

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación al efecto sobre la población española de la derogación de la normativa nacional sobre límites máximos permitidos para las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en alimentos

Miembros del Comité Científico

Rosaura Farré Rovira, Francisco Martín Bermudo, Ana María Cameán Fernández, Alberto Cepeda Sáez, Mariano Domingo Álvarez, Antonio Herrera Marteache, Félix Lorente Toledano, M^a Rosario Martín de Santos, Emilio Martínez de Victoria Muñoz, M^a Rosa Martínez Larrañaga, Antonio Martínez López, Cristina Nerín de la Puerta, Teresa Ortega Hernández-Agero, Perfecto Paseiro Losada, Catalina Picó Segura, Rosa María Pintó Solé, Antonio Pla Martínez, Daniel Ramón Vidal, Jordi Salas-Salvadó, M^a Carmen Vidal Carou.

Secretario

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AESAN-2011-002

Documento aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 18 de mayo de 2011

Grupo de Trabajo

Alberto Cepeda Sáez (Coordinador)
Ana María Cameán Fernández
Antonio Herrera Marteache
M^a Rosa Martínez Larrañaga
Perfecto Paseiro Losada
Pilar Biesas Casamayor (AESAN)

Resumen

Las aflatoxinas son metabolitos tóxicos producidos por varias especies de hongos del género *Aspergillus* que crecen en plantas y alimentos de origen vegetal. De entre todas ellas (B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ y M₂), destaca desde el punto de vista de la seguridad alimentaria la aflatoxina B₁, tanto por ser la más prevalente en alimentos como la más tóxica para los seres humanos.

La Unión Europea, debido a la toxicidad de estos compuestos y con el fin de garantizar una protección eficaz de la salud pública, ha establecido mediante el Reglamento (CE) N° 1881/2006 contenidos máximos para la aflatoxina B₁ y la suma de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en diversos alimentos, entre los que se incluyen aquellos en los cuales la contaminación por este tipo de toxinas resulta más frecuente y puede resultar más peligrosa para la salud humana.

En España, previamente a lo establecido por el Reglamento (CE) N° 1881/2006, ya se dispone de una norma reguladora, el Real Decreto 475/1988, en el cual se establecen límites máximos permitidos de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en alimentos para consumo humano de 10 mg/kg para la suma de dichas aflatoxinas y de 5 mg/kg para la aflatoxina B₁.

Si bien es cierto que el Reglamento (CE) N° 1881/2006 cubre los alimentos que de manera más habitual pueden representar un riesgo para la salud humana originado por la presencia de aflatoxinas, existen trabajos científicos en los cuales se ha demostrado la presencia tanto de aflatoxinas totales como de aflatoxina B₁ en alimentos no incluidos en el Reglamento (CE) N° 1881/2006 en cantidades superiores a las establecidas como límites en el Real Decreto 475/1988.

Por este motivo, y sin perjuicio de las medidas de gestión que sean pertinentes, el Comité Científico considera que, en este momento y hasta que se disponga de datos representativos de la presencia de aflatoxinas en algunos alimentos no incluidos en la legislación europea tales como la chufa, el Real Decreto 475/1988 que regula los límites máximos permitidos de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ ofrece un

nivel de protección significativo para el consumidor respecto a determinados alimentos no regulados por el Reglamento (CE) N° 1881/2006.

Palabras clave

Aflatoxinas, aflatoxina B₁, aflatoxicosis, alimentos, daño hepático, prevención, residuos, cereales, chufa.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) in relation to the effect on the Spanish population of the derogation of national regulation on maximum allowed limits for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ in food.

Abstract

Aflatoxins are toxic metabolites produced by some species of molds belonging to the genus *Aspergillus* which grow on plants and vegetable-origin foods. Among the aflatoxins that can be found (B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ and M₂), from a food safety point of view the most remarkable is aflatoxin B₁, because it is the most prevalent in foods and toxic for humans.

Due to the toxicity of these substances and to protect consumers' health, the European Union has stated maximum residue limits (MRL) for aflatoxins in foods, in the Commission Regulations (EC) No 1881/2006. MRL have been established for aflatoxin B₁ and the sum of B₁, B₂, G₁ and G₂ in different foods, including those in which contamination with these kind of toxins is more frequent and can be more dangerous for human health.

The Spanish Royal Decree 475/1988, approved before the Commission Regulation (EC) No 1881/2006, sets MRL for the aflatoxins in food for human consumption; 5 mg/kg for aflatoxin B₁ and 10 mg/kg for the sum of aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂.

Despite the Commission Regulation (EC) No 1881/2006 includes food which most could usually pose a risk for human health, specific papers have demonstrated the presence of total aflatoxins and aflatoxin B₁ in foods not included in the Commission Regulation (EC) No 1881/2006, even at higher concentrations than those set up by the Spanish Royal Decree 475/1988.

For this reason, notwithstanding the management measures that are pertinent, the scientific committee considers that, while there are no more data about maximum limits for these substances other food samples different than those included in the previously mentioned legislations (as tiger nuts or other doubtful foods regarding their producing conditions) the Royal Decree 475/1988 offers a significant protection for consumers.

Key words

Aflatoxins, aflatoxin B₁, aflatoxicosis, foods, hepatic damage, prevention, residues, cereals, tiger nut.

Introducción

Las aflatoxinas son metabolitos tóxicos producidos por varias especies de hongos del género *Aspergillus* que crecen en plantas y alimentos de origen vegetal. Las principales especies productoras de aflatoxinas son *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, aunque también se han descrito otras especies productoras de aflatoxinas en alimentos tales como *A. nomius* (Kruztman et al., 1987), *A. tamarii* (Goto et al., 1997), *A. pseudotamarii* (Ito et al., 2001) o *A. australis* (IARC, 2002).

Estos compuestos fueron descubiertos a finales de los años 50 y principios de los 60 como consecuencia de la investigación acerca de la alta mortandad originada en aves de corral y otros animales productores de alimentos como consecuencia de la ingestión de pienso que contenía cacahuete procedente de Sudamérica (Blount, 1961) (Sargeant et al., 1961). Se trata de compuestos fluorescentes con una estructura cumarínica condensada con un bifurano y una pentanona (aflatoxinas B) o una lactona (aflatoxinas G). Las letras B y G se refieren a la coloración de las aflatoxinas bajo la luz ultravioleta (en inglés, *Blue*: azul y *Green*: verde) y los números 1 y 2 se refieren a su posición en un desarrollo cromatográfico.

Las aflatoxinas más relevantes en términos de seguridad alimentaria son las aflatoxinas B₁ y B₂ (producidas por *A. flavus* y *A. parasiticus*), G₁ y G₂ (producidas por *A. parasiticus*) y M₁ y M₂ (productos metabólicos de las aflatoxinas B₁ y B₂ que son excretados en leche). De entre todas ellas, destaca desde el punto de vista de la seguridad alimentaria la aflatoxina B₁, tanto por ser la más prevalente en alimentos como la más tóxica para los seres humanos (Deng et al., 2010).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) ha evaluado las aflatoxinas B y G en varias ocasiones desde 1987 (JECFA, 1987, 1997, 1999, 2002, 2007) y ha recomendado que, debido a su potencial carcinogénico, la exposición dietética a las aflatoxinas se reduzca al mínimo posible. Igualmente, en 2007, el informe del Panel de Contaminantes de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) indicó que la exposición a las aflatoxinas procedentes de todas las fuentes alimentarias debía mantenerse tan baja como fuera razonablemente posible debido a sus propiedades genotóxicas y carcinogénicas (EFSA, 2007).

Recientemente, el *Codex Alimentarius* ha establecido límites máximos para aflatoxinas totales (suma de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂) en frutos con cáscara (almendras, cacahuetes, avellanas, pistachos y nueces de Brasil) destinados a una transformación posterior, situándolos en 15 µg/kg con respecto a los 10 µg/kg permitidos para estos mismos productos listos para el consumo basándose en la información proporcionada por JECFA (*Codex Alimentarius*, 2008).

En la Unión Europea, debido a la toxicidad de estos compuestos, y con el fin de garantizar una protección eficaz de la salud pública, el Reglamento (CE) N° 1881/2006 (UE, 2006a) ha establecido contenidos máximos para, entre otros contaminantes, la aflatoxina B₁ y la suma de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en distintos alimentos, incluyendo frutos de cáscara arbóreos, frutos secos, cereales, maíz y arroz, cacahuetes y semillas oleaginosas y los productos derivados y transformados de todos ellos, determinadas especias, alimentos elaborados a base de cereales transformados, alimentos para lactantes y niños de corta edad, preparados para lactantes y preparados de continuación y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes (Tabla 2).

De esta forma, los productos especificados en dichas normas que contengan aflatoxinas en niveles que superen los contenidos máximos establecidos no deben comercializarse como tales, ni tras su

mezcla con otros productos alimenticios, ni utilizarse como ingrediente en otros alimentos. Asimismo, este Reglamento considera que, dado que la selección u otros tratamientos físicos permiten reducir el contenido de aflatoxinas de diversos alimentos como cacahuetes y otras semillas oleaginosas, frutos de cáscara, frutos secos, arroz y maíz y con el fin de minimizar las repercusiones sobre el comercio, es conveniente permitir contenidos de aflatoxinas más elevados en los productos que no se destinan al consumo humano directo o como ingrediente de productos alimenticios. En estos casos, los contenidos máximos de aflatoxinas se han establecido teniendo en cuenta la efectividad de los tratamientos mencionados a fin de reducir el contenido de las mismas a niveles inferiores a los contenidos máximos establecidos para los productos destinados al consumo humano directo o a ser utilizados como ingredientes de productos alimenticios.

Por ello, los cacahuetes y otras semillas oleaginosas, los frutos de cáscara arbóreos, las frutas pasas, el arroz y el maíz que incumplan los contenidos máximos de aflatoxinas se pueden comercializar en determinadas condiciones que incluyen, entre otras, que antes de ser destinados al consumo humano directo o a su uso como ingredientes de productos alimenticios sean sometidos a un tratamiento físico que consiga reducir el contenido de aflatoxinas a los niveles máximos permitidos para esos productos tratados.

En este mismo contexto, los Reglamentos (CE) N° 401/2006 (UE, 2006b) y (UE) N° 178/2010 (UE, 2010b) han establecido normas de muestreo y análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios, mientras que el Reglamento (CE) N° 1152/2009 (UE, 2009) ha regulado las condiciones específicas para la importación de dichos productos, debido al riesgo de contaminación por aflatoxinas de determinados productos alimenticios de algunos terceros países.

En España, previamente a la aprobación del Reglamento (CE) N° 1881/2006, el Real Decreto 475/1988 estableció límites máximos permitidos de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en alimentos para consumo humano de 10 µg/kg para la suma de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ y de 5 µg/kg para la aflatoxina B₁. A diferencia del Reglamento (CE) N° 1881/2006, el Real Decreto 475/1988 no especifica alimentos concretos a los que es aplicable, por lo que puede aplicarse a todos los alimentos destinados al consumo humano que no aparecen regulados en la normativa de la Unión Europea.

Ante la existencia de ambas normativas reguladoras de límites máximos permitidos de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en alimentos, cabe preguntarse si la reglamentación nacional cubre aspectos no incluidos en la de la Unión Europea y, por tanto, aporta un cierto nivel de protección del consumidor o si, por el contrario, es redundante y no ofrece mayores niveles de seguridad.

Por ello, la Dirección Ejecutiva de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha planteado al Comité Científico una cuestión en relación al efecto que tendría sobre la población española la derogación de Real Decreto 475/1988 que regula los máximos permitidos para las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en alimentos no regulados por el Reglamento (CE) N° 1881/2006.

Actividad biológica y toxicidad de las aflatoxinas para los seres humanos

Las aflatoxinas B y G son micotoxinas genotóxicas y carcinogénicas (SCF, 1996), habiendo sido clasificadas por la *International Agency for Research on Cancer* dentro del grupo 1 (sustancias carcinogénicas para humanos) (IARC, 1993). También se ha descrito un potencial efecto inmunosupresor

y de interferencia nutricional (Williams et al., 2004) así como efectos mutagénicos, teratogénicos y hepatotóxicos (Kensler et al., 2011). Se considera que la aflatoxina de mayor poder carcinogénico es la aflatoxina B₁ (JECFA, 1999) que, además, es la que se suele encontrar en mayor concentración en alimentos y piensos contaminados (Sweeney y Dobson, 1998).

Los efectos biológicos producidos como respuesta al consumo de aflatoxinas, dependen de la variación entre especies, la edad, el sexo, el estado nutricional, los componentes de los alimentos en los que esten presentes y las interacciones con sustancias químicas. Adicionalmente, la dosis y el período de exposición del organismo a la toxina también son muy importantes. A este respecto debe tenerse en cuenta que aunque los alimentos en los que aparecen con una mayor prevalencia son los alimentos vegetales ya mencionados, las aflatoxinas pueden acumularse en los tejidos de los animales productores de alimentos tras su ingestión y alcanzar al ser humano a través del consumo de alimentos de origen animal en los que se halla presente o por los que se ha excretado como es el caso de la leche (Deng et al., 2010). Sus efectos sobre el organismo están estrechamente relacionados con su estructura química y, de modo genérico, se pueden clasificar como carcinogénicos, mutagénicos, teratogénicos, hepatotóxicos e inmunosupresores (Kensler et al., 2011).

Las manifestaciones clínicas de la aflatoxicosis aguda son vómitos, dolor abdominal, edema pulmonar, así como infiltración grasa y necrosis del hígado (Kensler et al., 2011). No obstante, la aparición de estos cuadros en seres humanos es sumamente escasa y su peligrosidad viene determinada básicamente por su toxicidad crónica. El potencial carcinogénico de las aflatoxinas, fundamentalmente de la aflatoxina B₁, ha sido bien establecido en muchas especies animales, incluyendo roedores (que tienen una alta susceptibilidad a estas sustancias), primates y peces. El hígado es de manera constante el principal órgano afectado por la acción tóxica de la aflatoxina B₁. No obstante, dependiendo de la especie animal y la raza, la dosis, la vía de exposición y la dieta de los sujetos expuestos, también se han documentado tumores relacionados con la acción de las aflatoxinas en otros órganos y lugares del cuerpo tales como los riñones o el colon (Kensler et al., 2011).

Factores que influyen en el desarrollo de *Aspergillus* y en la producción de aflatoxinas

Los factores implicados en el crecimiento de los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* en los alimentos son tanto los propios del medio en el que se desarrollan (pH, composición del alimento o actividad de agua), como factores extrínsecos: humedad ambiental, temperatura de almacenamiento y competencia microbiana (Zinedine y Mañes, 2009). *A. flavus* y *A. parasiticus*, los principales hongos productores de aflatoxinas, tienen patrones similares de crecimiento y toxigenénesis (Tabla 1).

Tabla 1. Límites de crecimiento y producción de aflatoxinas por *A. flavus* y *A. parasiticus*

Crecimiento	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>
	Mínimo		Óptimo		Máximo	
Temperatura °C	10-12	12	33	32	43	42
Actividad de agua	0,8	0,80-0,83	0,98	0,99	>0,99	>0,99
pH	2	2	5-8	5-8	>11	>11
Producción de aflatoxinas	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. parasiticus</i>
	Mínimo		Óptimo		Máximo	
Temperatura °C	13	12	16-31	25	31-37	40
Actividad de agua	0,82	0,86-0,87	0,95-0,99	0,95	>0,99	>0,99
pH	-	2	-	6	-	>8

Fuente: (ICMSF, 1996).

Aunque las condiciones descritas varían ligeramente en función de la fuente bibliográfica, algunos autores refieren que *A. flavus* o *A. parasiticus* crecen en un intervalo de temperatura de 10-12 a 42-43 °C y, óptimamente, entre 32 y 33 °C. Pueden crecer en un intervalo de pH amplio (2,1 a 11,2) con un crecimiento óptimo entre 3,5 y 8. En cuanto a la actividad de agua (a_w), los valores mínimos de crecimiento están entre 0,80 y 0,83 y el óptimo en 0,99 (Sweeney y Dobson, 1998).

Por lo que se refiere a la toxigenénesis, el intervalo de temperatura en el que se producen va de 12 a 40 °C, con un óptimo entre 25 y 30 °C. En *A. parasiticus* la proporción de producción de aflatoxinas B respecto a G es mayor a temperaturas altas (ICMSF, 1996). Se producen en un intervalo de pH entre 3,5 y 8, con un óptimo de pH 6 y, en cuanto a la actividad del agua (a_w), el mínimo para la producción es de 0,82 para *A. flavus* (Sweeney y Dobson, 1998) con un óptimo de 0,99 (Cousin et al., 2005).

El clima típico de los países mediterráneos, caracterizado por temperatura y humedad altas, favorece tanto el crecimiento de los hongos como la producción de aflatoxinas por parte de éstos (óptimo entre 25 y 30 °C) (Sweeney y Dobson, 1998). Este tipo de clima podría relacionarse con el hecho de que en alguno de estos países, como es el caso de Marruecos, exista una alta prevalencia de carcinoma hepático, al igual que de otras patologías de etiología desconocida que se cree que pueden estar relacionadas con la ingesta de aflatoxinas (Zinedine y Mañes, 2009).

La producción de aflatoxinas también depende de las fuentes de carbohidratos y nitrógeno, fosfatos, lipoperóxidos y elementos traza (Luchese y Harrigan, 1993). De este modo, esta producción se ve favorecida por un medio rico en carbohidratos, aunque algunos sustratos ricos en grasa y proteína como los cacahuetes también permiten la producción de aflatoxinas (Marth, 1990). En algunos casos, la presencia de otros hongos puede disminuir la síntesis de aflatoxinas (Wicklów et al., 1980) (Tsubouchi et al., 1981) y también algunos componentes de distintos alimentos reducen la producción de aflatoxinas. Así, por ejemplo, la oleuropeína, un compuesto fenólico iridoidico contenido en las aceitunas, disminuye la producción de aflatoxinas por *A. flavus* y *A. parasiticus*. La cafeína inhibe el crecimiento de *Aspergillus* y la producción de aflatoxinas (CAST, 1998) y lo mismo ocurre, por ejemplo, con los aceites esenciales de orégano y canela (García-Camarillo et al., 2006).

Se ha descrito también que algunas vitaminas, como es el caso de la vitamina K₅, que presentan actividad antimicrobiana, ralentizan tanto el crecimiento de las especies de *Aspergillus* productoras de aflatoxinas, como la producción de aflatoxinas por parte de estos hongos (Miranda et al., 2011).

Es también un hecho conocido que algunas bacterias ácido-lácticas producen compuestos con propiedades antimicrobianas y antimicóticas, y pueden utilizarse para el control del crecimiento de bacterias patógenas, bacterias alterantes y hongos. Las bacterias ácido-lácticas con mayor capacidad de inhibir o reducir el crecimiento de hongos productores de toxinas pertenecen a los géneros *Lactococcus*, *Lactobacillus*, y, en menor medida, *Pediococcus* y *Leuconostoc* (Dalié et al., 2010). Asimismo, también se ha demostrado que además de la inhibición del crecimiento fúngico, ciertas bacterias ácido-lácticas tienen capacidad para capturar aflatoxinas, reduciendo de este modo su biodisponibilidad. Este proceso es rápido y reversible (Bueno et al., 2006), y es dependiente tanto de la dosis como de la cepa estudiada (Kankaanpää et al., 2000). Estudios realizados recientemente han demostrado que esta capacidad de capturar aflatoxinas (especialmente aflatoxina B₁), se debe a los peptidoglicanos de la pared bacteriana de algunas bacterias ácido-lácticas (Lahtinen et al., 2004). Este mecanismo también se ha observado en otros microorganismos como es el caso de *Saccharomyces cerevisiae* (Bueno et al., 2006).

Por otra parte, se conoce que ciertas sustancias tienen un efecto inhibitorio de la toxicidad causada por las aflatoxinas, bien sea por activación de su metabolización o por inhibición de sus efectos oxidantes. Un ejemplo puede ser el azafrán (*Crocus sativus*), cuyo extracto acuoso es capaz de prevenir la peroxidación lipídica inducida por diferentes sustancias como las aflatoxinas así como de promover los sistemas enzimáticos detoxificantes y del cual se ha comprobado en pruebas realizadas en ratones que contiene sustancias protectoras contra diversos agentes hepatotóxicos, entre los que se encuentra la aflatoxina B₁ (Premkumar et al., 2003). Por otra parte, se ha comprobado que la administración de cápsulas de té verde gracias a su contenido polifenólico protege frente el daño celular inducido por las aflatoxinas no solo por sus propiedades antioxidantes sino también por activación de su metabolización (Kensler et al., 2011).

Debemos también tener en cuenta que *Aspergillus* es un microorganismo aerobio, por lo tanto el envasado al vacío o en atmósferas modificadas que reducen la disponibilidad de oxígeno inhiben la producción de aflatoxinas (Ellis, 1993).

Presencia de aflatoxinas en alimentos

La contaminación por *Aspergillus* puede producirse en los propios cultivos, como sucede con los cacahuetes y el maíz, algunas veces favorecida por la acción de los insectos, o en el transporte y almacenamiento, como sucede con los cereales (ICMSF, 1996). La toxina puede persistir en el alimento aunque el hongo toxigénico haya desaparecido y, en este sentido, se han detectado aflatoxinas en prácticamente todas las zonas del mundo y en casi todos los alimentos de primera necesidad, en mayor o menor medida. Además, resulta también un factor clave el hecho de que estas toxinas presentan una elevada estabilidad térmica, lo cual favorece que permanezcan en algunos alimentos cocinados y que la congelación no tenga apenas efectos sobre su presencia en los alimentos (Rasch et al., 2010).

Las herramientas más importantes para prevenir y limitar la aparición de aflatoxinas en los alimentos

son las buenas prácticas durante la producción agrícola y el almacenamiento de los alimentos, que debe realizarse a temperaturas y humedades relativas que dificulten tanto el crecimiento fúngico como la producción de aflatoxinas por parte de los hongos potencialmente productores de las mismas. Es también sumamente importante evitar la contaminación cruzada entre lotes diferentes de alimentos. Durante el procesado del alimento puede lograrse el objetivo de reducir la exposición alimentaria a las aflatoxinas mediante la selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios. Por ejemplo, el descascarillado del arroz y la eliminación de la gluma al molerlo, disminuyen el contenido de aflatoxinas, de ahí que el arroz blanco molido tenga un nivel de aflatoxinas menor al arroz sin descascarillar. Asimismo, también se ha demostrado que el cocinado a presión puede reducir hasta en un 83% el contenido en aflatoxinas del arroz crudo (Park y Kim, 2006).

Estos tratamientos reducen el contenido en aflatoxinas y su efectividad se tiene en cuenta a la hora de fijar los contenidos máximos en determinados alimentos (Tabla 2). Por ello, en cacahuets y otras semillas oleaginosas, frutos de cáscara arbóreos, frutas pasas, arroz y maíz que van a someterse a un tratamiento antes de su consumo humano directo, se permiten niveles de aflatoxinas mayores ya que el tratamiento llevará el contenido final a valores inferiores a los contenidos máximos establecidos para estos mismos productos, cuando se destinan al consumo humano directo o a su uso como ingredientes de productos alimenticios.

Asimismo, en el establecimiento de los niveles de aflatoxinas para las semillas oleaginosas y sus productos derivados, se ha tenido en cuenta que el proceso de producción de los aceites vegetales refinados elimina casi por completo las aflatoxinas. Como consecuencia, se han excluido del Reglamento (CE) N° 1881/2006 las semillas oleaginosas, incluidos los cacahuets, que vayan a molerse para la producción de aceite vegetal refinado y el propio aceite vegetal refinado.

El tratamiento con amoníaco reduce el contenido de aflatoxinas en piensos (ICMSF, 1998) y respecto a los tratamientos térmicos, aunque las aflatoxinas son bastante termoestables, algunos estudios han indicado que se puede reducir su contenido en alimentos contaminados mediante un tratamiento térmico superior a 100 °C (ICMSF, 1996). Sin embargo, para eliminarlas por completo debería alcanzarse su punto de fusión, lo cual es inaceptable en el procesado de los alimentos (Marth, 1990).

Los alimentos más susceptibles a la contaminación por aflatoxinas y que pueden implicar una mayor exposición están incluidos en el Reglamento (CE) N° 1881/2006 (maíz, arroz, cereales en general, avellanas, almendras, nueces de Brasil, pistachos, cacahuets y otras semillas oleaginosas, frutas secas como higos o pasas y especias como el pimentón, nuez moscada, jengibre o cúrcuma). Para ellos se han establecido límites máximos (Tabla 2).

Tabla 2. Contenidos máximos permitidos de aflatoxinas B y G en productos alimenticios ($\mu\text{g}/\text{kg}$) según el Reglamento (CE) Nº 1881/2006

Contenidos máximos de aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$)			
Apartado	Productos alimenticios	B ₁	Suma de B ₁ , B ₂ , G ₁ y G ₂
2.1.1	Cacahuets y otras semillas oleaginosas que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios, con la excepción de: los cacahuets y otras semillas oleaginosas que vayan a molerse para la producción de aceite vegetal refinado.	8,0	15,0
2.1.2	Almendras, pistachos y huesos de albaricoque que vayan a someterse a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	12,0	15,0
2.1.3	Avellanas y nueces del Brasil que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	8,0	15,0
2.1.4	Frutos de cáscara arbóreos, salvo los indicados en los puntos 2.1.2 y 2.1.3, que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	5,0	10,0
2.1.5	Cacahuets y otras semillas oleaginosas y sus productos transformados destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes en los productos alimenticios, con la excepción de: –aceites vegetales crudos destinados a ser refinados –aceites vegetales refinados.	2,0	4,0
2.1.6	Almendras, pistachos y huesos de albaricoque destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios.	8,0	10,0
2.1.7	Avellanas y nueces del Brasil destinadas al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios.	5,0	10,0
2.1.8	Frutos de cáscara arbóreos, distintos de los indicados en los puntos 2.1.6 y 2.1.7, y sus productos transformados destinados al consumo humano directo o a utilizarse como ingredientes de productos alimenticios.	2,0	4,0
2.1.9	Frutas pasas que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	5,0	10,0
2.1.10	Frutas pasas y sus productos transformados para el consumo humano directo o su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	2,0	4,0
2.1.11	Todos los cereales y todos los productos a base de cereales, uncluidos los productos de cereales transformados, salvo los productos alimenticios indicados en los puntos 2.1.12, 2.1.15 y 2.1.17.	2,0	4,0
2.1.12	Maíz y arroz que vayan a someterse a un proceso de selección u otro tratamiento físico antes del consumo humano directo o de su utilización como ingredientes de productos alimenticios.	5,0	10,0
2.1.14	Los siguientes tipos de especias: <i>Capsicum</i> spp. (frutas pasas de dicho género, enteras o molidas, con inclusión de los chiles, el chile en polvo, la cayena y el pimentón); <i>Piper</i> spp. (frutos de dicho género, con inclusión de la pimienta blanca y negra); <i>Myristica fragrans</i> (nuez moscada); <i>Zingiber officinale</i> (jengibre); <i>Curcuma longa</i> (cúrcuma); mezclas de especias que contengan una o varias de estas especias.	5,0	10,0
2.1.15	Alimentos a base de cereales transformados y alimentos para lactantes y niños de corta edad.	0,10	–
2.1.17	Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes.	0,10	–

Junto a estos alimentos se ha descrito la presencia de aflatoxinas en otros productos alimenticios, incluyendo productos de origen animal como hígado (Mahmoud et al., 2001), hamburguesas y otros productos cárnicos procesados, probablemente a través de la adición de especias (Aziz y Youssef, 1991). También se ha encontrado presencia de aflatoxinas en carne de aves de corral (Bintvihok et al., 2002) (Hussain et al., 2010), pescado procedente de la acuicultura como la tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) (Deng et al., 2010) o la lubina (*Dicentrarchus labrax* L.) (El-Sayed y Khalil, 2009) o la leche (Zinedine y Mañes, 2009). En el caso de este último alimento la presencia de aflatoxinas B y G es mucho menos relevante que la presencia de la aflatoxina M₁, metabolito de la aflatoxina B₁ (Ayar et al., 2007).

La contaminación de los alimentos de origen animal se produce a través de la alimentación de los animales productores de alimentos (Rasch et al., 2010). En el caso del pescado procedente de la acuicultura, la presencia de este tipo de toxinas ha ido incrementándose en los últimos años, debido al creciente uso de piensos y harinas vegetales para la alimentación de estos peces (Deng et al., 2010), aunque a día de hoy los datos disponibles en la bibliografía científica proceden básicamente de estudios experimentales y no de estudios de mercado. Es importante señalar que tanto en el caso de los peces como en los mamíferos, estas toxinas se acumulan fundamentalmente en el hígado (Deng et al., 2010), por lo que es en este tejido donde se encontrará una mayor concentración de aflatoxinas en caso de que el animal haya estado expuesto. La eliminación de este órgano para el consumo humano a través de la evisceración reduce de una manera muy importante el riesgo derivado de la ingesta de aflatoxinas por consumo de estos alimentos.

Experimentos llevados a cabo en diversas aves de corral demostraron que una alimentación contaminada con aflatoxina B₁ (3 mg/kg) provocaba concentraciones superiores a 7 µg/kg en hígado y 0,38 µg/kg en carne de codornices que la habían consumido (Bintvihok et al., 2002). En otro ensayo, Hussain et al. (2010), determinaron que alimentando pollos durante siete días con un pienso contaminado con 6,4 mg/kg de aflatoxina B₁, se alcanzaban concentraciones de aflatoxina B₁ cercanas a 7 µg/kg en hígado y superiores a 3 µg/kg en músculo, si bien estas concentraciones descienden hasta valores indetectables en pocos días tras cesar la alimentación con pienso contaminado.

En el caso de los pescados procedentes de la acuicultura, Deng et al. (2010) comprobaron que alimentando tilapias con pienso contaminado con varias dosis de aflatoxina B₁, éstas alcanzaron concentraciones hepáticas de hasta 40 µg/kg de aflatoxina B₁ sin que aumentase su mortalidad. Por otra parte, otro trabajo demostró que, aunque se mostraron síntomas evidentes de enfermedad en los animales sometidos a ensayo, una contaminación de 18 mg/kg de aflatoxina B₁ en el pienso de lubinas (*Dicentrarchus labrax* L.) durante períodos prolongados de tiempo provocaba la aparición de residuos de esta toxina en músculo del pescado en valores cercanos a los 5 µg/kg, al tiempo que aparecían síntomas evidentes de enfermedad en los animales sometidos a ensayo (El-Sayed y Khalil, 2009).

También se ha encontrado contaminación por aflatoxinas en productos de origen vegetal diferentes de los incluidos en el Reglamento (CE) Nº 1881/2006, los cuales se muestran en la Tabla 3. Si bien en el caso de algunos alimentos como las especias la exposición potencial a aflatoxinas vehiculadas por estos alimentos es pequeña debido a su consumo reducido, en otros casos como el café o los garbanzos, su ingesta sí podría llegar a ser un riesgo potencial teniendo en cuenta las concentraciones de aflatoxinas encontradas por algunos autores.

Tabla 3. Ejemplos de alimentos no incluidos en el Reglamento (CE) N° 1881/2006 en los que se han encontrado concentraciones de aflatoxina B₁ o aflatoxinas totales superiores a las establecidas como límite en el Real Decreto 475/1988

Alimento	Contenido máximo detectado (µg/kg)	Tipo	Fuente
Garbanzos	205	Aflatoxina B ₁	(Ahmad y Singh, 1991)
Hierbas aromáticas y especias variadas	35	Aflatoxina B ₁	(El-Kady et al., 1995)
Paprika	20	Aflatoxina B ₁	(Martins et al., 2001)
Café tostado	16	Aflatoxinas totales	(Soliman, 2002)
Café descafeinado	24	Aflatoxinas totales	(Soliman, 2002)
Raíz de ginseng	16	Aflatoxinas totales	(D'Ovidio et al., 2006)

En bebidas alcohólicas, tales como vino y cerveza, también puede encontrarse de manera ocasional la aflatoxina B₁. En el caso del vino, esta toxina puede hallarse más frecuentemente en el tinto, seguido del rosado y finalmente en el blanco (Rasch et al., 2010). No obstante, la principal micotoxina presente en las bebidas alcohólicas es la ocratoxina A (Mateo et al., 2007), no alcanzando las aflatoxinas de los grupos B y G niveles elevados.

En relación a las chufas (*Cyperus esculentus*), en 1999, en respuesta a una pregunta en el Parlamento Europeo, la Comisión Europea alegaba que no se habían fijado límites máximos en este producto porque no disponía de datos de contaminación por aflatoxinas en el mismo (Parlamento, 1999). Posteriormente, en 2002 se realizaron tres notificaciones en la Unión Europea sobre chufas importadas contaminadas por aflatoxinas (SCIRI, 2002) y en abril de 2004, se efectuó una notificación sobre chufa importada de Mali con un nivel de contaminación de 300 µg/kg de aflatoxina B₁ (RASFF, 2004). Se han detectado aflatoxinas en chufa almacenada durante 150 días, con un nivel medio de 454 µg/kg de aflatoxina B₁ y 80 µg/kg de aflatoxina G₁ (Adebajo, 1993). En lo referente a la horchata, se han publicado varios trabajos científicos en los cuales se señala la presencia de aflatoxina B₁ en horchatas comercializadas en España (Arranz et al., 2006) (Rubert et al., 2011). En ambos trabajos se describe una pequeña proporción de horchatas contaminadas y además con un bajo índice de contaminación, inferior a 2 µg/kg.

Modificaciones recientes en la legislación referente a la contaminación por aflatoxinas de los alimentos

Los hallazgos y los cambios que se van produciendo en el campo de la alimentación hacen necesario replantear las políticas alimentarias. En el caso que nos ocupa, tanto la introducción en la alimentación de alimentos procedentes de otros países, hasta ahora no habituales en nuestra dieta como las modificaciones en las condiciones ambientales, pueden determinar cambios en el desarrollo fúngico o en la producción de micotoxinas. En este sentido, recientemente, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria ha iniciado el proceso para estudiar el potencial incremento de la presencia de aflatoxina B₁ en cereales como consecuencia del cambio climático utilizando modelos predictivos que indiquen una potencial contaminación emergente de los alimentos debida a micotoxinas (EFSA, 2009).

Asimismo, en 2007, el panel de contaminantes de EFSA (CONTAM) en relación a una pregunta sobre el incremento potencial del riesgo para la salud de los consumidores que supondría un posible aumento de los límites máximos de aflatoxinas existentes en almendras, avellanas y pistachos, indicó que el aumento del contenido máximo de aflatoxinas totales de 4 a 8 ó 10 µg/kg en estos alimentos, tendría un efecto mínimo en las estimaciones sobre la exposición alimentaria, el riesgo de cáncer y los intervalos de exposición calculados. Este criterio se ha tenido en cuenta en el Reglamento (CE) N° 165/2010 (UE, 2010a) que modificó los límites establecidos inicialmente en el Reglamento (CE) N° 1881/2006.

Conclusiones del Comité Científico

Vista toda la información expuesta anteriormente, es un hecho comprobado que los contenidos máximos de aflatoxinas B y G en los alimentos que de manera más frecuente pueden ser portadores de este tipo de aflatoxinas quedan expresamente regulados por el Reglamento (CE) N° 1881/2006.

No obstante, hay varios hechos que el Comité Científico considera deben ser tenidos en cuenta para una correcta protección del consumidor frente a la exposición a estos agentes tóxicos:

- Existen otros alimentos de origen vegetal en los cuales estas toxinas han sido detectadas en cantidades similares o superiores (Tabla 3) a los límites establecidos en el Real Decreto 475/1988, tales como el café, los garbanzos, la raíz de ginseng o una cierta variedad de hierbas aromáticas y especias.
- En estudios experimentales se demuestra que estas toxinas pueden acumularse en diversos tejidos de animales productores de alimentos, tales como el hígado y músculo de aves de corral o de pescado cultivado, encontrándose en ocasiones y en algunos tejidos, niveles de contaminación superiores o similares a los establecidos en el Real Decreto 475/1988. Aunque el pescado cultivado suele consumirse eviscerado, si es habitual encontrar en los mercados hígados de ave de corral destinados al consumo humano.
- No se debe tampoco obviar que la chufa, no incluida en el Reglamento (CE) N° 1881/2006, además de ser una materia prima para la elaboración de horchata, se consume directamente. En los últimos años se han encontrado en algunos casos, concentraciones muy elevadas (en uno de ellos alcanzó los 300 µg/kg) de aflatoxinas en partidas de chufas importadas de diversos países africanos. En el caso de la horchata, los niveles encontrados son inferiores a los límites establecidos en el Real Decreto 475/1988, por lo que con los datos disponibles a día de hoy este alimento no representaría un riesgo significativo para la población.
- Es también un hecho que debido a la globalización y la intensa inmigración que ha experimentado nuestro país en los últimos años, es cada vez más frecuente encontrar en nuestros mercados productos alimenticios que no habituales en nuestra alimentación. Algunos de estos alimentos podrían ser susceptibles de contener aflatoxinas, no figurando en el Reglamento (CE) N° 1881/2006, por lo que sería conveniente disponer de más estudios de contenido de aflatoxinas en determinados alimentos no incluidos en el Reglamento (CE) N° 1881/2006 como la chufa o especies de pescado cultivado en los que hay indicios de que puedan estar presentes estas micotoxinas y remarcar la utilidad de los controles de aflatoxinas en piensos para evitar la contaminación de los productos de origen animal.

Por todos estos motivos, y sin perjuicio de las medidas de gestión que sean pertinentes, el Comité Científico considera que, en este momento y hasta que se disponga de datos representativos de presencia de aflatoxinas en alimentos tales como los citados anteriormente u otros de los que no se tenga seguridad respecto de sus condiciones de producción, el Real Decreto 475/1988 que regula los límites máximos permitidos de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ ofrece un nivel de protección significativo para el consumidor respecto a determinados alimentos no regulados por el Reglamento (CE) N° 1881/2006.

Referencias

- Adebajo, L.O. (1993). Survey of aflatoxins and ochratoxin A in stored tubers of *Cyperus esculantus* L. *Appelgren LE, Arora RG. Mycopathology*, 124 (1), pp: 41-46.
- Ahmad, S.K. y Singh, P.L. (1991). Mycofloral changes and aflatoxin contamination in stored chickpea seeds. *Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 8 (6), pp: 723-730.
- Arranz, I., Stroka, J. y Neugebauer, M. (2006). Determination of aflatoxin B₁ in tiger nut-based soft drinks. *Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 23 (3), pp: 305-308.
- Ayar, A., Sert, D. y Çon, A.H. (2007). A study on the occurrence of aflatoxin in raw milk due to feeds. *Journal of Food Safety*, 27, pp: 199-207.
- Aziz, N.H. y Youssef, Y.A. (1991). Occurrence of aflatoxins and aflatoxin-producing moulds in fresh and processed meat in Egypt. *Food Additives & Contaminants: Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 8 (3), pp: 321-331.
- Bintvihok, A., Thiengnin, S., Doi, K. y Kumagai, S. (2002). Residues of aflatoxins in the liver, muscle and eggs of domestic fowls. *Journal of Veterinary Medical Sciences*, 64, pp: 1037-1039.
- Blount, W.P. (1961). Turkey "x" disease. *Journal of British Turkey Federation*, 9, pp: 55-58.
- Bueno, D.J., Casale, C.H., Pizzolitto, R.P., Salano, M.A. y Olivier, G. (2006). Physical adsorption of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae*: A theoretical model. *Journal of Food Protection*, 70, pp: 2148-2154.
- CAST (1998). Council for Agricultural Science and Technology. Antimicrobial Plant substances. Naturally occurring antimicrobial in food. Task force report, 132. April 1998, pp: 35-40.
- Codex Alimentarius (2008). Codex General Standard for contaminants and toxins in food and feed. Codex Stan 193-1995. pp: 9. Disponible en: http://www.codexalimentarius.net/download/standards/17/CXS_193e.pdf [acceso: 5-4-2011].
- Cousin, M.A., Riley, R.T. y Pestka, J.J. (2005). Capítulo 10: Foodborne micotoxinas: Chemistry, biology, Ecology and Toxicology. En libro: *Foodborne pathogens: microbiology and molecular biology*. Ed. Fratamico, P.M., Bhunia, A.K. y Caister J. L. S. Academic Press, pp: 163-273.
- Dalié, D.K.D., Deschamps, A.M. y Richard-Forget, F.R. (2010). Lactic acid bacteria-potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21, pp: 370-380.
- Deng, S.X., Tian, L.X., Liu, F.J., Jin, S.J., Liang, G.Y., Yang, H.J., Du, Z.J. y Liu, Y.J. (2010). Toxic effects and residue of aflatoxin B₁ in Tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. aureus*) during long-term dietary exposure. *Aquaculture*, 307, pp: 233-240.
- D'Ovidio, K., Trucksess, M., Weaver C., Horn, E., McIntosh, M. y Bean, G. (2006). Aflatoxins in ginseng roots. *Food Additives & Contaminants*, 23 (2), pp: 174-180.
- EFSA (2007). The European Food Safety Authority. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain related to the potential increase of consumer health risk by a possible increase of the existing maximum levels for aflatoxins in almonds, hazelnuts and pistachios and derived products. Question number: EFSA-Q-2006-174. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/446.htm> [acceso: 6-4-2011].
- EFSA (2009). Modelling, predicting and mapping the (re)emergence of aflatoxin B₁ in cereals in the EU due to climate change. Disponible en: <http://www.efsa.europa.eu/en/art36grants/article36/1211902566559.htm> [acceso: 5-4-2011].

- El-Kady, I.A., El-Maraghy, S.S.M. y Mustafa M.E (1995). Natural occurrence of mycotoxins in different spices. *Folia Microbiologica*, 40, pp: 297-300.
- Ellis, W.O, Smith, J.P., Simpson, B.K., Khanizadehy, S. y Oldham, J.H. (1993). Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* under modified atmosphere packaging (MAP) conditions. *Food Microbiology*, 10 (1), pp: 9-21.
- El-Sayed, Y.S. y Khalil, R.H. (2009). Toxicity, biochemical effects and residue of aflatoxin B₁ in marine water-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Food and Chemical Toxicology*, 47, pp: 1606-1609.
- García-Camarillo, E.A., Quezada-Viay, M.Y., Moreno-Lara, J. y Sánchez-Hernández, G. (2006). Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*Cinnamomum zeylanicum* Blume) y Orégano (*Origanum vulgare* L.) y su efecto sobre la producción de aflatoxinas en nuez pecanera. *Revista Mexicana de Fitopatología A.C.*, 24 (001), pp: 8-12.
- Goto, T., Ito, Y., Peterson, S.W. y Wicklow, D. (1997). Mycotoxin producing ability of *Aspergillus tamarri*. *Mycotoxins*, 44, pp: 17-20.
- Hussain, Z., Khan, M.Z., Khan, A., Javed, I., Saleemi, M.K., Mahnood, S. y Asi, M.R. (2010). Residues in aflatoxin B₁ in broiler meat: Effect of age and dietary aflatoxin B₁ levels. *Food and Chemical Toxicology*, 48, pp: 3304-3307.
- IARC (1993). International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs, 56, pp: 362. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol56/mono56-14.pdf>. [acceso: 5-4-2011].
- IARC (2002). International Agency for Research on Cancer. Aflatoxins. Disponible en: www.inchem.org/documents/iarc/vol82/82-04.html [acceso: 5-4-2011]
- ICMSF (1996). International Commission on Microbiological Specifications for Food. Toxigenic fungi: *Aspergillus. Microorganism in foods*, 5, pp: 347-381. Characteristics of Food Pathogens. Academic Press, London.
- ICMSF (1998). International Commission on Microbiological Specifications for Food. *Microorganisms in foods*, 6, pp: 348. Microbial Ecology of Food Commodities. Aspen Publishers, INC, Gaithersburg, Maryland.
- Ito, Y., Peterson, S.W., Wicklow, D. y Goto, T. (2001). *Aspergillus pseudotamarri*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *flavi*. *Mycology Research*, 105, pp: 233-239.
- JECEFA (1987). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Thirty-first report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, N° 759 and Corrigendum.
- JECEFA (1997). Forty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 868.
- JECEFA (1999). Forty-ninth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series, N° 884.
- JECEFA (2002). Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 906.
- JECEFA (2007). Sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, No. 947.
- Kankaanpää, P., Tuomola, E., El-Nezami, H., Ahokas, J. y Salminen, S.J. (2000). Binding of aflatoxin B₁ alters the adhesion properties of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG in Caco-2 model. *Journal of Food Protection*, 63, pp: 412-414.
- Kensler, T.W., Roebuck, B.D., Wogan, G.N. y Groopman, J.D. (2011). Aflatoxin: a 50-year odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicological Sciences*, 120 (S1), pp: S28-S48.
- Kurtzman, C.P., Horn, B.W. y Hesselstine, C.W. (1987). *Aspergillus nomius*, a new aflatoxin-producing species related to *Aspergillus flavus* and *Aspergillus tamarri*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 53 (3), pp: 147-58.
- Lahtinen, S.J., Haskard, C.A., Ouwehand, A.C., Salminen, S.J. y Ahokas, J.T. (2004). Binding of aflatoxin B₁ to cell wall components of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG. *Food Additives and Contaminants*, 21, pp: 158-164.
- Luchese, R.H. y Harrigan, W. (1993). Biosynthesis of aflatoxin-the role of nutritional factors. *Journal of Applied Microbiology*, 74, pp: 5-14.
- Mahmoud, A.L.E., Sayed, A.M. y Abou-El-Alla, A.A. (2001). Mycoflora and natural occurrence of mycotoxins in some meat products and livers of poultry and imported bulls. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4 (5), pp: 611-613.

- Marth, E.H. (1990). Mycotoxin. En libro: *Foodborne diseases*. Ed. Cliver, E. O. Academic Press, pp: 137-158.
- Mateo, R., Medina, A., Mateo, E.M., Mateo, F. y Jiménez, M. (2007). An overview of ochratoxin A in beer and wine. *International Journal of Food Microbiology*, 119, pp: 79-83.
- Martins, M.L., Martins, H.M. y Bernardo F. (2001). Aflatoxins in spices marketed in Portugal. *Food Additives and Contaminants*, 18 (4), pp: 315-9.
- Miranda, J.M., Jorge, F., Dominguez, L., Cepeda, A. y Franco, C.M. (2011). In vitro growth inhibition of food-borne pathogens and food spoilage microorganism by vitamin K₅. *Food and Bioprocess Technology*, 4, pp: 1060-1065.
- Park, J.W. y Kim, Y.B. (2006). Effect of pressure cooking on aflatoxin B₁ in Rice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, pp: 2431-2435.
- Parlamento. (1999). Pregunta escrita E-0630/99 de Encarnación Redondo Martínez a la Comisión. DO L 370 de 21 de diciembre de 1999, pp: 78-79.
- Premkumar, K., Abraham, S.K., Santhiya, S.T. y Ramesh, A. (2003). Protective effects of saffron (*Crocus sativus* L.) on genotoxins-induced oxidative stress in Swiss albino mice. *Phytotherapy Research*, 17 (6), pp: 614-617.
- RASFF (2004). Rapid Alert System for Food and Feed. Annual report of the functioning of the RASFF 2004. Disponible en: http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/report2004_en.pdf. [acceso: 16-5-2011].
- Rasch, C., Böttcher, M. y Kumke, M. (2010). Determination of aflatoxin B₁ in alcoholic beverages: comparison of one- and two-photon-induced fluorescence. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397, pp: 87-92.
- Real Decreto 475/1988 de 13 de mayo de 1988 por el que se establecen los límites máximos permitidos de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ en alimentos para consumo humano. BOE 121 de 20 de mayo de 1988, pp: 15329.
- Rubert, J., Sebastià, N., Soriano, J.M., Soler, C. y Mañes, J. (2011). One-year monitoring of aflatoxins and ochratoxin A in tiger-nuts and their beverages. *Food Chemistry*, 127, pp: 822-826.
- Sargeant, K., O'Kelly, J., Carnaghan, R.B.A. y Allcroft, R. (1961). The assay of a toxic principle in certain groundnut meals. *Veterinary Record*, 73, pp: 1219.
- SCF (1996). Scientific Committee on Food. Opinion on Aflatoxins, Ochratoxin A and Patulin. Reports of the Scientific Committee on Food, 35^o Series. European Commission, DG Industry.
- SCIRI (2002). Sistema Coordinado de Intercambio Rápido de Información. Colección de Informes Técnicos. Disponible en: http://www.aesan.msc.es/AESAN/docs/docs/publicaciones_estudios/memoria/memoria_sciri.pdf [acceso 16-5-2011].
- Soliman, K.M. (2002). Incidence, level, and behaviour of aflatoxins during coffee bean roasting and decaffeination. *Journal of Agricultural and food Chemistry*, 50 (25), pp: 7477-7481.
- Sweeney, M.J. y Dobson, A.D.W. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 43, pp: 141-158.
- Tsubouchi H., Yakamoto, K., Hisada, K., Sakabe, Y. y Tsuchihira, K. (1981). Inhibitory effects of nonaflatoxigenic fungi on aflatoxin production by *A. flavus*. *Transactions of the Mycological Society of Japan*, 22, pp: 103-111.
- UE (2006a). 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 de 20 de diciembre de 2006, pp: 5-24.
- UE (2006b). Reglamento (CE) N° 401/2006 de la Comisión de 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios. DO L 70 de 9 de marzo de 2006, pp: 12-34.
- UE (2009). Reglamento (CE) N° 1152/2009 de la Comisión de 27 de noviembre de 2009 por el que se establecen condiciones específicas para la importación de determinados productos alimenticios de algunos terceros países debido al riesgo de contaminación de dichos productos por aflatoxinas y se deroga la Decisión 2006/504/CE. DO L 313 de 28 de noviembre de 2009, pp: 40-49.
- UE (2010a). Reglamento (EU) N° 165/2010 de la Comisión de 26 de febrero de 2010 que modifica, en lo que respecta a las aflatoxinas, el Reglamento (CE) N° 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. DO L 50 de 27 de febrero de 2010, pp: 8-12.

UE (2010b). Reglamento (CE) N° 178/2010 de la Comisión de 2 de marzo de 2010 por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 401/2006 en lo que respecta a los cacahuets y otras semillas oleaginosas, a los frutos de cáscara arbóreos, a los huesos de albaricoque, al regaliz y al aceite vegetal. DO L 52 de 3 de marzo de 2010, pp: 32-34.

Wicklow, D.T., Hesseltine C.W., Shotwell, O.L. y Adams G.L. (1980). Interference competition and aflatoxin levels in corn. *Phytopathology*, 70, pp: 761-764.

Williams, J.H., Phillips, T.D., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M. y Aggarwal, D. (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences and interventions. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 80 (5), pp: 1106-1122.

Zinedine, A. y Mañes, J. (2009). Occurrence and legislation of mycotoxins in food and feed from Morocco. *Food Control*, 20, pp: 334-344.