteres en glicidol después de la ingestión, ambos organismos han propuesto un margen de exposición (MOE) alto a estos compuestos para no afectar a la salud del consumidor. JECFA (2016) estimó que los límites más bajos de los rangos de los MOE determinados para los lactantes, niños y adultos (inferiores a 10 000) puede suponer un problema de salud, y EFSA (2016) concluyó que los GE son una preocupación potencial para la salud de los grupos de edad de jóvenes con una exposición promedio, y para todos los grupos de edad con una alta exposición, y que la exposición de los lactantes que consumen exclusivamente fórmulas infantiles es especialmente preocupante por la presencia de aceites vegetales en dichas fórmulas (MOE de 5 400 y 2 100 para una exposición promedio y alta exposición, respectivamente).

Las fórmulas infantiles como sustitutos de la leche materna se elaboran a partir de aceites vegetales para conseguir un perfil cualitativo y cuantitativo de ácidos grasos similar a la leche materna. Sin embargo, la información disponible sobre la presencia de cloropropanoles y cloroésteres en estos productos que constituyen la base de la dieta de los lactantes aún es muy limitada.

En general los resultados publicados hasta la fecha aportan las siguientes conclusiones: aunque no se detecta 3-MCPD libre el contenido de MCPDE y GE encontrado en fórmulas infantiles comercializadas constituye un riesgo potencial para la salud de los lactantes; se ha observado una variación importante en los niveles de 3-MCPDE y GE en los preparados para lactantes que puede deberse a los tipos de aceites empleados en estos preparados; el contenido más alto determinado para ésteres glicídicos de ácido palmítico y oleico es consistente con la composición de la leche infantil en estos ácidos grasos a partir de los aceites vegetales refinados añadidos; los ésteres de 2-MCPD se encuentran en una concentración equivalente a la mitad de los ésteres de 3-MCPD; se observa una tendencia de reducción de la concentración en el tiempo lo que sugiere la posibilidad de implantar medidas de mitigación en el proceso de elaboración (Zelinková et al., 2009) (Becalski et al., 2015) (Wöhrlin et al., 2015) (Jędrkiewicz et al., 2016) (Leigh y MacMahon, 2017) (Pavesi et al., 2017).

2.2.3 Estrategias de gestión del riesgo

Según lo establecido en la Recomendación 2014/661/UE, la industria ha ido adaptando sus procesos para el control de la presencia de 2- y 3-MCPD, de ésteres de ácidos grasos de 2- y 3-MCPD y de ésteres glicídicos de ácidos grasos en los alimentos (UE, 2014). Así, diversas organizaciones como la Federación europea de la industria aceitera (FEDIOL, 2015) y la Federación Alemana de Derecho Alimentario y Ciencia de los Alimentos (BLL, 2016) han desarrollado pautas para reducir los 3-MCPDE y GE en aceites refinados y en alimentos que los contienen.

En 2008, el *Codex Alimentarius* estableció un Código de prácticas (CAC/RCP 64-2008) relativo a los 3-MCPD en proteínas vegetales hidrolizadas mediante ácido y recientemente, el Comité del *Codex* sobre contaminantes de los alimentos (CCCF, 2018) ha presentado un anteproyecto de Código de prácticas para reducir los ésteres de 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPDE) y los ésteres glicídicos (GE) en los aceites refinados, especialmente en los preparados para lactantes, basado en tres estrategias de gestión: buenas prácticas agrícolas, buenas prácticas de fabricación, y selección y usos de los aceites refinados en productos alimenticios elaborados a partir de estos aceites, incluyendo los preparados para lactantes. En relación a esta última se recomienda seleccionar aceites vegetales refinados con niveles más bajos de 3-MCPDE y GE (ya sea por su menor contenido natural o por la aplicación de medidas de atenuación) y reducir la cantidad de aceites vegetales refinados en los productos terminados aunque esto podría afectar a las cualidades organolépticas o nutricionales de los productos terminados.

En la UE se establecieron en primer lugar niveles máximos permitidos de 20 µg/kg para proteína vegetal hidrolizada y salsa de soja (Reglamento (CE) N° 1881/2006 (UE, 2006)). Dicho Reglamento ha sido modificado recientemente por el Reglamento (CE) N° 2018/290 (UE, 2018) que añade los límites de los ésteres glicídicos de 1 000 µg/kg para cualquier aceite y grasa vegetal disponible en el mer-

cado, bien para consumo directo, bien para su uso como ingrediente en alimentos, y de 500 µg/kg en el caso de aceites y grasas vegetales destinados a la producción de alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad. Asimismo, considerando el riesgo de exposición de los lactantes únicamente alimentados con preparados para lactantes, se limita el contenido máximo de ésteres glicidílicos de ácidos grasos expresados como glicidol a 50 µg/kg y 6 µg/kg en preparados para lactantes, preparados de continuación y en alimentos para usos médicos especiales, en polvo y líquido respectivamente. No obstante, la Comisión considera que es preciso reducir aún más la presencia de GE en estos alimentos una vez que se disponga de metodología fiable para determinar contenidos más estrictos.

Por otra parte, la UE ha establecido para la epiclorhidrina un límite máximo de migración específica en materiales y plásticos destinados a entrar en contacto con los alimentos de 1 mg/kg (UE, 2011).

El Reglamento (CE) N° 333/2007 (UE, 2007) establece requisitos de muestreo para el control oficial sobre el contenido de 3-MCPD en alimentos, si bien no se ha establecido a nivel comunitario ningún método específico para la determinación de 3-MCPD en productos alimenticios, por lo que los laboratorios podrán escoger cualquier método de análisis validado (a ser posible, la validación incluirá un material de referencia certificado), siempre que el método seleccionado cumpla los criterios de funcionamiento específicos.

Para determinar el MCPD y el glicidol ligados en forma de ésteres, la Comisión (UE, 2014) recomienda utilizar los métodos normalizados de la *American Oil Chemists' Society* (AOCS). Estos métodos basados en la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) han sido validados por un estudio colaborativo en relación con los aceites y grasas vegetales. Se recomienda que el límite de cuantificación no sea superior a 100 µg/kg para el análisis de MCPD y glicidol ligados en forma de ésteres de ácidos grasos en los aceites y grasas comestibles. En el caso de otros alimentos que contengan más de un 10 % de grasa, es preferible que el límite de cuantificación no sea superior cuando esté relacionado con el contenido en grasas del alimento, es decir, el límite de cuantificación para el análisis de ésteres de ácidos grasos de MCPD y glicidol en los alimentos que contengan un 20 % de materia grasa no debe ser superior a 20 µg/kg en relación con el peso total. En el caso de los alimentos que contengan menos de un 10 % de materia grasa, el límite de cuantificación no debe ser superior a 10 µg/kg en relación con el peso total. Asimismo, los laboratorios deben disponer de procedimientos de control de calidad para evitar que, durante el análisis, los ésteres glicidílicos se transformen en ésteres de MCPD y viceversa. Además, es necesario especificar inequívocamente el mensurando e informar por separado sobre el 2- y el 3-MCPD libres presentes en la matriz analizada que procedan de ésteres de ácidos grasos de 2- y 3-MCPD, pues ambos se miden como 3-MCPD. Debe informarse por separado sobre los mensurandos siguientes: 2-MCPD, 3-MCPD, ésteres de 2-MCPD, ésteres de 3-MCPD y ésteres glicidílicos.

El análisis de los diversos mono y diésteres 3-MCPD y ésteres glicidílicos es muy complejo y para su determinación en los alimentos se dispone de métodos analíticos directos e indirectos.

Los métodos indirectos requieren la hidrólisis alcalina o ácida de los ésteres de los ácidos grasos del glicidol o el MCPDE antes medir la cantidad total de 3-MCPD y de glicidol sin diferenciar los

tipos de éster mediante GC-MS. Tienen la ventaja de proporcionar límites de detección muy bajos pero exigen un control de las condiciones de análisis debido a la capacidad del 3-MCPD y glicidol de interconvertirse fácilmente. La AOCS (AOCS, 2013a, b, c) ha establecido tres métodos indirectos interlaboratorios validados para determinar los 3-MCPDE y GE en aceites y grasas comestibles (Métodos Cd 29a-13, Cd 29b-13, y Cd 29c-13) y recientemente el *Joint Research Center* (JRC) ha publicado el estudio de validación de un método de análisis de MCPDE y GE en diversas matrices alimentarias (productos de panadería, pescado ahumado, carne ahumada, margarina, productos a base de cereales) (JRC, 2017).

La determinación directa de ésteres 3-MCPD y ésteres glicidílicos se basa en un aislamiento de los analitos generalmente por extracción en fase sólida y la identificación individual de cada uno de ellos mediante HPLC-MS. Estos métodos proporcionan un menor grado de incertidumbre en la cuantificación de los analitos pero exigen una gama de estándares de referencia que aún no se encuentran disponibles para todos los tipos de ésteres. Actualmente se dispone de un método directo para cuantificar siete ésteres glicidílicos (C12-C18), usando dos operaciones consecutivas de extracción en fase sólida seguidas de LC-MS basada en una reciente versión de AOCS (*American Oil Chemists' Society*) (Eurofins). Haines et al. (2011) desarrollaron un método directo para la determinación de ésteres de 3-MCPD y de glicidol en aceites y grasas comestibles basado en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de tiempo de vuelo (LC-TOFMS).

Para alimentos que contengan aceites refinados, especialmente fórmulas infantiles, se han validado pocos métodos, tanto directos como indirectos. Recientemente se ha publicado la validación de un método para la determinación de ésteres 3-MCPD concretos y ésteres glicidílicos en fórmulas infantiles basado en una extracción líquido-líquido de la grasa, purificación mediante extracción en fase sólida y posterior cuantificación por LC-MS/MS (Leigh y MacMahon, 2016).

2.2.4 Pasos futuros

La información toxicológica disponible sobre el 2-MCPD es demasiado limitada para establecer un nivel seguro de ingesta.

Hacen falta más datos sobre la presencia de ésteres de ácidos grasos de MCPD y de ésteres glicidílicos de ácidos grasos en fórmulas infantiles y alimentos para lactantes para abordar una evaluación más exacta de la exposición.

A pesar de los avances logrados, EFSA insiste en la recomendación de una reducción significativa de 3-MCPD/GE en los productos alimenticios para lactantes, y JECFA viene recomendando que se haga lo posible para reducir los 3-MCPDE y al 3-MCPD en los preparados para lactantes y que se continúen las medidas para reducir los GE y el glicidol en grasas y aceites, especialmente los empleados en los preparados para lactantes.

2.3 Furano y derivados

2.3.1 Identificación y caracterización del peligro

El furano (C₄H₄O; CAS No. 110-00-9) es un compuesto orgánico heterocíclico aromático con un átomo de oxígeno, es lipofílico y muy volátil con una temperatura de ebullición de 32 °C. Es un líquido

transparente e incoloro que se obtiene industrialmente mediante la descarbonilación catalítica del furfural y se utiliza como intermediario en la producción de sustancias químicas para la industria y la agricultura (producción de lacas, como disolvente para resinas, insecticidas, estabilizantes y productos farmacéuticos).

Además de su aplicación industrial, el furano y sus derivados metilfurano (2-metilfurano, 3-metilfurano y 2,5-dimetilfurano) forman parte de un grupo de compuestos orgánicos que se forman de manera natural en alimentos procesados a altas temperaturas o por exposición a radiación ionizante o ultravioleta. Dichos compuestos se asocian desde hace mucho tiempo a los aromas de los alimentos (FAO/OMS, 2011).

En 2004, la *Food and Drug Administration* (FDA) informó de su presencia en alimentos enlatados y envasados en vidrio (alimentos para bebés, preparados para lactantes, hortalizas en conserva, frijoles horneados, sopas, salsas, estofados y carnes y pescados en conserva) y posteriormente en una gran variedad de alimentos sometidos a procesos térmicos como café, cerveza, zumos de fruta y de hortalizas, salsa de soja, bebidas nutricionales y alimentos a base de cereales, como galletas, *crackers*, cereales para el desayuno y pan. En general el contenido de furano es mayor en los alimentos envasados (FDA, 2004a, 2006, 2007, 2008).

Según los datos más recientes publicados por EFSA en 2017, las mayores concentraciones de furano se encontraron en los granos de café tostados enteros, seguidos del café molido tostado, sólidos de café no especificados e imitaciones de café y, en menor grado, café instantáneo en polvo. También se detectaron concentraciones medias en alimentos compuestos basados en cereales y verduras, comidas listas para el consumo para lactantes y niños pequeños, salsa de soja, pan y bollos, pasta cruda, cereales para el desayuno, productos de panadería fina y licores. Asimismo, se informó de la presencia de 2-metilfurano, 3-metilfurano y 2,5-dimetilfurano en diversos alimentos con ratios 2-metilfurano/furano de 4 (café), 1,4 (cereales para niños), 1,1 (cereales de desayuno) y 0,23 (comidas listas para el consumo para lactantes y niños pequeños) (EFSA, 2017). No obstante, según la Agencia Británica de Seguridad Alimentaria (FSA) la tendencia observada sobre la presencia de este contaminante de procesos en los alimentos de mayor riesgo, incluidos los alimentos para niños, no supone actualmente un aumento de la preocupación para la salud humana (FSA, 2017).

El furano se produce en los alimentos sometidos al calor y se han documentado diferentes mecanismos de formación a partir de diversos precursores presentes de forma natural en los alimentos, entre ellos se incluye la degradación térmica de azúcares reductores con o sin aminoácidos, la degradación térmica de aminoácidos, la oxidación térmica del ácido ascórbico y de ácidos grasos polinsaturados y carotenoides (Crews y Castle, 2007).

Diversos estudios coinciden en que la degradación de ácido ascórbico a partir de 120 °C constituye la vía más importante de formación de furano en los alimentos, si bien, algunas investigaciones señalan que los alimentos ricos en carbohidratos son más propensos a la formación de furano debido probablemente a la reacción de Maillard y que la retención de furanos en los alimentos se relaciona con la fracción lipídica especialmente de ácidos grasos poliinsaturados, motivo por el cual los alimentos ricos en carbohidratos sometidos a procesos de fritura son especialmente

susceptibles. Los experimentos en sistemas modelo han confirmado la formación de furano por pirólisis de azúcares, principalmente eritrosa seguido de ribosa, sacarosa, glucosa y fructosa. Asimismo, los aminoácidos como serina y cisteína pueden generar furano por pirólisis en ausencia de carbohidratos y los ácidos grasos poliinsaturados como linoleico y linolénico fueron considerados precursores de furano durante el tratamiento térmico a 120 °C durante 25 minutos (Fan, 2015). En general el nivel de furano tiende a ser mayor en alimentos con mezclas complejas de carbohidratos, grasa y proteína (FAO/OMS, 2011).

Además de los precursores citados (azúcares, aminoácidos, ácidos grasos insaturados y carotenoides) se ha investigado el papel de algunos metales como el cobre como posibles catalizadores de la formación de furano en los alimentos (Lawely et al., 2012). Asimismo, se ha evaluado la influencia de otros factores como el pH y el potencial redox aunque los resultados no son concluyentes. En condiciones ácidas los azúcares pierden eficiencia como precursores de furano y sin embargo dichas condiciones favorecen la conversión del ácido ascórbico en furano (EFSA, 2017). Durante el almacenamiento de alimentos a 25 °C durante 3 días la formación de furano fue 3,5 veces mayor a pH 9 que a pH 3 o 6 (Fan, 2015). También hay evidencias de que el uso de antioxidantes reduce la formación de furano (EFSA, 2017), siendo más efectivos los compuestos liposolubles (BHT y α -tocoferol) a excepción del ácido cafeico (Zheng et al., 2015), aunque el efecto mitigante de la formación de furano ejercido por los antioxidantes disminuye con el tiempo de tratamiento térmico (Shen et al., 2017).

Por otra parte, se ha demostrado que el furano se puede formar en alimentos no sometidos a procesos térmicos, a partir de carbohidratos y ácido ascórbico sometidos a radiación ionizante (Fan, 2005a, b) (Fan y Geveke, 2007) (Fan y Sokorai, 2008). También el tratamiento con radiación UV-C (11,5 J/cm²) originó la formación de furano a partir de los ácidos grasos linoleico y linolénico, mientras que la irradiación gamma hasta 20 kGy no indujo la formación de cantidades significativas de furano a partir de los ácidos mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico (Fan, 2015), e incluso a dosis inferiores a 10 kGy redujo significativamente el contenido de furano formado en alimentos cárnicos listos para el consumo (Fan y Sommers, 2006).

Al margen de las características propias de los alimentos, la concentración final de furano en el momento del consumo depende de las condiciones de transformación y preparación de los mismos. Diversos estudios relacionan la formación de furano con temperaturas superiores a 120 °C, incluso puede formarse durante el recalentamiento de alimentos procesados en envases cerrados. En este sentido, los alimentos para niños a base de hortalizas, mezclas de carne y verduras o de frutas que se elaboran comúnmente con aplicación de calor a altas temperaturas en recipientes sellados, son especialmente susceptibles a la formación de furano. En este tipo de alimentos los niveles más altos de furano se relacionaron más con productos de hortalizas que de frutas, con productos esterilizados en lugar de pasteurizados y con un contenido de vitamina C (natural o añadido) y pH más elevado (Arisseto y Toledo, 2008). En el proceso de tostado de pan el nivel de furano aumentó con el tiempo de tostado y con el grado de dorado (FAO/OMS, 2011). Otro estudio reveló que las barritas de pescado fritas presentaban una concentración de furano superior cuando se usaba aceite de oliva (30 µg/g) en lugar de aceite de girasol (20 µg/g) y que cuando se cocinaban al horno

se generaba mucha menos cantidad (10 µg/g), demostrándose que la cantidad de furano es menor según disminuye la temperatura y el tiempo de fritura (Pérez Palacios et al., 2013).

Por otra parte, diversos estudios han evidenciado una pérdida de furano por evaporación en la preparación por el consumidor de alimentos listos para el consumo. Dicha pérdida se atribuye a la inestabilidad y volatilidad del furano en los alimentos después de preparar o abrir productos comerciales y se relaciona con la temperatura del producto y con el tiempo de exposición a la atmósfera.

En el caso del café los diferentes métodos de preparación determinaron la pérdida de furano en diferente grado, así en café hervido/turco la pérdida fue de 3 a 4 veces mayor que en café preparado con filtro y expreso. También se ha documentado que los niveles de furano disminuían en bebidas de café cuando se dejaban reposar a temperatura ambiente hasta 20 minutos sin tapa y que los niveles de furano en café preparado en máquinas automáticas eran más altos que en máquinas caseras debido a la retención mayor de furano en el sistema cerrado de las automáticas (FAO/OMS, 2011).

Asimismo, se ha estudiado la influencia del recalentamiento de los alimentos comercialmente procesados respecto a la concentración de furano y, aunque la información es todavía muy limitada, se ha indicado que la práctica de recalentar los alimentos procesados comerciales destinados a población infantil mediante un baño de agua caliente sin tapa puede reducir su exposición en un 15-30 % (EFSA, 2017). Igualmente, se ha documentado que remover las muestras en lata y en frasco de alimentos para bebés aumentaba la liberación de furano, en comparación con dejar los alimentos sin moverse y que, por otra parte, el aceite añadido a alimentos para bebés calentados antes de su consumo producía una retención mayor de furano que los que no tenían aceite añadido (FAO/OMS, 2011). También se ha observado una pérdida de furano después de recalentar al microondas barritas de pescado fritas (Pérez Palacios et al., 2013). Por el contrario, otros investigadores no encontraron reducciones significativas en el contenido de furano por aplicación de calor ni por remover alimentos preparados o calentar frascos de alimentos comerciales para niños en un calentador especial para alimentos infantiles (FAO/OMS, 2011).

Tal y como informó la Agencia Británica de Investigación para los Alimentos y el Medio Ambiente (FERA) la pérdida por evaporación de furano de los alimentos supone otra fuente potencial de exposición por inhalación, debido a la presencia de furano en el aire doméstico, especialmente tras la fritura de patatas en recipiente abierto, la preparación de café y el horneado de algunos alimentos (FERA, 2009).

2.3.1.1 Caracterización toxicológica

De acuerdo con la información obtenida de estudios *in vitro* e *in vivo* en animales, el furano puede pasar fácilmente a través de las membranas biológicas y después de la administración oral a ratones y ratas es rápidamente absorbido a nivel del tracto gastrointestinal. El furano tiene una vida media corta, se metaboliza por el citocromo P450 2E1 (CYP2E1) al metabolito reactivo, cis-but-2-eno-1,4-dialdehído (BDA) y se elimina en la orina y las heces como metabolitos, y se exhala al aire como furano sin modificar y dióxido de carbono formado a consecuencia de la apertura de los anillos. El furano es citotóxico y afecta principalmente al hígado (EFSA, 2004) (JECFA, 2011).

Diversos estudios realizados en ratas han evidenciado su potencial cancerígeno y por esta razón ha sido clasificado en el grupo 2B (posible cancerígeno en humanos) por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 1995). Aunque el mecanismo de cancerogenicidad no está claramente definido existen evidencias científicas de genotoxicidad *in vitro* del metabolito BDA formado *in vivo* a partir del furano, y en base al peso de la evidencia, el furano es considerado como carcinógeno genotóxico para la evaluación del riesgo por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2004, 2017).

La mayor preocupación para la salud humana corresponde a su efecto debido a una exposición crónica a través de la dieta (Lawley et al., 2012). Los diversos estudios realizados con animales de experimentación concluyeron que el daño hepático (colangiofibrosis) y el cáncer de hígado (adenoma y carcinoma) eran los efectos más críticos para la salud relacionados con el furano. En dosis altas (<30 µg/kg p.c./día) puede afectar también a riñón y pulmón.

La Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos (NAS) calculó una BMDL₀₁ de 0,09 mg/kg p.c./día para el efecto crítico de colangiocarcinoma inducido por furano (NAS, 2000). En 2010, JECFA examinó la inducción de adenomas hepatocelulares y carcinomas en ratones hembras como punto final pertinente y calculó una BMDL₁₀ de 1,3 mg/kg p.c./día, correspondiente a 0,96 mg/kg p.c./día al ajustarse de un programa de dosificación de 5 días a la semana a una dosis promedio diaria (FAO/OMS, 2011). En 2012, la Autoridad Noruega de Seguridad Alimentaria (VKM) calculó una BMDL₁₀ de 0,02 mg/kg p.c./día para el riesgo de colangiocarcinoma aplicando un factor de corrección de 7 a la dosis obtenida de un estudio de 9 meses de duración (VKM, 2012). En 2017, el Panel CONTAM examinó la información toxicológica y consideró como punto de referencia una BMDL₁₀ de 0,064 mg/kg p.c./día y de 1,31 mg/kg p.c./día para efectos no neoplásicos (colangiofibrosis) y efectos neoplásicos (adenoma y carcinoma hepatocelular), respectivamente (EFSA, 2017).

Hasta el momento no se han podido identificar los puntos de referencia toxicológicos para los metilfuranos aunque en base a la información disponible se asume un efecto aditivo de hepatotoxicidad asociado a furano, 2-metilfurano y 3-metilfurano, si bien aún se desconoce el potencial hepatotóxico *in vivo* del 2,5-dimetilfurano (EFSA, 2017).

2.3.2 Evaluación de la exposición a través de la dieta y caracterización del riesgo para la salud humana

En 2004, la FDA de los Estados Unidos alertó de la presencia de furanos en los alimentos como un problema emergente de seguridad alimentaria y EFSA publicó su primera evaluación provisional sobre la presencia de furanos en los alimentos advirtiendo que había una diferencia relativamente pequeña entre la exposición humana y la dosis que produce efectos cancerígenos en animales de laboratorio (EFSA, 2004).

Posteriormente, a partir de los datos de la presencia de furano en los alimentos sometidos a tratamiento térmico aportados por los Estados miembros, EFSA ha publicado diferentes informes de seguimiento en 2009, 2010, 2011 y 2017. El análisis de los mismos confirmó que el café es el alimento que más contribuye a la ingesta de furanos para los adultos seguido de la cerveza y las sopas instantáneas. Los cereales y los productos a base de cereales son los que más contribuyen en niños y

adolescentes. Para niños pequeños fueron zumos de frutas, productos a base de leche y productos a base de cereales, y los alimentos para bebés, los cuales se convirtieron en los contribuyentes principales para este grupo de edad (EFSA, 2017).

Los resultados de los estudios publicados de exposición al furano a través de la dieta coinciden en que las estimaciones más altas se asocian al grupo de población infantil y aunque el margen de exposición para la mayoría de consumidores indica una baja preocupación para la salud, para la población con hábitos de consumo extremo, la exposición es hasta tres veces mayor de lo que se considera de baja preocupación para la salud pública.

En la Unión Europea las exposiciones dietéticas medias calculadas para lactantes variaron de 0,14 a 0,99 $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{día}$ mientras que para los adultos la ingesta media fue de 0,78 $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{día}$. En cuanto a las exposiciones correspondientes a percentiles 95, las estimaciones más altas también se observaron para lactantes (0,27 a 1,8 $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{día}$). Además, EFSA estimó que la exposición calculada podría ser mayor por la presencia de 2- y 3-metilfurano en los alimentos, ya que en muchos de los alimentos los niveles de 2-metilfurano son incluso más altos que de furano (EFSA, 2017).

Con todos los datos disponibles la Organización Mundial de la Salud (OMS) al igual que EFSA y otras instituciones y autoridades sanitarias, han informado que la exposición estimada a los furanos y metilfuranos a través de los alimentos podría provocar un posible daño hepático a largo plazo, y han considerado especialmente preocupante el nivel de exposición estimado para la población infantil a través del consumo de alimentos enlatados o listos para el consumo. No obstante, y en base a las incertidumbres existentes, coinciden en considerar que hay una mayor probabilidad de sobreestimación que de subestimación del riesgo, y que es necesario disponer de nuevos datos sobre métodos de análisis, presencia, formación, exposición y toxicidad, especialmente de los metilfuranos para abordar una evaluación del riesgo más realista (FDA, 2004b) (FERA, 2009) (FSA, 2012) (JECFA, 2011) (VKM, 2012) (ANSES, 2016) (Health Canada, 2016) (EFSA, 2017).

2.3.3 Estrategias de gestión y mitigación del riesgo

Hasta el momento en el ámbito europeo no se han definido límites legales de concentración de furano en los alimentos ni tampoco se ha propuesto la metodología oficial de análisis para la determinación de furano en los alimentos.

La Comisión Europea publicó en 2007 una recomendación relativa al seguimiento de la presencia de furano en alimentos (UE, 2007a) por la que instaba a los Estados miembros de la UE a realizar, durante los años 2007 y 2008, un seguimiento de la presencia de furano en productos alimenticios sometidos a tratamiento térmico. Posteriormente EFSA recomendó que los controles de furano se realicen en productos tratados con calor para los que se dispone de pocos datos y que, siempre que sea posible, se analice la misma muestra tal y como se compra, y después de prepararla para su consumo, indicando el modo de preparación seguido (tiempo, temperatura e información de manipulación) (EFSA, 2011).

Desde el punto de vista analítico, la Comisión Europea recomendó seguir los procedimientos de muestreo contemplados en la parte B del anexo del Reglamento (CE) N° 333/2007 para garantizar que las muestras fueran representativas del lote objeto de muestreo y una preparación cuidadosa

de las muestras previa al análisis para garantizar que no se altere el contenido de furano de la muestra (UE, 2007b).

La FDA desarrolló en 2004 la metodología de análisis para la determinación cuantitativa de furano en alimentos basada en la técnica de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas con automuestreador headspace (HS-GC/MS) (FDA, 2004c). Posteriormente numerosos investigadores han propuesto la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) acoplada a GC/MS como técnica alternativa aunque no ha quedado demostrada la mejora en términos de sensibilidad.

Recientemente se han publicado los resultados de validación de un método analítico selectivo para el análisis de furano y derivados (2-metilfurano, 2-etilfurano, 2-butilfurano, 2-pentilfurano, 2-acetilfurano, furfural y furfuryl alcohol) en alimentos infantiles basado en la microextracción en fase sólida por espacio en cabeza acoplada a GC/MS (HS-SPME-GC/MS). Los buenos resultados obtenidos en términos de precisión (RSD <5,02-5,55 %), recuperación (98,42-99,8 %), linealidad (dos órdenes de magnitud) y sensibilidad (límite de detección y cuantificación de 0,018-0,035 ng/g y 0,060-0,117 ng/g, respectivamente) avalan su aplicación para la obtención de datos funcionales en el proceso de evaluación del riesgo (Condurso et al., 2018).

Por otra parte, considerando las numerosas incertidumbres que aún existen en relación a la cinética de formación y estabilidad del furano en los alimentos tampoco se han propuesto por parte de las autoridades sanitarias prácticas recomendadas para minimizar su presencia en los mismos. No obstante, se han evaluado experimentalmente las posibilidades de mitigación en alimentos, si bien la información es limitada y específica y no puede extrapolarse a otros alimentos ya que la formación de furano es claramente dependiente de cada tipo de matriz alimentaria.

A continuación, se relacionan las prácticas recomendadas en la preparación de alimentos en el ámbito doméstico extraídas de la bibliografía científica (Anese y Suman, 2013) (Pérez-Palacios et al., 2013) (Mesías y Morales, 2014) (Palmers et al., 2015) (Becalski et al., 2016) (Juaniz et al., 2016) (Rannou et al., 2016) (Cepeda-Vazquez et al., 2018):

- Respetar la recomendación de preparación que se informa en la etiqueta de los alimentos.
- Calentar o remover los alimentos envasados sin tapa, para permitir una volatilización parcial y dispersión del furano.
- Cocinar los alimentos en recipientes abiertos para permitir la evaporación del furano formado.
- Realizar una cocción al horno o al microondas, ya que estos métodos generan menos furano que la fritura.
- Ajustar las condiciones de fritura disminuyendo la temperatura y el tiempo a 160 °C durante 4 minutos.
- Esperar un tiempo adecuado (10 minutos) desde que se prepara el alimento hasta su consumo y removerlo con regularidad.
- Preparar café en sistemas que permitan bajos niveles, como filtrado con goteo o en máquinas que pasan directo desde el grano a la taza.
- Remover el café durante 5 minutos antes del consumo o almacenar en termo durante 8 horas.
- Moderar el tiempo y el grado de tueste del pan.

2.4 Hidrocarburos de aceites minerales

2.4.1 Identificación y caracterización del peligro

Los hidrocarburos de aceites minerales (HAM) son compuestos químicos obtenidos normalmente por destilación del petróleo crudo, aunque también se pueden producir sintéticamente a partir de cartón, gas natural y biomasa. Los HAM se utilizan en un gran número aplicaciones: en la industria alimentaria como aditivos o en materiales que están en contacto con alimentos, en maquinaria industrial como lubricantes o aceites de motor, en productos fitosanitarios, en piensos, tintas de impresión, en productos farmacéuticos y cosméticos. También se pueden generar de manera natural en organismos marinos, bacterias, hongos, plantas, insectos y a través de algunas operaciones del procesado de alimentos como los tratamientos térmicos y el refinado de aceites, entre otros. Por tanto, los HAM forman parte de nuestra vida cotidiana y pueden estar presentes en alimentos bien por su uso intencionado como aditivos alimentarios o coadyuvantes tecnológicos, o bien por diferentes vías de contaminación.

La denominación HAM es imprecisa y recoge mezclas muy heterogéneas y complejas de hidrocarburos con distinto número de carbonos y estructura tanto lineal como ramificada o cíclica. En función de su estructura general, los HAM se pueden clasificar en:

- Parafinas: alcanos lineales y ramificados.
- Naftenos: cicloalcanos con sustituyentes alquílicos.
- Aromáticos: hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) alquil sustituidos.

Todos ellos pueden contener pequeñas cantidades de compuestos nitrogenados y azufrados (EFSA, 2012) (AECOSAN, 2017).

En 2012, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) emitió una opinión científica sobre los HAM en contacto con alimentos y los definió como hidrocarburos que contienen entre 10 y 50 átomos de carbono, donde los aceites minerales crudos son los predominantes y los agrupó en dos categorías:

- Hidrocarburos saturados de aceites minerales (HSAM), que comprenden básicamente parafinas y naftenos. Pueden acumularse en algunos tejidos del cuerpo pudiendo causar daños en el hígado, ganglios linfáticos y el bazo.
- Hidrocarburos aromáticos de aceites minerales (HAAM), que están constituidos por HAP sustituidos con alquilo. Pueden actuar como carcinógenos genotóxicos y dañar el ADN.

Los alimentos pueden contener aceites minerales resultantes de su procesado, envasado, aditivos alimentarios, coadyuvantes tecnológicos o contaminantes ambientales. En este sentido, los expertos del Panel Científico de Contaminantes en la Cadena Alimentaria de EFSA (CONTAM), en 2012, identificaron las siguientes fuentes de contaminación en alimentos y piensos:

- Materiales en contacto con alimentos: papel y cartón reciclados, tintas de impresión *off-set* sobre papel y cartón para envases, aditivos en la fabricación de plásticos, papel y cartón encerados, sacos de yute o sisal tratados, lubricantes en la fabricación de envases metálicos, ceras aplicadas directamente sobre los alimentos y adhesivos.

- Contaminantes: a) origen medioambiental: aceite lubricante para motores sin catalizador, combustible sin quemar, restos de neumáticos y asfalto de carreteras; b) maquinaria empleada en la cosecha y el procesado de alimentos: gasóleo, lubricante de bombas, dosificadoras y otras máquinas, agentes de limpieza y disolventes.
- Aditivos alimentarios, coadyuvantes y otros usos: antiadherentes (panadería y confitería), tratamiento superficial (arroz), aglutinadores para aditivos menores, antiespumantes, agentes antipolvo (cereales), coformulantes de piensos y fitosanitarios.

Los HSAM, sobre todo la fracción que comprende cadenas de carbono de 16-35 átomos, pueden acumularse en el cuerpo humano, especialmente en los ganglios linfáticos, el bazo y el hígado, pero, según EFSA, esto no se ha asociado con consecuencias adversas para la salud. Los HAAM con 3 o más anillos aromáticos monoalquilados o no alquilados pueden ser mutagénicos y carcinógenos por lo que los considera más preocupantes que la fracción de HSAM. En general, los toxicólogos se concentran en los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), especialmente en los HAP de 3-7 anillos, algunos de los cuales son cancerígenos, mientras que los sistemas de 1-2 anillos altamente alquilados no son genotóxicos y no se consideran preocupantes en cuanto a carcinogenicidad. En conclusión, la presencia de HAAM en sí misma no es indicativa de su potencial carcinogénico (FEICA, 2017).

EFSA (2012) no ha podido establecer un valor de ingesta diaria admisible (IDA), ya que considera que no son adecuados los valores de IDA tomados como referencia anteriormente (EFSA, 2009). Dadas las deficiencias en las bases de datos, EFSA ha decidido utilizar el enfoque del margen de exposición (MOE). Como no existen datos de dosis-respuesta de los HAAM relativos a su carcinogenicidad, EFSA no ha podido establecer un punto de referencia sobre el que se pueda basar el margen de exposición, pero considera una preocupación potencial la exposición a los HAAM a través de la alimentación.

En el caso de los HSAM, EFSA (2012) ha considerado como efecto crítico la formación de microgranulomas en el hígado de ratas Fischer 344 en estudios de 90 días debidas a la presencia de HSAM con un número de átomos de carbono entre 16 y 35 procedentes de varios productos con HSAM para uso alimentario, en particular aceites blancos como agentes de liberación para el pan y la pulverización de granos. Se ha considerado 45 mg/kg p.c./día como referencia, tomado en base al NOAEL de los estudios revisados y se han establecido los MOE en base a los distintos escenarios posibles. Como conclusión, EFSA también ve una preocupación potencial asociada a los niveles actuales de estos HAM en Europa.

La opinión de EFSA (2012) proporciona una base para revisar las IDA de HAM de baja y media viscosidad para uso en alimentos. Estos HAM fueron evaluados por el anterior Comité Científico de la Alimentación Humana (SCF) y el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) en 2002 (FAO/OMS, 2002) y se encuentran en revisión actualmente. Según EFSA, la acumulación de HSAM en ganglios linfáticos del intestino de animales de laboratorio es menos relevante para la salud humana de lo que se pensó cuando se estableció su IDA. EFSA considera de baja prioridad la revisión de las IDA de los HAM de alta viscosidad.

2.4.2 Evaluación de la exposición

Dada su presencia como mezclas complejas es imposible separar los compuestos individuales para cuantificarlos, con el problema añadido de la limitación en la disponibilidad de patrones analíticos certificados. Sí se puede medir la concentración de fracciones de saturados y de aromáticos por separado mediante cromatografía de gases. Actualmente el análisis de su presencia en alimentos consiste en una extracción seguida de pre-separación por cromatografía líquida acoplada a otra de gases con detector de ionización de llama (AECOSAN, 2017), y en ello se basa el único método europeo estandarizado para su determinación en algunos alimentos que sirve para determinar concentraciones por encima de 10 mg/kg pero cuyo valor depende de la matriz alimentaria y sobre todo de su contenido en grasa dando valores menos fiables cuanto mayor es el contenido en ella (DIN EN, 2017). Las especificaciones de los HAM suelen referirse a propiedades físico-químicas como la viscosidad, relacionadas con el uso al que se destinan. Productos con las mismas características pueden tener diferente composición química en función del origen del aceite y su procesado. Los HAM de grado técnico contienen normalmente 15-35 % de HAP y los de grado alimentario se someten a una destilación adicional para reducir al mínimo el contenido de HAP (EFSA 2012).

Solo se dispone de datos de presencia de HAM en un número limitado de grupos de alimentos, centrándose en el contenido de HSAM, sin diferenciar entre parafinas y naftenos, con un número de carbonos entre 12 y 40. No hay información disponible sobre los HAAM por lo que solo se puede hacer una estimación de su composición. En general, los niveles de HSAM son bajos en casi todos los grupos alimentarios, salvo en “panes y bollos” y “cereales para el consumo humano”, principalmente arroz con valores de 261 mg/kg y 132 mg/kg de media, respectivamente, los cuales, por el contrario, presentan niveles muy bajos de HAAM. El resto de grupos muestran valores medios significativamente más bajos: productos de confitería distintos de chocolate (46 mg/kg), aceites vegetales (41-45 mg/kg), productos de la pesca en conserva (40 mg/kg), semillas oleaginosas (38 mg/kg), grasas animales (22-24 mg/kg), carne de pescado (21 mg/kg), frutos de cáscara (20-21 mg/kg) y postres y helados (14 mg/kg) (EFSA, 2012). La presencia de ambas sustancias en alimentos secos puede atribuirse en parte al uso de papel reciclado.

El grupo de trabajo también revisó la migración de HAM en alimentos envasados con papel y cartón reciclados, encontrándose que cuando no se utilizan barreras funcionales (bolsas o recubrimientos que impidan la migración) existe una transferencia significativa hacia los alimentos por lo que deben realizarse análisis de migración y permeabilidad a lo largo del tiempo y considerar además que la migración desde el envase está influida por la temperatura y solo los HAM de hasta 25 carbonos migran a temperatura ambiente (FoodDrink Europe, 2018).

EFSA (2012) estima, considerando los valores medios encontrados en los distintos grupos de alimentos, que la exposición crónica media de la población europea está en el rango de 0,03-0,30 mg/kg p.c./día, y es más alta en consumidores jóvenes, en especial en edades de 3 a 10 años, que en adultos y ancianos. La migración procedente de los envases de papel reciclado podría contribuir significativamente a la exposición total, pero hay poca información al respecto.

La exposición de los consumidores a los HAAM procedentes de contaminación supone un 20 % de la exposición a los saturados HSAM, mientras que la aportación de los HAM de uso alimentario es mínima y la exposición a HAAM no se incrementa debido a este uso.

La preocupación potencial asociada al consumo de HAM, tanto HAAM como HSAM, puede ser de importancia en consumidores leales a una marca o que compran habitualmente el mismo producto en la misma tienda, por estar expuestos a altos niveles de HAM de forma regular.

Dada la complejidad de las mezclas que constituyen los HAM se deben acometer estudios adicionales tanto relacionados con técnicas analíticas como con la exposición humana y sus efectos reales sobre la salud para poder establecer recomendaciones y normativas. En este sentido Food-Drink Europe (2018) ha propuesto una serie de herramientas, considerando las tres posibles rutas de contaminación, que pretenden ayudar en la reducción del riesgo de contaminación por HAM implementando medidas en función de la ruta de entrada y el contaminante potencial.

2.4.3 Recomendaciones y consideraciones futuras

Los HAM pueden estar presentes en los alimentos tanto por contaminación ambiental, como por generarse o incorporarse durante su procesado, además de por migración desde los materiales de envase, en particular papel y cartón. Los posibles efectos de los distintos compuestos que constituyen los HAM sobre la salud humana varían considerablemente dependiendo de su estructura química. Por ello, de forma inmediata se debería disponer de patrones y materiales de referencia certificados de los componentes de los HAM para mejorar los métodos analíticos y los sistemas de supervisión para evaluar mejor los riesgos que plantean los HAM. Del mismo modo, en el futuro debería distinguirse entre HAAM y HSAM, y dentro de estos últimos en función de las estructuras químicas y el número de carbonos de la cadena, haciéndose necesarios más datos sobre la acción de HSAM multi-ramificados y cíclicos. Con respecto a los grupos de alimentos donde se encuentran, se deberían controlar los que contribuyen en mayor medida a la exposición y aquéllos en los que se utilizan aceites blancos. Se hace necesario identificar las fuentes de contaminación a lo largo de todas las etapas del proceso de producción de alimentos para diseñar sistemas de control adecuados.

La contaminación de alimentos con HAM debido al uso de cartón reciclado como material de embalaje se debe prevenir de forma eficaz incluyendo materiales que sirvan de barrera funcional en el envase. Del mismo modo, es preciso realizar estudios toxicológicos adicionales sobre los diversos peligros que plantean las distintas fracciones de HAM enfocada en el rango de pesos moleculares y subclases estructurales más que en propiedades fisicoquímicas, como la viscosidad. Se debería investigar si la exposición oral de los HSAM está asociada con enfermedades autoinmunes sistémicas o con una función inmune alterada, así como estudiar la transferencia a los seres humanos de los resultados de los estudios sobre los HAM en animales. Finalmente, EFSA, en su opinión científica de 2012, sugería la revisión del grupo de IDAs temporales para los aceites de baja y media viscosidad.

En 2017, la Comisión Europea ha publicado la Recomendación (EU) 2017/84, relativa a la vigilancia de HAM en alimentos y objetos destinados a entrar en contacto con ellos (UE, 2017). En esta recomendación se insta a vigilar a lo largo de 2017 y 2018, pudiendo presentarse los últimos datos antes

del 28 de febrero de 2019, la presencia de HAM en los siguientes alimentos: grasas animales, pan y productos de panadería fina, cereales para desayuno y artículos de confitería (incluido chocolate y cacao), carne de pescado y productos de pescado (pescado en conserva), cereales para consumo humano, helados y postres, semillas oleaginosas, pasta, productos derivados de cereales, legumbres, embutidos, frutos con cáscara y aceites vegetales, así como los materiales en contacto con los alimentos utilizados para dichos productos. Sin embargo, para una aplicación uniforme de la Recomendación y obtener resultados fiables, se deben seguir las directrices específicas del laboratorio de referencia de la UE, pero aún no existen dichas directrices y se insta a los Estados miembros a colaborar en la elaboración de las mismas.

2.5 Micotoxinas de *Claviceps*

2.5.1 Identificación y caracterización del peligro

Cornezuelo es el término utilizado para designar el micelio solidificado del hongo *Claviceps purpurea*, *africana*, *fusiformis*, *sorghii* y especies afines que pueden afectar a los pastos y cereales de todo tipo. Los principales tipos de cereales afectados son centeno, triticale (*Claviceps purpurea*), sorgo (*Claviceps africana sorghi*, *sorghicola*) y mijo perla (*Claviceps fusiformis*). Además, puede afectar a trigo y cebada en primaveras con periodos largos de humedad y frío.

El cornezuelo (esclerocio), una especie de “cuerno” de color oscuro (de ahí el nombre) y a veces blanco, que se forma en lugar del grano en las espigas de los cereales infectados a través de la inflorescencia de la planta. Si no se hace una buena selección de granos antes de moler, se mezcla con las harinas. La importancia de las buenas prácticas agrícolas y de procesado fue resaltada por la Comisión del *Codex Alimentarius* que en 2003 publicó un código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas y lo revisó en 2016 el CAC/RCP 51-2003 (Codex Alimentarius, 2016).

Los esclerocios contienen alcaloides tóxicos. Hay 40 alcaloides conocidos del cornezuelo, siendo ergometrina, ergotamina, ergosina, ergocristina, ergocriptina y ergocornina, y sus epímeros, los predominantes. En el cornezuelo del sorgo, además son importantes la dihidroergosina y alcaloides afines (Blaney et al., 2010). Los perfiles de distribución y concentración de alcaloides varían en función de la cepa de *Claviceps*, el huésped, las condiciones meteorológicas, pues la humedad facilita su proliferación, y la zona geográfica. Por tanto, el contenido de alcaloides en un esclerocio es variable pero puede llegar hasta el 0,5 % (Codex Alimentarius, 2016).

La intoxicación por contaminación de harinas por cornezuelo se conoce actualmente como ergotismo y antiguamente mal de los ardientes, fuego sagrado o fuego de San Antonio y ha dado lugar a graves intoxicaciones colectivas: estuvo muy presente en la Edad Media y actualmente, aunque ya no siguen produciéndose grandes epidemias en el ser humano, siguen produciéndose epidemias esporádicas locales en años más recientes y es frecuente en animales domésticos.

Hay dos formas sintomáticas de ergotismo: gangrenoso y convulsivo. En la forma gangrenosa, se percibe un efecto de hormigueo en los tejidos periféricos que conduce finalmente a la pérdida de extremidades, mientras que en su forma convulsiva, el hormigueo va seguido de alucinaciones, delirio y convulsiones de tipo epiléptico (Codex Alimentarius, 2016). Tras la ingestión de pequeñas

cantidades de alcaloides de cornezuelo, se producen síntomas agudos como vómito, espasmos, dolor de cabeza, problemas cardiovasculares y disfunciones del sistema nervioso central, así como contracciones de útero que dan lugar a sangrados y abortos. El consumo de altas concentraciones da lugar a efectos tóxicos agudos como trastornos circulatorios por vasoconstricción del músculo cardíaco, pero también en riñones y extremidades, acompañados de alucinaciones, espasmos, sensaciones disminuidas, parálisis, e incluso la muerte por paro cardíaco o respiratorio. La ingesta crónica de cantidades moderadas de esos alcaloides puede afectar a la reproducción (provocar abortos, causa de peso bajo al nacer y lactancia deficiente). Cuando la ingestión crónica es alta produce los síntomas que corresponden a la ingestión aguda de elevadas cantidades. Además, en determinados grupos de consumidores (niños pequeños y mujeres gestantes) puede haber efectos indeseables en su salud cuando consumen productos horneados y harinas que contienen alcaloides del cornezuelo (Mariné, 2012).

En el año 2000, la Comisión Europea estableció un límite de 0,05 % de esclerocios como requisito de calidad para los cereales en régimen de intervención y, basándose en datos toxicológicos, Suiza y Alemania, han considerado los límites de alcaloides totales de cornezuelo en centeno para consumo humano de 100 µg/kg y 400-500 µg/kg, respectivamente (Mariné, 2012).

La contaminación de alcaloides del cornezuelo es un problema de importancia en piensos pues el ganado bovino, ovino y las aves de corral son sensibles a las toxinas del cornezuelo del centeno. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA, 2005) concluyó que no se podía establecer una relación entre cantidad de esclerocios y de alcaloides del cornezuelo, ya que la concentración de alcaloides en los esclerocios es muy variable (0,01-0,5 %), pero asumiendo una media de 0,2 %, un nivel de 0,05 % de esclerocio alcanza un contenido total de 1 000 µg/kg de alcaloides. En Estados Unidos y Canadá, el nivel máximo permisible de esclerocios en grano es de 300 mg/kg. En lo relativo a los piensos, Canadá y Uruguay han establecido límites que varían de 450 a 9 000 µg/kg, en función del animal (Mariné, 2012). Posteriormente, EFSA (2017) realizó un estudio en alimentos y piensos sobre la exposición a los 12 alcaloides principales del cornezuelo, ergometrina, ergosina, ergocornina, ergotamina, ergocristina, ergocryptina, los isómeros α y β , y sus correspondientes epímeros inina-S. Se encontró una relación lineal estadísticamente significativa entre el contenido de esclerocios y los niveles de alcaloides cuantificados en distintos granos de cereal (cebada, avena, centeno, triticale y trigo). Sin embargo, la ausencia de esclerocios no excluye la presencia de alcaloides en muestras donde no se identificaron esclerocios por tener contenidos por debajo de los límites de cuantificación, lo que serían falsos negativos.

El polvo del cornezuelo es muy fino y se adhiere con facilidad a la superficie de los granos, hecho que se debe tener en cuenta en las labores de limpieza en las que se deben retirar los cuerpos del cornezuelo y el polvo de la remesa de cereal en la mayor medida posible. Los procedimientos de limpieza del grano se deben adaptar para lograr una eficacia máxima e implementar un segundo proceso de limpieza para el grano previamente limpiado (Codex Alimentarius, 2016).

La toxicidad aguda del cornezuelo del centeno es relativamente baja. Las dosis mortales por polvo de esclerocios se cifran en 10-15 gramos. Considerando que una persona consuma 300-400 g de pan al día, este tendría que contener un 3 % de cornezuelo aproximadamente, lo que sería

apreciable a simple vista en la harina, pues tendría manchas violetas, marrónceas o azules. Es más difícil de detectar y evaluar las consecuencias de un consumo reiterado de dosis bajas o muy bajas. Con respecto a las dosis farmacológicas por vía oral de los alcaloides, las indicaciones para la ergotamina están en 6 mg/día o 10 mg/semana. Hay que considerar que las grandes intoxicaciones históricas se debían a infestaciones importantes, a que no se controlaba la calidad del grano y a que la ingestión era reiterada. Por otra parte, si la ingestión es de los esclerocios sólidos, sólo se absorbe una parte de sus componentes y, además, la preparación de los cereales y sus derivados, como la panificación, inactiva, según algunos hasta el 50 %, la actividad de los alcaloides. Además, es conocido que los alcaloides del cornezuelo no presentan carcinogenicidad e incluso alguno presenta el efecto opuesto por lo que se ha investigado su uso como agentes citostáticos, aunque no queda claro si la exposición a esos alcaloides en la dieta tiene capacidad para mitigar los efectos carcinógenos (De Ruyck et al., 2015).

2.5.2 Evaluación de la exposición y riesgos potenciales

EFSA (2012) evaluó los datos disponibles sobre presencia y eventuales efectos de los alcaloides del cornezuelo en alimentos y piensos en la Unión Europea y, considerando que es tolerable una ingesta diaria de 0,6 µg/kg p.c./día y 1 µg/kg p.c./día para la dosis de referencia aguda del grupo de alcaloides totales de cornezuelo del centeno (la toxicidad de los principales alcaloides se considera bastante parecida), concluyó que los datos existentes no implican riesgo para ningún subgrupo de población humana. Posteriormente, evaluó un número mucho mayor de muestras, especialmente de alimentos procesados obteniendo resultados similares (EFSA, 2017). En ambas evaluaciones se mencionó que la primera infancia es una etapa de mayor riesgo de ingestión con una exposición aguda estimada de 0,02 µg/kg p.c./día en bebés y de 0,32 µg/kg p.c./día en niños mayores. No hay un riesgo mayor en las personas vegetarianas. Los alimentos en los que se había detectado más presencia de alcaloides son el centeno y derivados, aunque sin descartar que pueda haber otras fuentes de contaminación no estudiadas hasta el momento. Uno de los productos recientemente evaluados ha sido la cebada y su derivado, la cerveza, donde se observó cómo las concentraciones iniciales de alcaloides en la cebada se reducían a lo largo del proceso hasta quedar en niveles muy reducidos en el producto final (<10 µg/l), por lo que la cerveza no puede considerarse como una fuente de alcaloides de cornezuelo en la dieta (Bauer et al., 2016).

Con respecto al ganado, EFSA (2012, 2017) indicó que en condiciones normales el riesgo de toxicosis es bajo, siendo los cerdos para engorde los de mayor nivel de exposición, pero que hay más posibilidades de ingerir dosis significativas de los alcaloides en las personas.

En las evaluaciones del Instituto Alemán de Evaluación de Riesgos (BfR), se puso de manifiesto el riesgo potencial para los consumidores de porciones grandes de productos a base de cereales contaminados con niveles superiores a 64 µg de alcaloides del cornezuelo por kg de producto y se considera que el contenido de alcaloides de cornezuelo permanece constante durante la elaboración (Fajardo et al., 2012). Ello indica que el nivel de 64 µg/kg es razonable si la cantidad inicial de alcaloides del cornezuelo presente en los cereales o harinas es baja, situada entre 100 y 250 µg/kg en función de la receta del producto.

La Comisión Europea estableció un nivel máximo de 0,5 g de esclerocios del cornezuelo en un kg de cereales sin elaborar, comercializados para una primera fase de transformación de los cereales, con excepción del maíz y el arroz (UE, 2015). El nivel máximo se podría ampliar en el futuro, cuando se hayan reunido más datos sobre el contenido de alcaloides de cornezuelo en cereales elaborados, donde los esclerocios del cornezuelo no son visibles.

En la determinación analítica de los alcaloides del cornezuelo, cabe destacar la existencia de varios compuestos de referencia de los alcaloides y su alta inestabilidad. Este hecho junto con la preparación de muestra en ausencia de luz para evitar la formación de compuestos derivados de su acción, deben ser tenidos rigurosamente en cuenta durante las distintas etapas de su análisis. Hay diversas técnicas analíticas que pueden utilizarse, desde métodos espectroscópicos, los más antiguos, hasta la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a detector de masas, pasando por la inmunología y la cromatografía de gases y existe un método de HPLC con detector de fluorescencia validado internacionalmente (EFSA, 2012 y 2017).

2.5.3 Recomendaciones y consideraciones futuras

La ausencia real de un peligro tiene que estar muy demostrada para dejar de considerarlo en la legislación alimentaria. En el caso de los alcaloides del cornezuelo, no parece que haya un problema importante si se siguen las recomendaciones de cultivo y almacenamiento, pero sí que es necesario estudiarlo y hacer un seguimiento pues podría ser que ciertas prácticas agrícolas pudieran comportar algún riesgo si no se toman las precauciones adecuadas. Parece bastante evidente que, aunque el riesgo en la práctica es bajo, hay que incluir el seguimiento y el control de la presencia de alcaloides del cornezuelo en alimentos y piensos, de la misma manera que se hace con otras micotoxinas.

Según la Comisión Europea hay que disponer de más datos de presencia de alcaloides de cornezuelo en piensos y alimentos, especialmente los procesados, y utilizar métodos analíticos con suficiente sensibilidad para detectarlos y cuantificarlos y así poder relacionar la cantidad de esclerocios de la planta con la concentración de alcaloides. Se podría considerar otro plan de muestreo y un método diferente para evaluar el nivel de contaminación y tener en cuenta que el polvo del cornezuelo también puede contaminar el cereal sin que sea visible.

Los cuerpos del cornezuelo y su polvo fino adherido a la superficie de los granos y en el surco tienen que evitarse y retirarse de la cadena de elaboración. La prevención de la contaminación con alcaloides de cornezuelo no queda totalmente cubierta por las disposiciones generales del Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas (CAC/RCP 51-2003) por lo que se hace necesario un anejo específico para tratar los puntos no incluidos en las disposiciones generales.

2.6 Toxinas de *Alternaria*

2.6.1 Identificación y caracterización del peligro

El género *Alternaria* fue definido originalmente en 1816 y desde entonces se han descrito numerosas especies de *Alternaria* sp. El género produce más de 70 micotoxinas, siendo las más importan-

tes el alternariol (AOH), alternariol monometiléter (AME), altenueno (ALT), ácido tenazónico (TeA), tentoxina (TEN), toxinas de *Alternaria alternata* f. sp. *Lycopersici* (toxinas AAL) y las altertoxinas (ATX) I, II, III (ATX-I, -II, -III). Entre las principales especies productoras de micotoxinas se incluyen: *A. alternata*, *A. arborescens*, *A. brassicae*, *A. brassicicola*, *A. citri*, *A. cucumerina*, *A. dauci*, *A. gaisen*, *A. jaoinica*, *A. kikuchiana*, *A. longipes*, *A. mali*, *A. pori*, *A. racina*, *A. radicina*, *A. solani*, *A. tenuissima* (Tabla 1).

Tabla 1. Especies productoras de micotoxinas de <i>Alternaria</i> y alimentos que contaminan		
Micotoxina	Especie productora	Alimentos implicados
Ácido tenuazónico (TeA)	<i>A. alternata</i> , <i>A. brassicae</i> , <i>A. brassicicola</i> , <i>A. citri</i> , <i>A. jaoinica</i> , <i>A. kikuchiana</i> , <i>A. mali</i> , <i>A. pori</i> , <i>A. racina</i> , <i>A. tenuissima</i>	Aceitunas, frutas cítricas, manzanas y zumo, pimienta, semillas de girasol, sorgo, tomate, trigo, especias, naranja, limón, remolacha roja, bebidas alcohólicas, hortalizas y derivados, alimentos infantiles
Altertoxina I-II-II (ATX)	<i>A. alternata</i> , <i>A. arborescens</i> , <i>A. brassicae</i> , <i>A. gaisen</i> , <i>A. longipes</i> , <i>A. mali</i> , <i>A. radicina</i> , <i>A. tenuissima</i>	Manzana y zumo, sorgo
Alternariol (AOH)	<i>A. alternata</i> , <i>A. arborescens</i> , <i>A. brassicicola</i> , <i>A. citri</i> , <i>A. cucumerina</i> , <i>A. dauci</i> , <i>A. gaisen</i> , <i>A. tenuissima</i>	Avena, pimienta, tomate, manzana y zumo, especias, semillas de girasol, naranja, limón, trigo, legumbres, bebidas alcohólicas, hortalizas y derivados
Alternariol monometiléter (AME)	<i>A. alternata</i> , <i>A. arborescens</i> , <i>A. brassicae</i> , <i>A. brassicicola</i> , <i>A. citri</i> , <i>A. cucumerina</i> , <i>A. dauci</i> , <i>A. gaisen</i> , <i>A. kikuchiana</i> , <i>A. longipes</i> , <i>A. mali</i> , <i>A. porri</i> , <i>A. solani</i> , <i>A. tenuissima</i>	Aceitunas, cebada, centeno, frutas cítricas, manzana y zumo, melón, hortalizas y derivados, pimienta, bebidas alcohólicas, semillas de girasol, sorgo, tomate, legumbres, trigo, pimienta, especias, naranja, limón, alimentos infantiles
Altenueno (ALT)	<i>A. alternata</i> , <i>A. arborescens</i> , <i>A. citri</i> , <i>A. gaisen</i> , <i>A. porri</i> , <i>A. tenuissima</i>	Granos de cereales y derivados, semillas de oleaginosas, aceites de semillas, hortalizas y derivados
Tentoxina (TEN)	<i>A. alternata</i> , <i>A. mali</i> , <i>A. porri</i> , <i>A. tenuissima</i>	Granos de cereales y derivados, aceites de semillas, hortalizas y derivados
ALL-toxina	<i>A. alternata</i>	Granos de cereales y derivados

Fuente: (Soriano, 2007) (Barkai-Golan, 2008) (Ostry, 2008) (Barros et al., 2011) (Pavón et al., 2012).

Las temperaturas de crecimiento óptimas para el género *Alternaria* oscilan entre 22 y 30 °C, aunque puede crecer y producir micotoxinas entre 0 y 6,5 °C en las regiones más frías y con baja actividad de agua. El género *Alternaria* deteriora alimentos durante el transporte y el almacenamiento, incluso en alimentos refrigerados por debajo de la temperatura marcada. Por este motivo, las mico-

toxinas de *Alternaria* se encuentran con frecuencia en una gran variedad de productos vegetales frescos y procesados (Tabla 1).

La presencia de micotoxinas de *Alternaria* en alimentos es probable en las condiciones óptimas de crecimiento (Soriano, 2007) (Barkai-Golan, 2008) (Ostry, 2008) (Barros et al., 2011) (Pavón et al., 2012). El consumo humano directo de alimentos infectados de forma visible con hongos es improbable en humanos. Los alimentos más probablemente contaminados con micotoxinas de *Alternaria* son frutas y verduras (Tabla 1). Sin embargo, es frecuente encontrarlas en alimentos procesados como salsas de tomate, conservas, mermeladas, vino o zumos de fruta (Fernández-Cruz et al., 2010). La presencia de micotoxinas de *Alternaria* en cereales es muy común debido al almacenamiento de los granos en condiciones favorables para el crecimiento del hongo (Logrieco et al., 2003). También, se ha detectado la presencia de AME y TeA en preparados infantiles que contenían cereales en su composición (Scoot et al., 2012). En semillas oleaginosas como la colza, el girasol, el sésamo y la linaza se ha determinado la presencia de AOH y AME (Visconti et al., 1986) (Ostry et al., 2004) (Ostry, 2008), al igual que en legumbres como las lentejas y la soja (Barkai-Golan, 2008) (Barros et al., 2011).

Estudios *in vivo* e *in vitro* han demostrado que el AME posee una mala absorción en el tracto gastrointestinal; no obstante, la proporción absorbida se metaboliza y persiste en los tejidos (Pollock et al., 1982) (Pfeiffer et al., 2007). El AOH y el AME producen metabolitos hidroxilados, principalmente catecoles, a través del citocromo P-450. La importancia de los catecoles radica en su capacidad para formar intermediarios reactivos tales como quinonas y semiquinonas que son capaces de producir especies reactivas del oxígeno (ROS) e unirse al ADN dando lugar a aductos de ADN (Solhaug et al., 2012). El AOH y el AME (Figura 2) tienen 3 y 2 grupos hidroxilo fenólicos respectivamente, que reaccionan con el ácido uridíndifosfato glucurónico (UDPGA), mediante enzimas uridínglucuronil-transferasas (UGTs), microsomas intestinales y hepáticas formando conjugados glucurónidos tales como AOH-3-O-glucurónido, AOH-9-O-glucurónido y AME-3-O-glucurónido (Pfeiffer et al., 2009). Ambas micotoxinas de *Alternaria* se glucuronidan fácilmente en tejidos hepáticos y extra hepáticos. Estas micotoxinas además pueden formar conjugados sulfatados mediante sulfotransferasas y por biometilación compuestos O- metilados (Pfeiffer et al., 2007) (Burkhardt et al., 2009, 2011). Por tanto, aunque el AOH no se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal, una vez biotransformado en hígado y excretado vía biliar al duodeno, se absorbe rápidamente desde el lumen intestinal y alcanza la sangre portal en forma de aglicona, glucurónido y sulfato (Burkhardt et al., 2011).

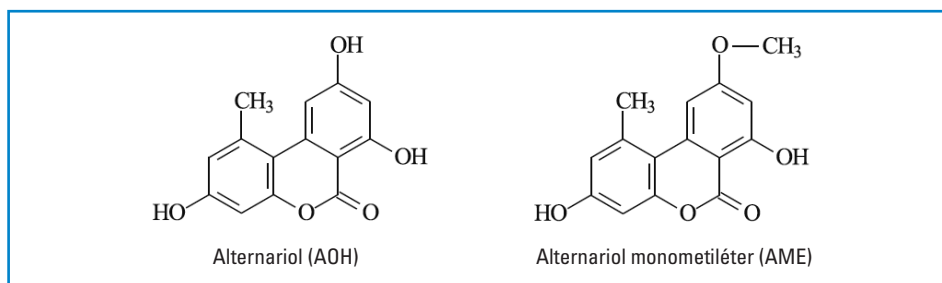


Figura 2. Estructura química del alternariol y alternariol monometiléter

Los metabolitos de *Alternaria* exhiben diferentes actividades biológicas tales como propiedades antimicrobianas, fitotóxicas y citotóxicas. Por ejemplo, la porritoxina de la especie endofítica de *Alternaria porri* se ha estudiado como agente quimioprotector del cáncer (Horiuchi et al., 2006). La depudecina es un metabolito de la especie *A. brassicicola*, inhibidor de la histonadeacetilasa (HDAC), que presenta un potencial antitumoral (Kwon et al., 2003). Por otra parte, el TeA y la TEN se han estudiado como posibles herbicidas (Lou et al., 2013).

Se dispone de escasos estudios de toxicidad aguda y crónica experimentales en especies animales. Como se observa en la tabla 2, los animales de experimentación o embriones se exponen a extractos crudos de hongos de *Alternaria* o micotoxinas tales como AOH, AME, mezcla de AOH+AME, ALT, ATX-I, ATX-II y TeA por diferentes vías de administración, oral, intravenosa, intraperitoneal y subcutánea (Tabla 2). De todos los estudios de toxicidad aguda realizados, únicamente la TeA mostró valor de DL₅₀ en pollos de 1 día y en ratones, variando entre 37,5 a 225 mg/kg p.c./día. En la tabla 2, también se observan algunos efectos de toxicidad crónica obtenidos tras la exposición de animales de experimentación a diferentes dosis de micotoxinas de *Alternaria*.

Estudios *in vitro* evidencian que algunas micotoxinas de *Alternaria* provocan genotoxicidad en bacterias y células de mamíferos (Tiessen et al., 2013), efectos clastogénicos y de inducción de rotura del ADN en diferentes células de mamíferos (Lehmann et al., 2006) (Wollenhaupt et al., 2008) (Fehr et al., 2009).

En humanos se ha observado que en personas inmunodeficientes (transplantados o enfermos de Cushing) causan infecciones oportunistas, alternariosis cutánea (placas pardorrojizas papulonodulares, pustulosas o ulcerocostrosas localizadas (Schracher et al., 2001) (Vieira et al., 2006). Igualmente se relaciona con rinosinusitis, oculomicosis, y onicomycosis (Pastor y Guarro, 2008). Como en el caso de otros hongos en algunos pacientes la exposición a esporas o sus micotoxinas en el contexto del síndrome de hipersensibilidad a moho y humedad (dampness and mold hypersensitivity syndrome) puede producir síntomas del espectro inflamatorio, reumatológico o neurológico (Valtonen, 2017).

Por otro lado, el género *Alternaria* causa reacciones de rinoconjuntivitis y asma mediadas por IgE (de Vouge et al., 1998) (Päivi et al., 2006). La especie *A. alternata* se considera un potente alérgeno, ya que se asocia a asma bronquial severo y es uno de los hongos que más sensibilización produce en pacientes alérgicos. Sin embargo, las reacciones alérgicas por ingesta de alimentos y atribuido a contaminación por hongos es extremadamente rara (Bobolea et al., 2009).

Con los datos disponibles actualmente, no se puede establecer una asociación entre micotoxinas de *Alternaria* y elevada incidencia de cáncer de esófago en humanos debido a múltiples factores limitantes como son la presencia en las mismas muestras de concentraciones elevadas de otros compuestos carcinógenos, sesgo de datos, etc., no considerados en dichos estudios (Liu et al., 1991, 1992) (Yekeler et al., 2001) (EFSA 2011).

Tabla 2. Efectos tóxicos de las micotoxinas de *Alternaria* mediante ensayos *in vivo*

Especie	Micotoxina	Vía y dosis	Tipo de ensayo	Efectos	Referencia	
Ratón	AOH, AME	<i>i.p.</i> 100,200, 400 mg/kg p.c. AOH+AME (100+100) mg/kg p.c.	Toxicidad aguda	Espasmos gástricos	Pero et al. (1973)	
	AOH	<i>s.c.</i> 100 mg/kg p.c. día Administración a 9-12 días de la gestación y a 13-16 de la gestación	Reproducción y desarrollo	Aumento de muertes. Reabsorción parcial o total del feto		
	AOH	200 y 1 000 mg/kg p.c. (AOH radiomarcado)	Toxicocinética	Baja absorción sistémica, 90 % de la dosis total se excreta por las heces y hasta 9 % a través de la orina. Niveles significativos en sangre (0,5 µM)	Schuchardt et al. (2014)	
		3 x 2 000 mg/kg (0, 24, y 45 horas), tras 48 horas los ratones se sacrifican	Genotoxicidad. Ensayos de micronúcleos y cometa	No se observó efecto genotóxico en médula ósea ni en tejido hepático		
	AME	Alimento: 50 mg/kg p.c. 10 meses	Carcinogenicidad	Displasia de la mucosa esofágica	Yekeler et al. (2001)	
	ALT	<i>i.p.</i> 50 mg/kg p.c. (hembras)	Toxicidad aguda	Muertes: 1/3	Pero et al. (1973)	
	ATX-I	<i>i.p.</i> 100 y 200 mg/kg p.c. (hembras)		Muertes: 0/8 (100 mg/kg p.c.); 8/8 (200 mg/kg p.c.)		
	ATX-II	<i>i.p.</i> 100 y 200 mg/kg p.c. (hembras)		Muertes: 0/2 (100 mg/kg p.c.) 2/2 (100 mg/kg p.c.)		
	TeA	Sal sódica <i>i.v.</i>		DL ₅₀ = 162 (machos); DL ₅₀ = 115 (hembras)	Toxicidad aguda	DL ₅₀ = 186 mg/kg p.c. (machos); DL ₅₀ = 81 mg/kg p.c. (hembras)
		Sal sódica oral				
<i>i.v.</i>		DL ₅₀ = 125 mg/kg p.c. (machos)	Toxicidad aguda	DL ₅₀ = 145 mg/kg p.c. (machos)	Woodey y Chu (1992)	
<i>i.p.</i>		DL ₅₀ = 150 mg/kg p.c. (machos)				
<i>s.c.</i>		DL ₅₀ = 145 mg/kg p.c. (machos)				
Oral		DL ₅₀ = 225 mg/kg p.c. (machos)				

Tabla 2. Efectos tóxicos de las micotoxinas de *Alternaria* mediante ensayos *in vivo*

Especie	Micotoxina	Vía y dosis	Tipo de ensayo	Efectos	Referencia
Rata	AME, AOH	AOH: 21 días con 39 mg/kg y día AME: 21 días con 24 mg/kg y día	Toxicidad crónica	No hay evidencia de toxicidad	Sauer et al. (1978)
	TeA	Sal sódica <i>i.v.</i>	Toxicidad aguda	DL ₅₀ = 146 mg/kg p.c. (machos); DL ₅₀ = 157 mg/kg p.c. (hembras)	Smith et al. (1968)
Sal sódica oral		DL ₅₀ = 180 mg/kg p.c. (machos); DL ₅₀ = 168 mg/kg p.c. (hembras)			
Hamster	AME	<i>i.p.</i> 200 mg/kg p.c. el día 8 de la gestación	Reproducción y desarrollo	Dosis tóxicas para la madre. Aumento de reabsorciones y disminución del peso del feto	Pollock et al. (1982)
Pollo de 1 día de vida	TeA	Oral	Toxicidad aguda	DL ₅₀ = 37,5 mg/kg p.c.	Giambrone et al. (1978)
Embrión de pollo	AME, AOH	<i>i.p.</i> 1 000 (AOH), 500 (AME) µg por huevo		No mortalidad	Griffin y Chu (1983)
	TeA	10 µg/ml de TeA	DL ₅₀ = 0,548 mg/huevo		

Abreviaturas: AOH: alternariol; AME: alternariol monometil éter; TeA: ácido tenazoico; *i.p.*: intraperitoneal; *sc.*: subcutánea; p.c.: peso corporal.

2.6.2 Evaluación de la exposición y caracterización del riesgo

Las mayores concentraciones de micotoxinas de *Alternaria* encontradas en alimentos según EFSA se detallan a continuación (EFSA, 2016). Para el tratamiento de los datos en los que no se detecta micotoxina, se sigue (según recomienda EFSA, 2010) la guía que sugiere el enfoque del límite inferior (LB) donde los valores por debajo del límite de cuantificación (LOQ) y el límite de detección (LOD) se reemplazan por cero y para el límite superior (UB) los valores por debajo del LOD se reemplazan por el LOD y aquellos por debajo del LOQ se reemplazan por el valor del LOQ. Así, las concentraciones más altas de AOH se han encontrado en castañas (LB= 43,9 µg/kg, UB= 44,5 µg/kg), seguidas de avena (LB= 35,3 µg/kg, UB= 39,7 µg/kg), trigo sarraceno (LB= 27,9 µg/kg, UB= 33,1 µg/kg) y semillas de girasol (LB= 22,4 µg/kg, UB= 29,1 µg/kg). En el caso del AME, las mayores concentraciones se encontraron en castañas (LB= 16,8 µg/kg, UB= 17,5 µg/kg), seguidas de semillas de sésamo (LB= 11,3 µg/kg, UB= 11,8 µg/kg), trigo sarraceno (LB= 10,1 µg/kg, UB= 11,0 µg/kg) y avena (LB= 6,4 µg/kg, UB= 7,1 µg/kg). Respeto al TEN, las semillas de girasol presentaron las concentraciones más altas (LB= 79,0 µg/kg, UB= 82,0 µg/kg). Para el TeA todos los alimentos analizados contenían concentraciones muy superiores al resto de micotoxinas de *Alternaria* analizadas. Las concentraciones más eleva-

das se obtuvieron en pimentón en polvo (LB= 8 801,0 µg/kg, UB= 8 802,0 µg/kg) y moras (LB= UB= 5 742,0 µg/kg). El resto de alimentos contenían concentraciones de TeA muy superiores a las concentraciones en alimentos del AOH y AME. Por poner algún ejemplo, las castañas contenían niveles de TeA de 793,0 µg/kg (LB) y 794 µg/kg (UB) y las semillas de girasol 563,0 µg/kg (LB) y 570 µg/kg (UB).

Actualmente no hay legislación sobre toxinas de *Alternaria* en alimentos ni en piensos en Europa o en otras regiones del mundo. EFSA considera las siguientes micotoxinas AOH, AME, TeA, iso-TaA, ATX, TEN, ALT y toxinas AAL (por su mayor presencia en alimentos y piensos) para llevar a cabo la evaluación de riesgos en alimentos y piensos (EFSA 2011, 2016). Debido a los pocos datos de toxicidad disponibles de las micotoxinas de *Alternaria*, el Panel CONTAM de EFSA utiliza el concepto de umbral de preocupación toxicológica (*Threshold of Toxicological Concern*, TTC) para evaluar el nivel relativo de preocupación de estas micotoxinas para la salud humana. El Panel concluyó que para las toxinas genotóxicas de *Alternaria* (AOH y AME), las exposiciones dietéticas crónicas medias estimadas en el límite superior (UB) y las exposiciones dietéticas del percentil 95 excedían el valor TTC (2,5 ng/kg p.c./día). Esto indica la necesidad de datos adicionales de toxicidad específica del compuesto ya que suponen un riesgo para la salud. Para las toxinas de *Alternaria* no genotóxicas por el test de mutagenicidad en bacterias (TeA y TEN con un valor de TTC de 1 500 ng/kg p.c./día), las estimaciones de exposición probablemente no sean un problema de salud humana considerando las concentraciones encontradas en los alimentos evaluados (EFSA, 2016).

EFSA ha determinado los niveles de exposición diarios de las micotoxinas de *Alternaria* para distintos grupos de población (Tabla 3) (EFSA, 2011). En la estimación de la exposición crónica a esta micotoxinas se consideran únicamente alimentos de origen vegetal, puesto que no se ha demostrado la presencia de micotoxinas de *Alternaria* en alimentos de origen animal (EFSA, 2011, 2016). Los alimentos incluidos en dicho estudio fueron: granos y productos a base de granos, vegetales y productos a base de vegetales (principalmente tomate), frutas y productos a base de frutas incluyendo zumos de frutas y vegetales, cerveza, vino, aceite de semillas y aceites vegetales (principalmente aceite de girasol y semillas de girasol). La exposición crónica a través de la dieta se calcula únicamente para dos grupos de edad, niños y adultos.

En la tabla 3 se muestra la exposición dietética media (consumo promedio en la población) y la exposición dietética alta (consumo de alimentos en el percentil 95 en la población) a micotoxinas de *Alternaria* según los informes de EFSA (2011, 2016). La exposición se calculó por separado para cada encuesta dietética utilizando datos de consumo a nivel individual. Los datos de consumo de alimentos individuales se combinaron con los valores medios de presencia de micotoxinas en el alimento para proporcionar las estimaciones de exposición. Las estimaciones de exposición se calcularon para ambos escenarios, LB (límite inferior) y UB (límite superior). Hay que destacar que en el informe se nombra que hay muchas muestras donde no se detectan micotoxinas de *Alternaria*, al estar por debajo del límite de detección o del límite de cuantificación. Como se muestra en la tabla 3, la comparación demuestra que el mayor consumo de alimentos por kg de peso corporal en niños supone una exposición dietética mayor en comparación con los adultos (factor de 2 a 3).

Tabla 3. Estimación de la exposición crónica a alternariol (AOH), alternariol monometiléter (AME), ácido tenazónico (TeA) y tentoxina (TEN) a través de la ingesta en adultos y niños

Micotoxina	Exposición media a través de la dieta (ng/kg p.c./día)		Percentil 95 % (ng/kg)	
	Niños (LB-UB)*	Adultos (LB-UB)*	Niños (LB-UB)*	Adultos (LB-UB)*
AOH	3,8-71,6	1,9-39,0	11,4-270,5	5,9-82,0
AME	3,4-38,8	0,8-4,7	10,3-97,3	3,1-15,0
TeA	100,0-1 614,0	36,0-141,0	209,0-1 216,0	89,0-362,0
TEN	1,6-33,4	0,01-7,0	4,9-54,4	0,0-13,0

*Niños (12-36 meses), adultos (18-65 años); LB (*lower bound*): límite inferior; UB (*upper bound*): límite superior. **Fuente:** (EFSA, 2016).

Debido a la presencia de estas micotoxinas principalmente en alimentos vegetales, los vegetarianos pueden estar más expuestos a estas toxinas debido a la mayor ingesta de alimentos de origen vegetal. No se dispone de muchos datos de consumo, pero considerando encuestas dietéticas con sujetos vegetarianos, como se muestra en la tabla 4, el informe de EFSA demuestra que la exposición crónica a las cuatro micotoxinas de *Alternaria* (AOH, AME, TeA y TEN) a través de la ingesta es mayor en los vegetarianos que en la población general (EFSA, 2016). No obstante, debido al tamaño muestral, esta conclusión debe interpretarse con cautela.

Tabla 4. Comparación de la exposición a alternariol (AOH), alternariol monometiléter (AME), ácido tenazónico (TeA) y tentoxina (TEN) en vegetarianos adultos y población adulta total de una encuesta dietética seleccionada (Encuesta Nacional de Nutrición II, Alemania)

Micotoxina	Exposición media a través de la dieta (ng/kg p.c./día)		Percentil 95 % (ng/kg)	
	Vegetarianos (LB-UB)*	Población total (LB-UB)*	Vegetarianos (LB-UB)*	Población total (LB-UB)*
AOH	3,5-14,4	2,1-8,9	11,3-45,5	7,8-31,8
AME	1,8-10,3	1,1-7,4	8,1-29,8	4,2-19,7
TeA	127,0-227,0	87,0-186,0	442,0-592,0	263,0-403,0
TEN	1,6-5,2	0,8-3,3	4,5-12,4	3,3-10,7

*Vegetarianos (n= 237), población total (n= 10 419); LB (*lower bound*): límite inferior; UB (*upper bound*): límite superior. **Fuente:** (EFSA, 2016).

2.6.3 Estrategias de mitigación de micotoxinas

Las estrategias previas y posteriores a la cosecha se utilizan para tratar de eliminar las micotoxinas en los alimentos y los piensos y prevenir sus efectos adversos sobre la salud de los seres humanos y animales. Evitar la formación de micotoxinas en el campo sería el mejor método de prevención, pero a menudo no es suficiente y se deben emplear otros métodos. Las estrategias de prevención durante el cultivo y el almacenamiento tienen como objetivo la selección de variedades de cultivos que puedan resistir el ataque de hongos; evitar temperaturas favorables para el desarrollo de los hongos; evita que la floración coincida con la liberación de esporas; utilizar técnicas de cultivo adecuadas para reducir el riesgo de contaminación por hongos; evitar el ataque de insectos; uso de técnicas de biocontrol; controlar el contenido de humedad y la concentración de oxígeno durante el almacenamiento; etc. Sin embargo, muchas veces estas medidas no se siguen correctamente o no producen cultivos libres de micotoxinas. En estos casos, es necesaria una etapa de descontaminación o degradación de las micotoxinas transformándolas en metabolitos menos tóxicos.

Entre los métodos para reducir o eliminar la presencia de las micotoxinas en los alimentos se incluyen la reducción química mediante el uso de sustancias químicas durante el procesamiento de alimentos, el uso de técnicas durante el tratamiento del alimento y la reducción de la bioaccesibilidad de las micotoxinas una vez absorbidas.

En la reducción química se usan sustancias que han demostrado ser eficaces para transformar las micotoxinas en metabolitos menos tóxicos o inactivarlos completamente. Entre estos compuestos se incluyen los isotiocianatos (ITC), compuestos reactivos naturales antimicrobianos que inhiben el crecimiento del hongo (Azaiez et al., 2013) (Nazareth et al., 2016).

Aunque las micotoxinas son compuestos estables, algunos tratamientos alimentarios como limpieza, molienda, fermentación con levaduras (cerveza, panificación), cocción, horneado, fritura, asado, enlatado, descascarillado, etc. pueden afectar la estructura química de algunas de ellas y reducir su toxicidad (Bretz et al., 2006) (Meca et al., 2012a, 2013a, b).

Y por último, se ha comprobado la reducción de la bioaccesibilidad de las micotoxinas en el tracto gastrointestinal mediante el empleo de cepas probióticas (*Lactobacillus animalis*, *Lb. Casei*, *Lb. Casei*, *Lb. Plantarum*, *Lb. Ruminis*, *Lb. Casei casei*, *Bifidobacterium breve*, *Bf. Adolescents*, *Bf. Bifidum*, *Corynebacterium vitaeruminis*, *Streptococcus faecalis*, *Eubacterium crispatus* y *Saccharomyces cerevisiae*). Los probióticos se emplean porque el ácido láctico que producen las bacterias se considera un agente detoxicante en el tracto gastrointestinal. Los mayor efectividad se ha obtenido con cepas de *Lactobacillus rhamnosus* (Meca et al., 2012b). Otros sistemas de reducción de la bioaccesibilidad son el empleo de los prebióticos celulosa e inulina, de las fibras dietéticas como galactomanano, glucomanano, fibra de cítricos, fibra de bambú, fibra de zanahoria, fibra de pastel, beta-glucan, xilan, y celulosa; y de los ingredientes de proteínas como el suero de leche, beta-lactoglobulina y caseinato de calcio (Luz et al., 2017).

2.6.4 Conclusiones y consideraciones futuras

Se encontraron micotoxinas de *Alternaria* (AOH, AME, TeA y TEN) en ciertos granos y productos a base de granos, tomate y productos de tomate, semillas de girasol y aceite de girasol, frutas, zumos

y productos de frutas, en cerveza y vino. La TeA fue la micotoxina de *Alternaria* con concentraciones más altas encontradas en productos a base de tomate, frutos secos, semillas oleaginosas, granos y frutas.

La mayor exposición a través de la dieta se estimó en vegetarianos y en niños debido principalmente a una mayor exposición a “alimentos a base de cereales para bebés y niños pequeños”.

Se necesita más información sobre la toxicocinética, incluido el metabolismo de las micotoxinas de *Alternaria* con mayor relevancia toxicológica, así como datos de toxicidad crónica, los cuales escasean en la mayoría de las micotoxinas de *Alternaria*.

Es necesario generar más datos analíticos sobre toxinas de *Alternaria* en productos alimenticios relevantes (por ejemplo, frutas y productos de frutas, tomates y productos a base de tomate, alimentos a base de cereales para bebés y niños pequeños, entre otros) y desarrollar métodos analíticos más sensibles que permitan reducir la incertidumbre asociada a la exposición a las diferentes toxinas de *Alternaria*.

2.7 Micotoxinas de *Fusarium* (Eniatinas, Nivalenol)

2.7.1 Identificación y caracterización del peligro

Las micotoxinas emergentes de *Fusarium* tales como eniatinas (Ens) y nivalenol (NIV) están ganando interés debido a que no están aún reguladas y/o por su aparición concomitante con otras micotoxinas (EFSA, 2014b, 2017) (Moretti et al., 2018). Las Ens pueden estar presentes en cantidades significativas en granos tales como trigo infectado con *F. avenaceum*. El NV se encuentra en trigo, maíz, cebada, avena y arroz infectados con *F. crookwellence* o *F. poae* principalmente, en condiciones determinadas de humedad y temperatura (EFSA, 2013, 2014b). Las Ens, de entre las de mayor prevalencia de estas toxinas, suelen encontrarse junto a bauvericina, deoxinivalenol, moniliformina y fumonisinas (Meca et al., 2010) (Svingen et al., 2017).

2.7.1.1 Estructura química

Las Ens son un grupo amplio de hexadepsipéptidos cíclicos estructuralmente relacionados que consisten en tres residuos alternativamente unidos de ácido D22-hidroxicarboxílico y N-metilaminoácidos. Hasta el momento se han identificado 29 análogos naturales, pero sólo 4 de ellos, Eniatina A, A1, B y B1 han sido detectados de forma frecuente en alimentos (EFSA, 2014b). Debido a sus propiedades apolares las Ens pueden incorporarse en las membranas celulares y crear canales selectivos de cationes (Svingen et al., 2017). La más representativa en exposición humana es la EN-B (Maranghi et al., 2018).

El NIV es un tricoteceno tipo B, sesquiterpenoide tetracíclico con un grupo ceto en la posición 8. La fusarenona-X (FUS-X, 4-acetilnivalenol) es un precursor del NIV y los únicos productos de biotransformación identificados hasta el momento son el metabolito de fase I de-epoxi-nivalenol (DE-NIV) y el metabolito de fase II nivalenol-3-glucósido (NIV3Glc). Sin embargo, se espera que se formen otros metabolitos conjugados en plantas y hongos (EFSA, 2017).

2.7.1.2 Toxicocinética (ADME)

Los datos *in vitro* indican que las Ens son absorbidas y rápidamente metabolizadas a metabolitos no caracterizados (Meca et al., 2011) (Prosperini et al., 2013). Los estudios *in vivo* sugieren que la EN-B se elimina rápidamente de la sangre por excreción hepatobiliar (Rodríguez-Carrasco et al., 2016). Los metabolitos de EN-B se han encontrado tanto en hígado como en colon, lo que potencialmente contribuye a su distribución y producción de efectos tóxicos (Rodríguez-Carrasco et al., 2016) (Maranghi et al., 2018). Además, se han identificado algunos metabolitos de fase I de EN-B en hígado y colon lo que sugiere la posible contribución del metabolismo hepático e intestinal en el metabolismo de 1er paso de la EN-B (Rodríguez-Carrasco et al., 2016).

La información con respecto a la absorción de NIV es limitada, pero es rápida y parece que se distribuye y elimina sin acumulación (Poapolathep et al., 2003) (EFSA, 2013, 2017). Los conjugados de NIV pueden romperse en el tracto gastrointestinal liberando NIV (EFSA, 2014c).

En muchas ocasiones, los productos de biotransformación de las micotoxinas pueden contribuir a la toxicidad global (EFSA, 2017).

2.7.1.3 Mecanismo de acción

Las Ens tienen un amplio rango de actividades biológicas: son ionóforos (Meca et al., 2011), inhibidores de enzimas (Ivanova et al., 2011), y oxidantes (Prosperini et al., 2013). Son citotóxicas e inducen apoptosis, aparentemente en relación con sus propiedades ionofóricas (Meca et al., 2011) (EFSA, 2014b) (Fraeyman et al., 2017).

El NIV induce apoptosis *in vitro* en células del sistema inmune: linfocitos, células dendríticas y macrófagos (EFSA, 2013). En estudios *in vivo* el NIV tiene como diana al sistema inmune incrementando la apoptosis de los linfocitos en el timo, las placas de Peyer o el bazo (Sugita-Konishiet al., 2008). El NIV induce tanto inmunotoxicidad como hematotoxicidad. También se ha observado toxicidad reproductiva y del desarrollo, pero no se considera probable que sea un efecto crítico del NIV (EFSA, 2013).

2.7.1.4 Genotoxicidad y carcinogenicidad

La EN-B mostró un efecto genotóxico en médula ósea y células hepáticas tras administración oral aguda en ratones macho. No se observó daño en el ADN, mutaciones génicas o daño cromosómico tras exposición repetida (Maranghi et al., 2018). No se han identificado estudios de carcinogenicidad de Ens ni informes sobre toxicosis humanas por Ens (EFSA, 2014b).

El NIV no es probable que sea genotóxico (Le Hégarat et al., 2014), y su carcinogenicidad es desconocida en base a los estudios disponibles (EFSA, 2013). La IARC lo incluye en el grupo 3, no clasificable por su carcinogenicidad en humanos.

2.7.1.5 Niveles guía en salud

La EFSA concluyó que no había datos suficientes para establecer una ingesta diaria tolerable (TDI) o bien una ingesta de referencia aguda para la suma de Ens (EFSA, 2014b). Para el NIV, sin embargo, estableció una TDI de 1,2 µg/kg p.c. (EFSA, 2017).

2.7.2 Evaluación de la exposición

2.7.2.1 Métodos analíticos de detección

La cuantificación de las Ens se realiza por LC-MS(/MS) a menudo con un enfoque multi analito; UH-PLC combinada con MS o por métodos inmunohistoquímicos (Rodríguez-Carrasco et al., 2016). Sin embargo, ninguno ha sido validado inter-laboratorio y no hay materiales de referencia o estándares analíticos comercialmente disponibles (EFSA, 2014b).

Para el NIV hay métodos analíticos (principalmente LC-MS(/MS)) disponibles, pero su alta polaridad afecta a las tasas de recuperación. Así, la detección es más difícil en comparación con otros tricotecenos, lo que explica por qué otros metabolitos de fase II del NIV no hayan sido identificados aún. Los kits de ELISA son capaces de detectar NIV de forma selectiva y se han desarrollado inmunoensayos de resonancia de plasmón superficial, pero aún están en fase de investigación y no son adecuados para su aplicación rutinaria. Sin embargo, ninguno de los métodos cromatográficos o inmunológicos han sido validados en estudios interlaboratorio (EFSA, 2013) y no hay disponibles comercialmente estándares y materiales de referencia de formas modificadas de NIV (EFSA, 2017).

2.7.2.2 Presencia en alimentos

El Panel CONTAM de EFSA (2014b) informó de las siguientes concentraciones medias máximas para Ens en granos sin procesar: cebada (703 µg/kg), centeno (650 µg/kg), y trigo (446 µg/kg), con un límite de cuantificación (LOQ) de 0,3-10,8 µg/kg. El grano y los productos basados en grano son los que más contribuyen a la exposición, especialmente pan y bollería (EFSA, 2014b).

El NIV está presente junto con menores cantidades de otros tricotecenos en granos, principalmente en avena, maíz, cebada y trigo (Juan et al., 2016) (Rodríguez-Carrasco et al., 2016). Los granos y los alimentos basados en granos son los que contribuyen en mayor proporción a la exposición de NIV. En particular pan, bollería, productos a base de grano molido, pasta, productos de panadería fina y cereales para el desayuno (EFSA, 2013).

Tanto las Ens como el NIV, al igual que la mayoría de las micotoxinas y sus formas modificadas, se concentran en las capas externas de los granos. La limpieza, la clasificación y el fresado los redistribuyen provocando una concentración en el salvado y la fibra, con una reducción de las fracciones utilizadas para el consumo humano. Por lo tanto, los productos enriquecidos con salvado y fibra son más propensos a la contaminación (EFSA, 2014a). Son estables durante el procesamiento para su comercialización, incluidos los procedimientos de secado y ensilado (EFSA, 2013) (Rodríguez-Carrasco et al., 2016).

2.7.2.3 Exposición dietética

La preocupación por la salud debido a la exposición dietética a las Ens se centra en los niños pequeños (1-3 años) y los niños, ya que varios informes los señalaron como los grupos de edad con mayor riesgo. El valor medio más alto de exposición dietética crónica a Ens en niños pequeños fue de 0,42-1,82 µg/kg p.c./día, con un percentil 95 de 0,91-3,28 µg/kg p.c./día (EFSA, 2014b).

Para el NIV la exposición crónica más alta se ha estimado para niños pequeños (1-3 años), oscilando entre 4,3-202 ng/kg p.c./día para consumidores moderados y 12-484 ng/kg p.c./día para grandes consumidores (EFSA, 2013).

2.7.3 Caracterización del riesgo

El Panel CONTAM de EFSA (2014b) concluyó que la exposición aguda a Ens no es indicativa de preocupación para la salud humana. Podría haber preocupación con respecto a la exposición crónica, pero no se pueden sacar conclusiones definitivas ya que son necesarios datos de toxicidad *in vivo* relevantes que permitan realizar la evaluación del riesgo en humanos.

La exposición a NIV y sus formas modificadas no supone una preocupación ya que la exposición más alta (percentil 95) para grandes consumidores (12-484 ng/kg p.c./día), fue menos del 20 % de la IDT establecida para NIV (1,2 µg/kg p.c./día) (EFSA, 2013).

2.7.4 Niveles máximos legislados

Las Ens y el NIV no están incluidos en el anexo del Reglamento (CE) N° 1881/2006 de la Comisión por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios (UE, 2006), y no están reguladas bajo la Directiva 2002/32/EC sobre sustancias indeseables en la salud animal (UE, 2002).

2.7.5 Consideraciones futuras

Como conclusión, es probable que la evaluación de la exposición realizada hasta el momento haya sido infraestimada debido a la falta de métodos validados de *screening*, detección y cuantificación de toxinas emergentes tales como Ens, NIV, sus formas modificadas y sus mezclas. Además, hay una clara necesidad de evaluar más profundamente su potencial toxicológico. Se deberían hacer más esfuerzos en desarrollar y establecer programas de monitorización continuados. Son necesarios datos adicionales sobre la co-presencia, prevalencia y efectos combinados de las micotoxinas de *Fusarium*. Los métodos analíticos para Ens, NIV y sus formas modificadas deberían ser evaluadas en estudios de validación inter-laboratorios así como desarrollarse protocolos y materiales de referencia. Además, se precisa más investigación *in vivo* enfocada en dilucidar las vías metabólicas, la toxicocinética y la toxicidad y genotoxicidad tanto de Ens, NIV, sus derivados y metabolitos.

2.8 Alcaloides de la pirrolizidina

2.8.1 Identificación y caracterización del peligro

Los alcaloides de la pirrolizidina (AP) son un amplio grupo de metabolitos secundarios altamente tóxicos para humanos y animales (OMS, 2016) (EFSA, 2017). Los AP son producidos por más de 6 000 especies de plantas de las familias *Boraginaceae* (todos los géneros), *Compositae (Asteraceae)* y *Leguminosae (Fabaceae)* (género *Crotalaria*) (OMS, 2016).

2.8.1.1 Estructura química

Los AP son compuestos heterocíclicos la mayoría de ellos derivados de cuatro bases de necina (platinecina, retotecina, heliotridina o otonecina) (EFSA, 2007) (Codex, 2018). La mayoría de los AP naturales son necinas esterificadas o alcaloides N-óxidos (a excepción de los alcaloides tipo otonecina), mientras que los AP no esterificados se dan con menor frecuencia en plantas (Codex,

2018). Sin embargo, nuevos AP continúan siendo identificados tanto en especies de plantas nuevas como en otras ya estudiadas (OMS, 2016).

Los AP hepatotóxicos tienen una base de necina insaturada, mientras que en los no hepatotóxicos esta base de necina está saturada. Los primeros tienen una mayor toxicidad porque pueden sufrir una activación metabólica y formar pirroles reactivos que pueden reaccionar con las proteínas y formar aductos de ADN (EFSA, 2011).

2.8.1.2 Toxicocinética

Los AP 1,2 insaturados son absorbidos rápidamente y distribuidos en el cuerpo. Los AP-N-óxidos son reducidos a sus bases libres en el tracto digestivo (Hessel et al., 2014) (OMS, 2016). Tras la ingestión, los AP sufren metabolismo hepático. Los AP 1,2 insaturados son metabolizados en el hígado por tres vías: (1) rotura de los enlaces éster; (2) N-oxigenación de la necina base en los AP con retronecina y heliotridina, dando lugar a N-óxidos que son más rápidamente excretados en la orina; y (3) oxidación a través del citocromo P450 (CYP450) que forma 6,7-dihidro-7-hidroxi-1-hidroximetil-5 [[H]]-ésteres de pirrolizidina (DHP) reactivos. Los ésteres DHP sufren una conjugación con glutatión y otras sustancias nucleofílicas *in vivo* y son hidrolizadas a dioles DHP. Los ésteres reactivos forman por alquilación aductos DHP con grupos nucleofílicos en muchos tejidos (OMS, 2016) (Yang et al., 2017) (Zhu et al., 2017).

2.8.1.3 Mecanismo de acción

Los AP no son sustancias químicamente reactivas por lo que su toxicidad es debida a su activación metabólica. El paso crucial es la formación de derivados pirrólicos (DHP) reactivos, mientras que la biotransformación a N-óxidos representa la vía más común de detoxificación (EFSA, 2007). Los metabolitos pirrólicos se unen a grupos nucleofílicos de las proteínas y ADN celulares dando lugar a aductos y enlaces cruzados (Dusemund et al., 2018). El grado de bioactivación de los pirroles tóxicos depende del grado de esterificación y de la naturaleza de los grupos éster. Por otro lado, la sensibilidad individual a los AP viene dada por el grado de expresión de las enzimas implicadas en su biotransformación (EFSA, 2007).

2.8.1.4 Toxicidad organoespecífica

Los AP tienen un perfil tóxico común, siendo el hígado el principal órgano diana (OMS, 2016) (EFSA, 2017) (Codex, 2018). Los principales signos de toxicidad en todas las especies animales incluyen varios grados de daño hepático progresivo (necrosis hepatocelular centrolobulillar) (Edgar et al., 2014), y enfermedad veno-oclusiva hepática (Kakar et al., 2010). Otros efectos observados incluyen proliferación de conductos biliares, megalocitosis hepática y fibrosis (NTP, 2003) (Merz y Schrenk, 2016) (Codex, 2018). No obstante, también se han indicado efectos en otros órganos: pulmones (hipertensión pulmonar), sistema cardiovascular (hipertrofia ventricular derecha) y daño degenerativo en los riñones (Codex, 2018). El efecto más importante en el hombre es la enfermedad veno-oclusiva hepática (Copples et al., 2003).

2.8.1.5 Genotoxicidad y carcinogenicidad

La genotoxicidad de los APs y de preparaciones que los contienen ha sido extensivamente estudiada tanto *in vitro* como *in vivo* (Merz y Schrenk, 2016) (OMS, 2016) (EFSA, 2017). Los AP 1,2-insaturados que han sido ensayados forman aductos con el ADN y son mutagénicos. La carcinogenicidad es el marcador más crítico tras la exposición prolongada a ciertos AP (OMS, 2016). La riddellina produce hemangiosarcomas en hígado de ratas y ratones y neoplasias alveolares y bronquiolares en ratones hembra (NTP, 2003). La lasiocarpina produce tumores hepatocelulares y angiosarcomas en el hígado de ratas tanto machos como hembras y tumores hematopoyéticos en hembras. La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) ha clasificado tres AP, lasiocarpina, monocrotalina y riddellina en el grupo 2B "posible carcinógeno humano, mientras que otros AP evaluados no pudieron ser clasificados (Grupo 3) debido a la limitada información (Codex, 2018) (EFSA, 2017).

2.8.1.6 Valores de referencia toxicológicos y valores guía en salud

La OMS (2016) concluyó que el mecanismo de acción genotóxico de los AP no permitía establecer valores guía en salud. El Panel CONTAM de EFSA (2011) no pudo establecer una dosis de referencia aguda, pero identificó que un nivel de 2 mg/kg p.c./día estaría asociado a efectos agudos, a partir de la limitada información obtenida de intoxicaciones en humanos. El Panel CONTAM de EFSA (2017) seleccionó el límite inferior del intervalo de confianza de la dosis de referencia que produce un incremento del 10 % extra de incidencia de hemangiosarcoma hepático en ratas hembra expuestas a riddellina (BMDL₁₀ = 237 µg/kg p.c./día) como punto de referencia para la evaluación del riesgo crónico.

2.8.2 Evaluación de la exposición

2.8.2.1 Métodos analíticos de detección

Existen diversos métodos de *screening* para AP: cromatografía en capa fina, electroforesis, resonancia magnética nuclear y métodos inmunológicos. El análisis cuantitativo de los AP se realiza por LC-MS/MS o GC-MS (EFSA, 2011, 2017) (Crews, 2013) (OMS, 2016). Sin embargo, cuando se emplea HPLC-MS/MS no siempre se consigue una separación cromatográfica adecuada y los AP no se pueden distinguir por MS debido a su similar peso molecular (Crews, 2013) (Mulder et al., 2015). Por tanto, una cuantificación exacta de los AP individuales no siempre es posible.

Las principales cuestiones con respecto al análisis de AP incluyen: grandes variaciones en la concentración de AP en las muestras de alimentos; variación natural de los perfiles de AP en plantas; la estabilidad de los AP durante el almacenamiento y la cuantificación de AP individuales o de necinas totales. No se dispone de estándares de alta calidad, estándares internos ni materiales de referencia certificados, y, además, tampoco se cuenta actualmente con métodos armonizados o criterios de actuación específicos para AP (OMS, 2016).

2.8.2.2 Presencia en alimentos

El té y las infusiones de hierbas son los principales alimentos que contribuyen a la exposición total a AP, sin embargo, la miel también lo hace de forma significativa (Kempf et al., 2011) (EFSA, 2017)

(Dusemund et al., 2018). Según el Panel CONTAM de EFSA (2017) los principales AP presentes en té e infusiones de hierbas son: licopsamina, intermedina, intermedina-N-óxido, senecionina, senecionina-N-óxido, senecifilina, senecifilina-N-óxido y retrorsina-N-óxido. Las concentraciones medias más altas de AP fueron encontradas en rooibos (4,1 µg/l) y menta (3,5 µg/l). Y en té negro (1,6 µg/l) fueron el doble de altas con respecto al té verde (0,8 µg /l) (EFSA, 2016).

Su presencia también ha sido identificada en polen fresco de plantas productoras de AP, lo que explica su contenido en la miel y en productos a base de polen (Edgar et al., 2002) (Boppré et al., 2008) (Kempf et al., 2011). A este respecto, el Panel CONTAM determinó equimidina (44 %) y licopsamina (37 %) en mieles comerciales (EFSA, 2017).

Altos niveles de AP también se han encontrado en suplementos alimentarios obtenidos a partir de plantas productoras (Mulder et al., 2015) (EFSA, 2016). En extractos de plantas y suplementos basados en polen los principales AP fueron licopsamina, intermedina y sus N-óxidos. La senkirkina fue, sin embargo, el principal AP en el tussilago, pie de caballo o uña de caballo (*Tussilago*) (EFSA, 2017). Concentraciones medias de AP de 235-253 µg/kg se han encontrado en algunos extractos de plantas consumidos como infusiones tales como borraja (*Borago officinalis*) y consuelda (*Symphytum officinale*) (hasta 29 694 µg/kg producto seco). El eupatorio o canabina (*Eupatorium cannabinum*) vendido como cápsulas/comprimidos para su ingesta directa ha contenido 2 410 275 µg/kg, los niveles más altos de AP (EFSA, 2016).

En niños los alimentos que más contribuyen a la exposición a AP son los tés e infusiones de hierbas (EFSA, 2017).

2.8.3 Caracterización del riesgo

El Panel CONTAM estimó la exposición dietética aguda y crónica a AP en la población europea (EFSA, 2017). Los alimentos que más contribuyen son el té y las infusiones de hierbas. Concluyó que la exposición aguda a AP mediante el consumo de tés, infusiones de hierbas y miel es de bajo riesgo. Sin embargo, las estimaciones más altas de la exposición crónica a AP procedentes de tés e infusiones de hierbas (154-214 ng/kg p.c./día en niños) y de la miel (0,7-31 ng/kg p.c./día para jóvenes grandes consumidores) mostró una posible preocupación para la salud para consumidores frecuentes y elevados, especialmente en niños pequeños (1-3 años) y niños.

El consumo de complementos alimentarios de plantas productoras de AP puede resultar también en niveles de exposición que causan toxicidad aguda. La exposición crónica a AP vía complementos basados en polen (0,7-12 ng/kg p.c./día) también se consideró que puede dar lugar a riesgos. Sin embargo, la exposición aguda (2,8-44 ng/kg p.c./día) no (EFSA, 2017).

Así, el Panel CONTAM (EFSA, 2017) estableció un conjunto de 17 AP que debían ser monitorizados en alimentos: intermedina/licopsamina, intermedina-N-óxido/licopsamina-N-óxido, senecionina/senecivernina, senecionina-N-óxido/senecivernina-N-óxido, senecifilina, senecifilina-N-óxido, retrorsina, retrorsina-N-óxido, equimidina, equimidina-N-óxido, lasiocarpina, lasiocarpina-N-óxido y senkirkina.

2.8.4 Gestión del riesgo

Las regulaciones alemanas restringen el contenido de AP en productos herbáceos con probados beneficios para la salud a 1 µg/día en administración oral, y su uso es limitado a 6 semanas/año (Edgar et al., 2002). Este nivel se reduce a 0,1 µg/día de dosis oral cuando el producto se usa durante un tiempo más prolongado. Su uso en mujeres embarazadas y lactantes está específicamente prohibido, así como en aquellos productos que no hayan demostrado efectos beneficiosos para la salud. Restricciones similares en cuanto a exposición a AP en productos herbáceos se han impuesto en Holanda, Austria y Suiza (Edgar et al., 2002). No obstante, a nivel europeo no se han establecido aún concentraciones máximas permisibles de AP en ningún alimento.

2.8.5 Consideraciones futuras

Es necesario disponer de datos toxicológicos adicionales en relación a los AP más comúnmente encontrados en los alimentos: toxicocinética, activación metabólica y potencia carcinogénica de los AP individuales (EFSA, 2016, 2017) (Codex, 2018). También se requiere información adicional de la presencia y niveles de AP en cereales, alimentos infantiles, complementos alimentarios a base de hierbas (distintos a extractos de plantas) y polen. Pero para ello, deben desarrollarse métodos analíticos más sensibles y desarrollar protocolos especializados para el análisis de los AP más relevantes en alimentos. Además, se requiere investigación adicional sobre las plantas responsables de la presencia de AP en té, infusiones de hierbas, polen o miel y desarrollar medidas adecuadas para controlar la infestación por éstas. También se deberían tener en cuenta otros AP no incluidos entre los 17 que requieren monitorización según EFSA. Finalmente, y debido al posible riesgo detectado en ciertos grupos de población por consumo de AP presentes en determinados alimentos, se debería considerar establecer medidas de gestión del riesgo tales como fijar concentraciones máximas permisibles.

Conclusiones del Comité Científico

Se ha llevado a cabo una revisión de algunos peligros químicos para los que no existe una regulación específica y que pueden suponer un riesgo emergente para la salud. La relación de peligros que se abordan en este informe no pretende ser exhaustiva, ya que no contempla todos los posibles peligros químicos novedosos y su enfoque es el de servir de punto de partida para la posible realización de estudios prospectivos, razón por la cual se presta especial atención a señalar los alimentos que pueden ser de especial importancia en relación a los peligros contemplados.

Al mismo tiempo se han identificado lagunas en el estudio de dichos peligros, lo cual puede servir para promover actividades de investigación encaminadas a obtener nuevos datos relevantes para su correcta evaluación.

Se ha incluido información específica sobre la descripción de la identificación y caracterización de cada uno de los peligros revisados, la evaluación de la exposición, así como una serie de recomendaciones para la gestión del riesgo y consideraciones futuras sobre las posibilidades de control en la cadena alimentaria, que puede servir para mejorar el conocimiento de los mismos entre los consumidores y otros sectores involucrados.

Cilindrospermopsina

- Banker, R., Carmeli, S., Teltsch, B. y Sukenik, A. (2000). 7-epicylindrospermopsin, a toxic minor metabolite of the cyanobacterium *Aphanizomenon ovalisporum* from Lake Kinneret. *Journal of Natural Products*, 63, pp: 387-389.
- BOE (2003). Real Decreto 140/2003, de 7 de febrero, por el que se establecen los criterios sanitarios de la calidad del agua de consumo humano. BOE N° 45 de 21 de febrero de 2003, pp: 7228-7245.
- Buratti, F., Manganelli, M., Vichi, S., Stefanelli, M., Scardala, S., Testai, E. y Funari, E. (2017). Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation. *Archives of Toxicology*, 91, pp: 1049-1130.
- Byth, S. (1980). Palm Island mystery disease. *Medical Journal*, 2, pp: 40-42.
- De Almeida, C., de Arruda, A., de Queiroz, E., Costa, H., Barbosa, P.F., Lemos, T., Oliveira, C., Schwarz, A. y Kujbida, P. (2013). Oral exposure to cylindrospermopsin in pregnant rats: Reproduction and foetal toxicity studies. *Toxicol*, 74, pp: 127-129.
- Cirés, S. y Ballot, A. (2016). A review of the phylogeny, ecology and toxin production of bloom-forming *Planktothrix* spp. and related species within the Nostocales (cyanobacteria). *Harmful Algae*, 54, pp: 21-43.
- Falconer, I., Hardy, S., Humpage, A., Frosco, S., Tozer, G.J. y Hawkins, P.R. (1999). Hepatic and renal toxicity of the blue-green alga (cyanobacterium) *Cylindrospermopsis raciborskii* in male Swiss albino mice. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14 (1), pp: 143-150.
- Frosco, S., Humpage, A.R., Burcham, P.C. y Falconer, I.R. (2003). Cylindrospermopsin-induced protein synthesis inhibition and its dissociation from acute toxicity in mouse hepatocytes. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, pp: 243-251.
- Gutiérrez-Praena, D., Jos, A., Pichardo, S., Moyano, R., Blanco, A., Monterde, J.G. y Cameán, A.M. (2012). Time-dependent histopathological changes induced in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) after acute exposure to pure cylindrospermopsin by oral and intraperitoneal route. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 76, pp: 102-113.
- Guzmán-Guillén, R., Prieto, A.I., González, A.G., Soria-Díaz, M.E. y Cameán, A.M. (2012). Cylindrospermopsin determination in water by LC-MS/MS: Optimization and validation of the method and application to real samples. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (10), pp: 2233-2238.
- Guzmán-Guillén, R., Prieto, A.I., Martín-Cameán, A. y Cameán, A.M. (2015). Beneficial effects of vitamin E supplementation against the oxidative stress on Cylindrospermopsin-exposed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Toxicol*, 104, pp: 34-42.
- Humpage, A.R. y Falconer, I.R. (2003). Oral toxicity of the cyanobacterial toxin cylindrospermopsin in male Swiss Albino mice: determination of no observed adverse effect level for deriving a drinking water guideline value. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, pp: 94-103.
- Kokocinski, M., Cameán, A.M., Carmeli, S., Guzmán-Guillén, R., Jos, A., Mankiewicz-Boczek, J., Metcalf, J.S., Moreno, I., Prieto, A.I. y Sukenik, A. (2017). Chapter 12 cylindrospermopsin and congeners. En libro: *Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, 1ª Edición. Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G.A., Eds.; Wiley: Hoboken, NJ, USA, pp: 127-137.
- Mohamed, Z.A. y Al-Shehri, A.M. (2013). Assessment of cylindrospermopsin toxin in an arid Saudi lake containing dense cyanobacterial bloom. *Environmental Monitoring Assessment* 185 (3), pp: 2157-2166.
- Norris, R., Eaglesham, G.K., Pierens, G., Shaw, G.R., Smith, M.J., Chiswell, R.K., Seawright, A.A. y Moore, M.R. (1999). Deoxycylindrospermopsin, an analog of cylindrospermopsin from *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14, pp: 163-165.
- Norris, R.L., Seawright, A.A., Shaw, G.R., Senogles, P., Eaglesham, G.K., Smith, M.J., Chiswell, R.K. y Moore, M.R. (2002). Hepatic xenobiotic metabolism of cylindrospermopsin in vivo in the mouse. *Toxicol*, 40 (4), pp: 471-476.

- Ohtani, I., Moore, R.E. y Runnegar, M.T.C. (1992). Cylindrospermopsin-A potent hepatotoxin from the bluegreen alga *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Journal of the American Chemical Society*, 114, pp: 7941-7942.
- Pichardo, S., Cameán, A.M. y Jos, A. (2017). *In Vitro* Toxicological Assessment of Cylindrospermopsin: A Review. *Toxins* 9, 402; doi: 10.3390/toxins9120402.
- Quesada, A., Moreno, E., Carrasco, D., Paniagua, T., Wormer, L., De Hoyos, C. y Sukenik, A. (2006). Toxicity of *Aphanizomenon ovalisporum* (Cyanobacteria) in a Spanish water reservoir. *European Journal of Phycology*, 41, pp: 39-45.
- Runnegar, M.T., Kong, S.M., Zhong, Y.Z. y Lu, S.C. (1995). Inhibition of reduced glutathione synthesis by cyanobacterial alkaloid cylindrospermopsin in cultured rat hepatocytes. *Biochemical Pharmacology*, 49, pp: 219-225.
- Rzymiski, P. y Poniedziałek, B. (2014). In search of environmental role of cylindrospermopsin: A review on global distribution and ecology of its producers. *Water Research*, 66, pp: 320-337.
- Seawright, A.A., Nolan, C.C., Shaw, G.R., Chiswell, R.K., Norris, R.L., Moore, M.R. y Smith, M.J. (1999). The oral toxicity for mice of the tropical cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14 (1), pp: 135-142.
- Terao, K., Ohmori, S., Igarashi, K., Ohtani, I., Watanabe, M.F., Harada, K.I., Ito, E. y Watanabe, M. (1994). Electron-microscopic studies on experimental poisoning in mice induced by cylindrospermopsin isolated from blue-green-alga *Umezakia natans*. *Toxicon*, 32 (7), pp: 833-843.
- Testai, E., Buratti, F.M., Funari, E., Manganelli, M., Vichi, S., Arnich, N., Biré, R., Fessard, V. y Sialehaamo, A. (2016). Review and analysis of occurrence, exposure and toxicity of cyanobacteria toxins in food. *EFSA supporting publication*: EN-998, pp: 1-309.
- Triantis, T.M., Kaloudis, T. y Hiskia, A. (2017). SOP 16. Determination of cylindrospermopsin in filtered and drinking water by LC-MS/MS. En libro: *Cyanobacterial Monitoring and Cyanotoxin Analysis*, 1ª Edición. Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G.A., Eds.; Wiley: Hoboken, NJ, USA, pp: 399-404.
- Zegura, B., Straser, A. y Filipic, M. (2011). Genotoxicity and potential carcinogenicity of cyanobacterial toxins-a review. *Mutation Research*, 727, pp: 16-41.

Cloropropanoles y Glicidol

- AOCS (2013a). American Oil Chemists' Society. Joint AOCS/JOCS Official Method Cd 29a-13: 2- and 3-MCPD fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in edible oils and fats by acid transesterification. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 3ª Impresión, 2013-2014. Additions and Revisions. 6ª Edición. Urbana.
- AOCS (2013b). American Oil Chemists' Society. Joint AOCS/JOCS Official Method Cd 29b-13: Determination of Bound Monochloropropanediol-(MCPD-) and Bound 2,3-Epoxy-1-propanol (glycidol-) by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS). Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 3ª Impresión, 2013-2014. Additions and Revisions. 6ª Edición. Urbana.
- AOCS (2013c). American Oil Chemists' Society. Joint AOCS/JOCS Official Method Cd 29c-13: Fattyacid-bound 3-Chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-Epoxy-propane-1-ol (glycidol), Determination in Oils and Fats by GC/MS (Differential Measurement). Official Methods and Recommended Practices of the AOCS, 6ª Edición, 2013-2014. Additions and Revisions. 6ª Edición. Urbana.
- Becalski, A., Feng, S., Lau, B.P.Y. y Zhao, T.X.M. (2015). A pilot survey of 2- and 3-monochloropropanediol and glycidol fatty acid esters in foods on the Canadian market 2011-2013. *Journal of Food Composition and Analysis*, 37, pp: 58-66.
- BfR (2007). Bundeninstitut fur Risikobewertung. Infant formula and follow-up formula may contain harmful 3-MCPD fatty acid esters. *BfR Opinion* No. 047/2007.
- BLL (2016). Federación alemana de derecho alimentario y ciencia de los alimentos. Toolbox for the Mitigation of 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters in Food. Disponible en: https://www.ovid-verband.de/fileadmin/user_

- upload/Hintergrundpapiere/2016-02_BLL_Toolbox_3-MCPD_Glycidyl-Fettsaeureester_Englisch.pdf [acceso: 12-11-18].
- CCCF (2018). Comité del *Codex* sobre contaminantes de los alimentos. Anteproyecto de código de prácticas para reducir los ésteres de 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPDE) y los ésteres glicídilicos (GE) en los aceites refinados y los productos de aceites refinados, especialmente en los preparados para lactantes. CX/CF 18/12/9.
- Crews, C., Hough, P., Brereton, P., Harvey, D., MacArthur, R y Matthews, W. (2002). Survey of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in selected food groups, 1999-2000. *Food Additives and Contaminants*, 19, pp: 22-27.
- EFSA (2013). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Analysis of occurrence of 3- monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in food in Europe in the years 2009-2011 and preliminary exposure assessment. *EFSA Journal*, 11 (9): 3381, pp: 1-45.
- EFSA (2016). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. *EFSA Journal*, 14 (5): 4426, pp: 1-159.
- EFSA (2018). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Update of the risk assessment on 3-monochloropropane diol and its fatty acid esters. *EFSA Journal*, 16 (1), pp: 5083.
- FAO (2007). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos, 1ª Reunión. Documento de debate sobre cloropropanoles obtenidas por fabricación de proteínas vegetales hidrolizadas mediante ácido y procesado térmico de los alimentos, Beijing (China). Disponible en <http://www.fao.org/tempref/codex/Meetings/CCCF/cccf1/cf0113as.pdf> [acceso: 12-11-18].
- FEDIOL (2015). Federación Europea de la Industria Aceitera. MCPD Esters and Glycidyl Esters. Review of Mitigation Measures. Ref. 15SAF108. Disponible en: <http://www.fediol.be/data/FEDIOL%20Review%20of%20Mitigation%20Measures%20MCPD%20Esters%20and%20Glycidyl%20Esters%20-%202024%20June%202015.pdf> [acceso: 12-11-18].
- FSA (2009). Agencia Británica de Seguridad Alimentaria. Survey of process contaminants in retail foods 2008. Food Survey information sheet.
- Haines, T.D., Adlaf, K.J., Pierceall, R.M., Lee, I., Venkitasubramanian, P. y Collison, M.W. (2011). Direct Determination of MCPD Fatty Acid Esters and Glycidyl Fatty Acid Esters in Vegetable Oils by LC–TOFMS. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, pp: 1-14.
- Hamlet, C.G., Sadd, P.A. y Gray, D.A. (2004a). Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. 1 Leavened doughs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, pp: 2059-2066.
- Hamlet, C.G., Sadd, P.A. y Gray, D.A. (2004b). Chloropropanols and their esters in cereal products. *Czech Journal of Food Sciences*, 22, pp: 259-262.
- IARC (2000). Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. Glycidol. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, 77, pp: 469-486.
- IARC (2012). Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. 3- Monochloro-1,2-propanediol. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, 101, pp: 349-374.
- ILSI (2011). Instituto Internacional de Ciencias de la Salud. MCPD and glycidyl esters in food products. *ILSI Europe Report Series* 2011, pp: 1-24. Disponible en: <http://ilsa.org/publication/mcpd-and-glycidyl-esters-in-food-products/> [acceso: 12-11-18].
- IFST (2011). Institute of Food Science & Technology. 3-MCPD in Foods. Information Statement. Disponible en: <http://www.ifst.org/> [acceso: 12-11-18].
- JECFA (2001). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluation of certain food additives and contaminants: fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 5-14 June 2001. WHO technical report series 909, pp: 171. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/42578> [acceso: 12-11-18].

- JECFA (2006). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluation of certain food additives and contaminants: sixty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 20-29 June 2006. WHO technical report series 940, pp: 49-56. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_940_eng.pdf [acceso: 12-11-18].
- JECFA (2016). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluation of certain contaminants in food: eighty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, Rome, 8-17 November 2016. WHO Technical Report Serie 1002. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/254893> [acceso: 12-11-18].
- Jędrkiewicz, R., Głowacz-Różyńska, A., Gromadzka, J., Kloskowski, A. y Namieśnik, J. (2016). Indirect Determination of MCPD Fatty Acid Esters in Lipid Fractions of Commercially Available Infant Formulas for the Assessment of Infants' Health Risk. *Food Analytical Methods*, 9, pp: 3460-3469.
- JRC (2017) Joint Research Center. Development and validation of analytical methods for the analysis of 3-MCPD (both in free and ester form) and glycidyl esters in various food matrices and performance of an ad-hoc survey on specific food groups in support to a scientific opinion on comprehensive risk assessment on the presence of 3-MCPD and glycidyl esters in food. JRC (IRMM) 2015. Disponible en: <https://ec.europa.eu/jrc/en/publication/eur-scientific-and-technical-researchreports/development-and-validation-analytical-methods-analysis-3-mcpd-both-free-and-ester-form-and> [acceso: 12-11-18].
- Leigh, J.K. y MacMahon, S. (2016). Extraction and Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Detection of 3-Monochloropropanediol Esters and Glycidyl Esters in Infant Formula. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64 (49), pp: 9442-9451.
- Leigh, J. y MacMahon, S. (2017). Occurrence of 3-monochloropropanediol esters and glycidyl esters in commercial infant formulas in the United States. *Food Additives & Contaminants*, Part A, 34: 3, pp: 356-370.
- Lu, J., Huang, G., Zhang, S., Song, B., Wang, Z., Xu, L., Zhang, S. y Guan, S. (2013). The inhibition of 2,3-dichloro-1-propanol on T cell in vitro and in vivo. *International Immunopharmacology*, 17 (2), pp: 321-328.
- Lu, J., Huang, G., Hu, S., Wang, Z. y Guan, S. (2014). 1,3-Dichloro-2-propanol induced hyperlipidemia in C57BL/6J mice via AMPK signaling pathway. *Food and Chemical Toxicology*, 64, pp: 403-409.
- Pace, G.V. y Hartman, T.G. (2010). Migration studies of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in polyethylene extrusion-coated paperboard food packaging. *Food Additives & Contaminants*, Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment, 27, pp: 884-891.
- Pavesi Arisseto, A., Cruzeiro Silva, W., Scaranelo, G. y Vicente, E. (2017). 3-MCPD and glycidyl esters in infant formulas from the Brazilian market: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 77, pp: 76-81.
- Rahn, A. y Yaylayan, V.A. (2010). Thermal degradation of sucralose and its potential in generating chloropropanols in the presence of glycerol. *Food Chemistry*, 118, pp: 56-61.
- SCF (2001). Comité Científico de la Alimentación Humana. Opinion of the Scientific Committee on Food on 3-monochloro-propane-1,2-diol (3-MCPD) updating the SCF opinion of 1994. Adopted on 30 May 2001. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_mcpd_out91_en.pdf [acceso: 12-11-18].
- UE (2006). Reglamento (CE) N° 1881/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. DO L 364, 20 de diciembre de 2006, pp: 5-24.
- UE (2007). Reglamento (CE) N° 333/2007 de la Comisión de 28 de marzo de 2007 por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo(a)pireno en los productos alimenticios. DO L 88, 29 de marzo de 2007, pp: 29-38.
- UE (2011). Reglamento (UE) N° 10/2011 de la Comisión de 14 de enero de 2011 sobre materiales y objetos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. DO L 12, 15 de enero de 2011, pp: 1-89.

- UE (2014). Recomendación de la Comisión de 10 de septiembre de 2014 sobre el control de la presencia de 2- y 3-monocloropropano-1,2-diol (2- y 3-MCPD), de ésteres de ácidos grasos de 2- y 3-MCPD y de ésteres glicídicos de ácidos grasos en los alimentos. DO L 271, 12 de septiembre de 2014, pp: 93-95.
- UE (2018). Reglamento (UE) 2018/290 de la Comisión, de 26 de febrero de 2018, por el que se modifica el Reglamento (CE) N° 1881/2006 por lo que respecta a los contenidos máximos de ésteres glicídicos de ácidos grasos en los aceites y grasas vegetales, los preparados para lactantes, los preparados de continuación y los alimentos para usos médicos especiales destinados a los lactantes y niños de corta edad. DO L 55, 27 de febrero de 2018, pp: 27-29.
- Velišek, J., Davídek, J., Hajslova, J., Kubelka, V.J., Janíček, G. y Mankova, B. (1978). Chlorohydrins in protein hydrolysates. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, 167, pp: 241-244.
- Weißhaar, R. y Perz, R. (2010). Fatty acid ester of glycidol in refined fats and oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, pp: 158-165.
- Wöhrlin, F., Fry, H., Lahrssen-Wiederholt, M. y Preiß-Weigert, A. (2015). Occurrence of fatty acid esters of 3-MCPD, 2-MCPD and glycidol in infant formula. *Food Additives & Contaminants*, 11, pp: 1-13.
- Zelinková, Z., Doležal, M. y Velišek, J. (2009). Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in infant and baby foods. *European Food Research and Technology*, 228, pp: 571-578.

Furano y derivados

- Anese, M. y Suman, M. (2013). Review Mitigation strategies of furan and 5-hydroxymethylfurfural in food. *Food Research International*, 51, pp: 257-264.
- ANSES (2016). Agence nationale de securite sanitaire alimentation, environnement, travail. Etude de l'alimentation totale infantile, 372.
- Arisseto, A. y Toledo, M.C. (2008). Revisão: Furano: um contaminante formado durante o processamento de alimentos. *Brazilian Journal Food Technology*, 11 (1), pp: 1-11.
- Becalski, A., Halldorson, T., Hayward, S. y Roscoe, V. (2016). Furan, 2-methylfuran and 3-methylfuran in coffee on the Canadian market. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, pp: 113-119.
- Cepeda-Vázquez, M., Rega, B., Descharles, N. y Camel, V. (2018). How ingredients influence furan and aroma generation in sponge cake. *Food Chemistry*, 245, pp: 1025-1033.
- Condurso, C., Cincotta, F. y Verzera, A. (2018). Determination of furan and furan derivatives in baby food. *Food Chemistry*, 250, pp: 155-161.
- Crews, C. y Castle, L. (2007). A review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat processed foods. A Review. *Trends in Food Science and Technology* 18, pp: 365-372.
- EFSA (2004). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Report of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on provisional findings on furan in food. *EFSA Journal*, 137, pp: 1-20.
- EFSA (2009). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Results on the monitoring of furan levels in food. A report of the Data Collection and Exposure Unit in Response to a request from the European Commission. *EFSA Journal*, 304, pp: 1-23.
- EFSA (2010). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Update of results on the monitoring of furan levels in food. *EFSA Journal*, 8 (7): 1702.
- EFSA (2011). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Update on furan levels in food from monitoring years 2004-2010 and exposure assessment. *EFSA Journal*, 9 (9): 2347.
- EFSA (2017). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Risks for public health related to the presence of furan and methylfurans in food. *EFSA Journal*, 15 (10): 5005.
- Fan, X. (2005a). Formation of furan from carbohydrates and ascorbic acid following exposure to ionizing radiation and thermal processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, pp: 7826-7831.
- Fan, X. (2005b). Impact of ionizing radiation and thermal treatments on furan levels in fruit juice. *Journal of Food Science*, 71, pp: 409-414.

- Fan, X. y Sommers, C.H. (2006). Effect of gamma radiation on furan formation in ready-to-eat products and their ingredients. *Journal of Food Science*, 71, pp: C407-C412.
- Fan, X. y Geveke, D.J. (2007). Furan formation in sugar solution and apple cider upon ultraviolet treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55 (19), pp: 7816-7821.
- Fan, X. y Sokorai, K.J. (2008). Effect of ionizing radiation on furan formation in fresh-cut fruits and vegetables. *Journal of Food Science*, 73 (2), pp: C79-C83.
- Fan, X. (2015). Furan formation from fatty acids as a result of storage, gamma irradiation, UV-C and heat treatments. *Food Chemistry*, 175, pp: 439-444.
- FAO/OMS (2011). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/Organización Mundial de la Salud. Documento debate sobre el furano. Comité del Codex sobre contaminantes de los alimentos, 5º reunión, La Haya, Países Bajos, 21-25 de marzo de 2011.
- FDA (2004a). US Food and Drug Administration. Furan in food, thermal treatment, request for data and information. Disponible en: <https://www.federalregister.gov/documents/2004/05/10/04-10588/furan-in-food-thermal-treatment-request-for-data-and-information>. [acceso: 12-11-18].
- FDA (2004b). US Food and Drug Administration. Exploratory Data on Furan in Food. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm078439.htm>. [acceso: 12-11-18].
- FDA (2004c). US Food and Drug Administration. Determination of furan in foods. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm078400.htm> [acceso: 12-11-18].
- FDA (2006). US Food and Drug Administration. Determination of furan in foods. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm078400.htm> [acceso: 12-11-18].
- FDA (2007). US Food and Drug Administration. An updated exposure assessment for furan from the consumption of adult and baby foods. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm2006786.htm> [acceso: 12-11-18].
- FDA (2008). US Food and Drug Administration. Exploratory Data on Furan in Food: Individual Food Products. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/foodborneillnesscontaminants/chemicalcontaminants/ucm078439.htm> [acceso: 12-11-18].
- FERA (2009). Agencia Británica de Investigación para los Alimentos y el Medio Ambiente, Consumer exposure to furan from heat-processed foods and kitchen air. Scientific/Technical Report submitted to EFSA.
- FSA (2012). Agencia Británica de Seguridad Alimentaria. A rolling programme on surveys on process contaminants in UK retail foods, Acrylamide & furan: Survey 4. Food Survey Information Sheet, Number 02/12. Disponible en: https://www.food.gov.uk/sites/default/files/media/document/acrylamide-furan-survey_0.pdf [acceso: 12-11-18].
- FSA (2017). Agencia Británica de Seguridad Alimentaria. A rolling programme of surveys on process contaminants in UK retail foods report covering sampling of acrylamide & furan 2014-2015.
- Health Canada (2016). Update on the assessment of exposure to furan from the Canadian retail food supply, pp: 1-13.
- IARC (1995). Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer. Furan. IARC monographs. Volume 63, pp: 393-407.
- JECFA (2011). Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. Evaluation of certain contaminants in food. Seventy-second meeting report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World Technical Report Series 959, pp: 48-55.
- Juaniz, I., Zocco, C., Mouro, V., Cid, C. y De Peña, M.P. (2016). Effect of frying process on furan content in foods and assessment of furan exposure of Spanish population. *LWT-Food Science and Technology*, 68, pp: 549-555.
- Lawely, R., Curtis, L. y Davis, J. (2012). The Food Safety Hazard Guidebook. RSC Publishing, second edition, Cambridge, Reino Unido, pp: 358-360.
- Mesías, M. y Morales, F.J. (2014). Reliable estimation of dietary exposure to furan from coffee: an automatic vending machine as a case study. *Food Research International*, 61, pp: 257-263.

- NAS (2000). Academia Nacional de Ciencias de Estados Unidos. Spacecraft maximum allowable concentrations for selected airborne contaminants, 4, pp: 1-386. National Academies Press, Washington, DC. Disponible en: <https://www.nap.edu/catalog/12529/spacecraft-maximum-allowable-concentrations-for-selected-airborne-contaminants-volume-5> [acceso: 12-11-18].
- Palmers, S., Grauwet, T., Celus, M., Wibowo, S., Kebede, B.T., Hendrickx, M.E. y Van Loey, A. (2015). A kinetic study of furan formation during storage of shelf-stable fruit juices. *Journal of Food Engineering*, 165, pp: 74-81.
- Pérez-Palacios, T., Petisca, C., Henriques, R. y Ferreira, I.M.P.L.V.O. (2013). Impact of cooking and handling conditions on furanic compounds in breaded fish products. *Food and Chemical Toxicology*, 55, pp: 222-228.
- Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C. y Sérot, T. (2016). Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Research International*, 90, pp: 154-176.
- Shen, M., Zhang, F., Hong, T., Xie, J., Wang, Y., Nie, S. y Xie, M. (2017). Comparative study of the effects of antioxidants on furan formation during thermal processing in model systems. *LWT-Food Science and Technology*, 75, pp: 286-292.
- UE (2007a). Recomendación de la Comisión 2007/196/EC, de 28 de marzo de 2007, relativa al seguimiento de la presencia de furano en productos alimenticios. DO L 88 de 29 de marzo de 2007, pp: 56-57.
- UE (2007b). Reglamento (CE) Nº 333/2007 de la Comisión, de 28 de marzo de 2007, por el que se establecen los métodos de muestreo y análisis para el control oficial de los niveles de plomo, cadmio, mercurio, estaño inorgánico, 3-MCPD y benzo(a)pireno en los productos alimenticios. DO L 88 de 29 de marzo de 2007, pp: 29-38.
- VKM (2012). Autoridad Noruega de Seguridad Alimentaria. Risk assessment of furan exposure in the Norwegian population; Opinion of the Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids, Materials in Contact with Food and Cosmetics and the Panel on Contaminants of the Norwegian Scientific Committee for Food Safety, pp: 1-107.
- Zheng, L.W., Chung, H. y Kim, Y-S. (2015). Effects of dicarbonyl trapping agents, antioxidants and reducing agents on the formation of furan and other volatile components in canned-coffee model systems. *Food Research International*, 75, pp: 328-336.

Hidrocarburos de aceites minerales

- AECOSAN (2017). Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición. Aceites minerales. Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/ampliacion/aceites_minerales.htm [acceso: 12-11-18].
- DIN EN (2017). Foodstuffs-Vegetable oils and foodstuffs on the basis of vegetable oils- Determination of mineral oil saturated hydrocarbans (NOSH) and mineral oil aromatic hydrocarbons (NOAH) with on-line HPLC-GC-FID analysis. DIN EN 16955: 2017-08. 2017.
- EFSA (2009). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Opinión Científica sobre el uso de aceites minerales blancos de alta viscosidad como aditivo alimentario. *EFSA Journal*, 7 (11): 1387, pp: 1-39.
- EFSA (2012). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Dictamen científico sobre la presencia de hidrocarburos de aceite mineral en alimentos. *EFSA Journal*, 10 (6): 2704, pp: 1-185.
- FEICA (2017). Association of the European Adhesive and Sealant Industry. Directrices de FEICA para evaluar la conformidad del contacto alimentario de los adhesivos que contienen hidrocarburos de aceites minerales. Guía FEICA. Disponible en: http://www.feica.eu/documents/document/20170626140840-es_gup-ex-g05-019_feica_guidance_fc_status_adhesives_mineral_oil.pdf [acceso: 12-11-18].
- FAO/OMS (2002). Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/Organización Mundial de la Salud. Evaluación de algunos aditivos alimentarios: Informe 59th del comité conjunto de expertos FAO/WHO en aditivos alimentarios. Serie de Informes Técnicos de OMS, 913. Disponible en: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44062/WHO_TRS_952_eng.pdf?sequence=1 [acceso: 12-11-18].

FoodDrink Europe. 2018. Toolbox for preventing the transfer of undesired mineral oil hydrocarbons into foods. Disponible en: <https://www.fooddrinkurope.eu/publication/preventing-transfer-of-undesired-mineral-oil-hydrocarbons-into-food/> [acceso: 12-11-18].

UE (2017). Recomendación 2017/84 de la Comisión, de 16 de enero de 2017, sobre vigilancia de hidrocarburos de aceites minerales en alimentos y en materiales y objetos destinados a entrar en contacto con alimentos. DO L 12 de 17 de enero de 2017, pp: 95-96.

Micotoxinas de *Claviceps*

Bauer, J.I., Gross, M., Gottschalk, C. y Usleber, E. (2016). Investigations on the occurrence of mycotoxins in beer. *Food Control*, 63, pp: 135-139.

Blaney, B.J., Ryley, M.J. y Boucher, B.D. (2010). Early harvest and ensilage of forage sorghum infected with ergot (*Claviceps africana*) reduces the risk of livestock poisoning, *Australian Veterinary Journal*, 88, pp: 311-312.

Codex Alimentarius (2016). Comité sobre contaminantes de los alimentos. Documento de debate sobre la elaboración de un anexo adicional sobre los alcaloides del cornezuelo para su posible inclusión en el código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas (CAC/RCP 51-2003).

De Ruyc, K., De Boevre, M., Huybrechts, I. y De Saeger, S. (2015). Dietary mycotoxins, co-exposure, and carcinogenesis in humans: Short review. *Mutation Research*, 766, pp: 32-41.

EFSA (2005). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Panel on Contaminants in the Food Chain. Scientific Opinion related to ergot as undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal*, 3 (5): 225.

EFSA (2012). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) Scientific Opinion on Ergot alkaloids in food and feed. *EFSA Journal*, 10 (7): 2798.

EFSA (2017). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Arcella D, Gómez-Ruiz JA, Innocenti ML and Roldán R. Scientific report on Human and animal dietary exposure to ergot alkaloids. *EFSA Journal*, 15 (7): 4902.

Fajardo, J.E., Dexter, J.E., Roscoe, M.M. y Nowicki, T.W. (2012). Retention of Ergot Alkaloids in Wheat during Processing. *Cereal Chemistry*, 72 (3), pp: 291-298.

Mariné, A. (2012). Las micotoxinas del cornezuelo del centeno: ¿un viejo problema que vuelve? ACSA brief. *Riesgos emergentes*. Septiembre-octubre, pp: 1-4.

UE (2015). Reglamento (UE) N° 2015/1940 de la Comisión, de 28 de octubre de 2015, por el que se modifica el Reglamento (CE) N° 1881/2006 en relación con el contenido máximo de esclerocios de cornezuelo de centeno en determinados cereales no elaborados y con las disposiciones sobre seguimiento y presentación de informes. DO L 283 de 29 de octubre de 2015, pp: 3-6.

Toxinas de *Alternaria*

Azaiez, I., Meca, G., Manyes, L., Luciano, F.B. y Fernandez-Franz on, M. (2013). Study of the chemical reduction of the fumonisins toxicity using allyl, benzyl and phenyl isothiocyanate in model solution and in food products. *Toxicon*, 63, pp: 137-146.

Barkai-Golan, R. (2008). *Alternaria* mycotoxins. En libro: *Mycotoxins in fruits and vegetables*. Barkai-Golan, R., Nachman, P. (Eds.). Academic Press, San Diego, CA, USA, pp: 185-203.

Barros, G.G., Oviedo, M.S., Ramirez, M.L. y Chulze, S.N. (2011). Safety aspects in soybean food and feed chains: fungal and mycotoxins contamination. En libro: *Soybean: Biochemistry, Chemistry and Physiology*. Tzi-Bun N (Ed.). InTech, Croatia, 2011, pp: 7-20.

Bobolea, I., Barranco, P., Jurado-Palomo, J., Pedrosa, M. y Quirce, S. (2009). Allergy to Dry Fermented Sausage. *Journal of Investigation on Allergology and Clinical Immunology* 19 (4), pp: 324-325.

Bretz, M., Beyer, M., Cramer, B., Knecht, A. y Humpf, H.U. (2006). Thermal degradation of the *Fusarium* mycotoxin deoxynivalenol. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, pp: 6445-6451.

- Burkhardt, B., Pfeiffer, E. y Metzler, M. (2009). Absorption and metabolism of the mycotoxins alternariol and alternariol-9-methyl ether in Caco-2 cells in vitro. *Mycotoxin Research*, 25 (3), pp: 149-157.
- Burkhardt, B., Wittenauer, J., Pfeiffer, E., Schauer, U.M.D. y Metzler, M. (2011). Oxidative metabolism of the mycotoxins alternariol and alternariol-9-methyl ether in precision-cut rat liver slices in vitro. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55, pp: 1079-1086.
- De Vouge, M., Thaker, A., Zhang, L., Muradia, G., Rode, H. y Vijay, H. (1998). Molecular cloning of ig-E binding fragment of *Alternaria alternata* allergens. *International Archives of Allergy and Immunology*, 116, pp: 261-268.
- EFSA (2010). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Management of left-censored data in dietary exposure assessment of chemical substances. *EFSA Journal*, 8 (3): 1557, pp: 96.
- EFSA (2011). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of *Alternaria* toxins in feed and food. *EFSA Journal*, 9 (10), pp: 2407-2497.
- EFSA (2016). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific report on the dietary exposure assessment to *Alternaria* toxins in the European population. *EFSA Journal*, 14 (12), pp: 4654-4685.
- Fehr, M., Pahlke, G., Fritz, J. y Morten, O. (2009). Alternariol act a topoisomerase poison, preferentially affecting the alpha isophorm. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53, pp: 441-451.
- Fernández-Cruz, M.L., Mansilla, M.L y Tadeo, J.L. (2010). Mycotoxins in fruits and their processed products: Analysis, occurrence and health implications. *Journal of Advanced Research*, 1, pp: 113-122.
- Giambrone, J.J., Davis, N.D. y Diener, U.L. (1978). Effect of tenuazonic acid on young chickens. *Poultry Science*, 57, pp: 1554-1558.
- Griffin, G.F y Chu, F.S. (1983). Toxicity of the *Alternaria* metabolites alternariol, alternariol monomethyl ether, altenuene and tenuazonic acid in the chicken embryo assay. *Applications on Environmental Microbiology*, 46, pp: 1420-1422.
- Horiuchi, M., Tokuda, H., Ohnishi, K., Yamashita, M., Nishino, H. y Maoka, T. (2006). Porritoxins, metabolites of *Alternaria porri*, as anti-tumor-promoting active compounds. *Natural Product Research*, 20, pp: 161-166.
- Kwon, H.J., Kim, J-H., Kim, M., Lee, J-K., Hwang, W-S. y Kim, D.Y. (2003). Anti-parasitic activity of depudecin on *Neospora caninum* via the inhibition of histone deacetylase. *Veterinarian. Parasitology*, 112, pp: 269-276.
- Lehmann, L., Wagner, J. y Metzler, M. (2006). Estrogenic and clastogenic potential of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells. *Food Chemistry Toxicology*, 44, pp: 398-408.
- Liu, G.T., Qian, Y.Z., Zhang, P., Dong, Z.M., Shi, Z.Y., Zhen, Y.Z., Miao, J. y Xu, Y.M. (1991). Relationships between *Alternaria alternata* and oesophageal cancer. En libro: *Relevance to human cancer of N-nitroso compounds, tobacco smoke and mycotoxins*. O'Neill, I.K., Chen, J. and Bartsch, H. (Eds.) IARC Scientific Publications No. 105, IARC, Lyon, France, pp: 258-262.
- Liu, G., Qian, Y., Zhang, P., Dong, W., Qi, Y. y Guo, H. (1992). Etiological role of *Alternaria alternata* in human oesophageal cancer. *China Medical Journal*, 105, pp: 394-400.
- Logrieco, A., Bottalico, A., Mulé, G., Moretti, A. y Perrone, G. (2003). Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean cops. *Europea Journal of Plant Pathology*, 109, pp: 645-667.
- Lou, J., Fu, L., Peng, Y. y Zhou, L. (2013). Metabolites from *Alternaria fungi* and their bioactives. *Molecules*, 18, pp: 5891-5935.
- Luz, C., Saladino, F., Luciano, F.B., Manes, J. y Meca, G. (2017). Occurrence, toxicity, bioaccessibility and mitigation strategies of beauvericin, a minor *Fusarium* mycotoxin. *Food Chemical Toxicology*, 107, pp: 430-439.
- Meca, G., Ritieni, A. y Manes, J. (2012a). Influence of the heat treatment on the degradation of the minor *Fusarium* mycotoxin beauvericin. *Food control*, 28, pp: 13-18.
- Meca, G., Ritieni, A. y Manes, J. (2012b). Reduction in vitro of the minor *Fusarium* mycotoxin beauvericin employing different strains of probiotic bacteria. *Food control*, 28, pp: 435-440.
- Meca, G., Zhou, T., Li, X.Z. y Manes, J. (2013a). Beauvericin degradation during bread and beer making. *Food control*, 34, pp: 1-8.

- Meca, G., Zhou, T., Li, X.Z., Ritieni, A. y Manes, J. (2013b). Ciclohexadesipeptide beauvericin degradation by different strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Chemistry Toxicology*, 59, pp: 334-338.
- Nazareth, T.M., Bordin, K., Manyes, L., Meca, G., Manes, J. y Luciano, F.B. (2016). Gaseous allyl isothiocyanate to inhibit the production of aflatoxins, beauvericin and enniatins by *Aspergillus parasiticus* and *Fusarium poae* in wheat flour. *Food control*, 62, pp: 317-321.
- Ostry, V., Skarkova, J. y Ruprich, J. (2004). Occurrence of *Alternaria mycotoxins* and *Alternaria spp.* in lentils and human health. En libro: *Gesellschaft für Mykotoxin Forschung*. Proceedings of the 26th mycotoxin workshop, Herrsching, Germany, pp: 87.
- Ostry, V. (2008). *Alternaria mycotoxins*: an overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin Journal*, 1, pp: 175-188.
- Päivi, M., Samuel, J., Server, M., Renee, J., Richard, C., Stephanie, L. y Darry, Z. (2006). Exposure to *Alternaria alternata* in US homes is associated with. *Journal of Allergy Clinical Immunology*, 118 (4), pp: 892-898.
- Pastor, E. y Guarro, J. (2008). *Alternaria* infections: laboratory diagnosis and relevant clinical features. *Clinical Microbiology Infections*, 14, pp: 734-746.
- Pavón, M.A., Luna, A., de la Cruz, S., González, I., Martín, R. y García, T. (2012). PCR-based assay for the detection of *Alternaria* species and correlation with HPLC determination of altenuene, alternariol and alternariol monomethyl ether production in tomato products. *Food Control*, 25, pp: 45-52.
- Pero, R.W., Posner, H., Blois, M., Harvan, D. y Spalding, J.W. (1973). Toxicity of metabolites produced by the "Alternaria". *Environmental Health Perspective*, 4, pp: 87-94.
- Pfeiffer, E., Schebb, N.H., Podlech, J. y Metzler, M. (2007). Novel oxidative metabolites of the mycotoxins alternariol and alternariol methyl ether. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51, pp: 307-316.
- Pfeiffer, E., Schmit, C., Burkhardt, B., Altemöller, M., Podlech, J. y Metzler, M. (2009). Glucuronidation of the mycotoxins alternariol and alternariol-9-methyl ether in vitro: chemical structures of glucuronides and activities of human UDP-glucuronosyltransferase isoforms. *Mycotoxin Research*, 25, pp: 3-10.
- Pollock, G.A., DiSabatino, C.E., Heimsch, R.C. y Coulombe, R.A. (1982). The distribution, elimination, and metabolism of 14C-alternariol monomethyl ether. *Journal of Environmental Sciences of Health*, B17, pp: 109-124.
- Sauer, D.B., Seitz, L.M., Burroughs, R., Moher, H.E. y West, J.L. (1978). Toxicity of *Alternaria* metabolites found in weathered sorghum grain at harvest. *Journal of Agriculture & Food Chemistry*, 26, pp: 1380-1383.
- Schrader, T.J., Cherry, W., Soper, K., Langlois, I. y Vijay, H.M. (2001). Examination of *Alternaria alternata* mutagenicity and effects of nitrosylation using the Ames *Salmonella* test. *Teratogenic Carcinogenic, Mutagenic*, 21, pp: 261-274.
- Schuchardt, S., Ziemann, C. y Hansen, T. (2014). Combined toxicokinetic and in vivo genotoxicity study on *Alternaria* toxins. EFSA supporting publication 2014, EN-679, pp: 130.
- Scoot, P.M., Zhao, W., Feng, S. y Lau, B.P. (2012). *Alternaria* toxins alternariol and alternariol monomethyl ether in grain foods in Canada. *Mycotoxin Research*, 28, pp: 261-266.
- Smith, E.R., Fredrickson, T.N. y Hadidian, Z. (1968). Toxic effects of the sodium and the N,N'-dibenzylethylenediamine salts of tenuazonic acid (NSC-525816 and NSC-82260). *Cancer Chemother*, Rep.52, pp: 579-585.
- Solhaug, A., Vines, L.L., Ivanova, L., Spilsberg, B., Holme, J.A., Pestka, J., Collins, A. y Eriksen, G.G. (2012). Mechanisms involved in alternariol-induced cell cycle arrest. *Mutation Research*, 738-739, pp: 1-11.
- Soriano, J.M. (2007). Micotoxinas: generalidades". En libro: *Micotoxinas en alimentos*. Díaz de Santos (Ed.). Madrid, España.
- Tiessen, C., Fehr, M., Schwarz, C., Baechler, S., Domnanich, K., Böttler, U., Pahlke, G. y Marko, D. (2013). Modulation of the cellular redox status by the *Alternaria* toxins alternariol and alternariol monomethyl ether. *Toxicology Letters*, 216, pp: 23-30.
- Valtonen, V. (2017). Clinical Diagnosis of the Dampness and Mold Hypersensitivity Syndrome: Review of the Literature and Suggested Diagnostic Criteria. *Frontieres Immunology*, 8 (951), pp: 1-6.

- Vieira, R., Veloso, J., Alfonso, A. y Rodrigues, A. (2006). Cutaneous alternariosis in a liver transplant recipient. *Revista Iberoamericana de Micrología*, 23, pp: 107-109.
- Visconti, A., Logrieco, A. y Bottalico, A. (1986). Natural occurrence of *Alternaria* mycotoxins in olives—their production and possible transfer into the oil. *Food Additives & Contaminants*, 3, pp: 323–330.
- Wollenahupt, K., Schneider, F. y Tiemann, U. (2008). Influence of alternariol (AOH) on regulator proteins of cap-dependent translation in porcine endometrial cells. *Toxicology Letters*, 182, pp: 57-62.
- Woodey, M.A. y Chu, F.S. (1992). Toxicology of *Alternaria* mycotoxins. En libro: *Alternaria Biology, plant diseases and metabolites*. Chełkowski, J. and Visconti, A. (Eds.). Elsevier, Amsterdam, pp: 409-434.
- Yekeler, H., Bitmiş, K., Özçelik, N., Doymaz, M.Z. y Calta, M. (2001). Analysis of toxic effects of *Alternaria* toxins on esophagus of mice by light and electron microscopy. *Toxicological Pathology*, 29, pp: 492-497.

Toxinas de *Fusarium* (Eniáticas y Nivalenol)

- EFSA (2013). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on risks for animal and public health related to the presence of nivalenol in food and feed. *EFSA Journal*, 11 (6): 3262.
- EFSA (2014a). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on the risks for human and animal health related to the presence of modified forms of certain mycotoxins in food and feed. *EFSA Journal*, 12 (12): 3916.
- EFSA (2014b). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on the risks to human and animal health related to the presence of beauvericin and enniatins in food and feed. *EFSA Journal*, 12 (8): 3802.
- EFSA (2014c). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Evaluation of the increase of risk for public health related to a possible temporary derogation from the maximum level of deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins for maize and maize products. *EFSA Journal*, 12 (5).
- EFSA (2017). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Appropriateness to set a group health based guidance value for nivalenol and its modified forms. *EFSA Journal*, 15 (4).
- Fraeyman, S., Croubels, S., Devreese, M. y Antoniseen, G. (2017). Emerging *Fusarium* and *Alternaria* Mycotoxins: Occurrence, Toxicity and Toxicokinetics. *Toxins*, 9 (7), pp: 228.
- Ivanova, L., Fæste, C.K. y Uhlig, S. (2011). *In vitro* phase I metabolism of the depsipeptide enniatin B. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400 (9), pp: 2889-2901.
- Juan, C., Covarelli, L., Beccari, G., Colasante, V. y Mañes, J. (2016). Simultaneous analysis of twenty-six mycotoxins in durum wheat grain from Italy. *Food Control*, 62, pp: 322-329.
- Le Hégarat, L., Takakura, N., Simar, S., Nesslany, F. y Fessard, V. (2014). The *in vivo* genotoxicity studies on nivalenol and deoxynivalenol. *EFSA Supporting Publications*, 11 (11): 697E.
- Maranghi, F., Tassinari, R., Narciso, L., Tait, S., Rocca, C.L., Felice, G.D., Butteroni, C., Corinti, S., Barletta, B., Cordelli, E., Pacchierotti, F., Eleuteri, P., Villani, P., Hegarat, L. L., Fessard, V. y Reale, O. (2018). *In vivo* toxicity and genotoxicity of beauvericin and enniatins. Combined approach to study *in vivo* toxicity and genotoxicity of mycotoxins beauvericin (BEA) and enniatin B (ENNB). *EFSA Supporting Publications*, 15 (5).
- Meca, G., Zinedine, A., Blesa, J., Font, G. y Manes, J. (2010). Further data on the presence of *Fusarium* emerging mycotoxins enniatins, fusaproliferin and beauvericin in cereals available on the Spanish markets. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (5), pp: 1412-1416.
- Meca, G., Sospedra, I., Valero, M.A., Manes, J., Font, G. y Ruiz, M.J. (2011). Antibacterial activity of the enniatin B, produced by *Fusarium tricinctum* in liquid culture, and cytotoxic effects on Caco-2 cells. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 21 (7), pp: 503-512.
- Moretti, A., Pascale, M. y Logrieco, A.F. (2018). Mycotoxin risks under a climate change scenario in Europe. *Trends in Food Science & Technology*. doi:10.1016/j.tifs.2018.03.008.
- Poapolathep, A., Nagata, T., Suzuki, H., Kumagai, S. y Doi, K. (2003). Development of early apoptosis and changes in lymphocyte subsets in lymphoid organs of mice orally inoculated with nivalenol. *Experimental and Molecular Pathology*, 75 (1), pp: 74-79.

- Prosperini, A., Meca, G., Font, G. y Ruiz, M.J. (2013). Bioaccessibility of enniatins A, A(1), B, and B(1) in different commercial breakfast cereals, cookies, and breads of Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61 (2), pp: 456-461.
- Rodríguez-Carrasco, Y., Heilos, D., Richter, L., Sussmuth, R.D., Heffeter, P., Sulyok, M., Kenner, L., Berger, W. y Dornetshuber-Fleiss, R. (2016). Mouse tissue distribution and persistence of the food-born fusariotoxins Enniatin B and Beauvericin. *Toxicology Letters*, 247, pp: 35-44.
- Sugita-Konishi, Y., Kubosaki, A., Takahashi, M., Park, B., Tanaka, T., Takatori, K., Hirose, M. y Shibutani, M. (2008). Nivalenol and the targeting of the female reproductive system as well as haematopoietic and immune systems in rats after 90-day exposure through the diet. *Food Additives and Contaminants*, 25 (9), pp: 1118-1127.
- Svingen, T., Lund Hansen, N., Taxvig, C., Vinggaard, A.M., Jensen, U. y Have Rasmussen, P. (2017). Enniatin B and beauvericin are common in Danish cereals and show high hepatotoxicity on a high-content imaging platform. *Environmental Toxicology*, 32 (5), pp. 1658-1664.

Alcaloides de la pirrolizidina

- Boppré, M., Colegate, S.M., Edgar, J.A. y Fischer, O.W. (2008). Hepatotoxic Pyrrolizidine Alkaloids in Pollen and Drying-Related Implications for Commercial Processing of Bee Pollen. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5 (14), pp: 5662-5672.
- Codex (2018). *Codex Alimentarius* Commission. Working document for information and use in discussions related to contaminants and toxins in the GSCTFF. CF/12 INF/1.
- Copple, B.L., Ganey, P.E. y Roth, R.A. (2003). Liver inflammation during monocrotaline hepatotoxicity. *Toxicology*, 190 (3), pp: 155-169.
- Crews, C. (2013). Methods for analysis of pyrrolizidine alkaloids Natural Products. *Springer*, pp: 1049-1068.
- Dusemund, B., Nowak, N., Sommerfeld, C., Lindtner, O., Schafer, B. y Lampen, A. (2018). Risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food of plant and animal origin. *Food and Chemical Toxicology*, 115, pp: 63-72.
- Edgar, J.A., Roeder, E. y Molyneux, R.J. (2002). Honey from plants containing pyrrolizidine alkaloids: a potential threat to health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (10), pp: 2719-2730.
- Edgar, J.A., Molyneux, R.J. y Colegate, S.M. (2014). Pyrrolizidine alkaloids: potential role in the etiology of cancers, pulmonary hypertension, congenital anomalies, and liver disease. *Chemical Research in Toxicology*, 28 (1), pp: 4-20.
- EFSA (2007). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Opinion of the Panel on contaminants in the food chain [CONTAM] related to pyrrolizidine alkaloids as undesirable substances in animal feed. *EFSA Journal*, 5 (5): 447.
- EFSA (2011). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Scientific opinion on pyrrolizidine alkaloids in food and feed. *EFSA Journal*, 9 (11): 2406.
- EFSA (2016). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria Dietary exposure assessment to pyrrolizidine alkaloids in the European population. *EFSA Journal*, 14 (8).
- EFSA (2017). Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria. Risks for human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements. *EFSA Journal*, 15 (7): e04908.
- Hessel, S., Gottschalk, C., Schumann, D., These, A., Preiss-Weigert, A. y Lampen, A. (2014). Structure–activity relationship in the passage of different pyrrolizidine alkaloids through the gastrointestinal barrier: ABCB1 excretes heliotrine and echimidine. *Molecular Nutrition & Food Research*, 58 (5), pp: 995-1004.
- Kakar, F., Akbarian, Z., Leslie, T., Mustafa, M.L., Watson, J., van Egmond, H.P., Omar, M.F. y Mofleh, J. (2010). An outbreak of hepatic veno-occlusive disease in western Afghanistan associated with exposure to wheat flour contaminated with pyrrolizidine alkaloids. *Journal of Toxicology*, 2010: 313280.
- Kempf, M., Wittig, M., Schonfeld, K., Cramer, L., Schreier, P. y Beuerle, T. (2011). Pyrrolizidine alkaloids in food: downstream contamination in the food chain caused by honey and pollen. *Food Additives & Contaminants, Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 28 (3), pp: 325-331.

- Merz, K.H. y Schrenk, D. (2016). Interim relative potency factors for the toxicological risk assessment of pyrrolizidine alkaloids in food and herbal medicines. *Toxicology Letters*, 263, pp: 44-57.
- Mulder, P.P.J., Sánchez, P.L., These, A., Preiss-Weigert, A. y Castellari, M. (2015). Occurrence of pyrrolizidine alkaloids in food. *EFSA Supporting Publications*, 12 (8), 859E.
- NTP (2003). National Toxicology Program. Toxicology and carcinogenesis studies of riddelliine (CAS No. 23246-96-0) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). National Toxicology Program Technical Report Series (508), 1.
- OMS (2016). Organización Mundial de la salud. Pyrrolizidine alkaloids. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Eightieth Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, pp: 65-80.
- Yang, M., Ruan, J., Gao, H., Li, N., Ma, J., Xue, J., Ye, Y., Fu, P.P.-C., Wang, J. y Lin, G. (2017). First evidence of pyrrolizidine alkaloid N-oxide-induced hepatic sinusoidal obstruction syndrome in humans. *Archives of Toxicology*, 91 (12), pp: 3913-3925.
- Zhu, L., Xue, J., Xia, Q., Fu, P.P. y Lin, G. (2017). The long persistence of pyrrolizidine alkaloid-derived DNA adducts in vivo: kinetic study following single and multiple exposures in male ICR mice. *Archives of Toxicology*, 91 (2), pp: 949-965.