

comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



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

Tema 7 del programa

**CX/CF 09/3/7
Marzo de 2009**

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS

Tercera reunión

Róterdam, Países Bajos, 23 – 27 de marzo de 2009

ANTEPROYECTO DE NIVELES MÁXIMOS Y PLAN DE MUESTREO PARA EL CONTENIDO TOTAL DE AFLATOXINAS EN LAS NUECES DEL BRASIL (N11-2008)

Preparado por el Grupo de trabajo por medios electrónicos dirigido por Brasil

INFORMACIÓN GENERAL

1. En su 1ª reunión celebrada en abril de 2007, el Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos (CCCF) decidió que la delegación del Brasil actualizara el Documento de debate sobre la contaminación por aflatoxinas en las nueces del Brasil, incorporando los datos adicionales que estuvieran disponibles sobre la contribución de la cáscara a la contaminación por aflatoxinas en las nueces del Brasil, para someterlo a examen en su segunda reunión (párrafo 66 - ALINORM 07/30/41).
2. En la 2ª reunión del CCCF se debatieron el documento de debate y un documento de proyecto. En su 31º período de sesiones, la CAC ratificó la recomendación de la 61ª reunión del Comité Ejecutivo y aprobó la propuesta de nuevo trabajo de someter a debate los niveles máximos para el contenido total de aflatoxinas en las nueces del Brasil.
3. En su segunda reunión el Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos (CCCF) convino en adelantar los Anteproyectos de planes de muestreo para la contaminación por aflatoxinas en las nueces de árbol listas para el consumo y las nueces de árbol destinadas a elaboración posterior: almendras, avellanas y pistachos. La propuesta fue aprobada en el 31º período de sesiones de la Comisión del Codex Alimentarius en el Trámite 5/8, con la recomendación de omitir los Trámites 6 y 7.
4. El CCCF acordó enmendar el título suprimiendo la referencia a las nueces del Brasil, en el entendimiento que, cuando se establecieran niveles máximos para las nueces del Brasil, se revisarían los planes de muestreo para incorporar un anexo que comprenda estos productos, tomando en consideración datos de estudios de muestreo sobre la incertidumbre y la distribución.
5. En el presente documento se ha tomado en consideración la evaluación del JECFA en su 68ª reunión sobre el impacto de los distintos límites hipotéticos del contenido total de aflatoxinas (AFT) en las nueces de árbol, incluidas las nueces del Brasil, en la ingestión a través de los alimentos.

6. Este documento ha sido preparado por Brasil con contribuciones de la FAO, los Países Bajos, la Comunidad Europea, Suecia, Reino Unido, Estados Unidos, la Fundación Consejo Internacional de los Frutos Secos y Nueces de Árbol (INC) y la Confederación de las Industrias de Alimentación y Bebidas de la UE (CIAA).

INTRODUCCIÓN

7. La contaminación por aflatoxinas puede ser un posible problema en las nueces de árbol y en otros productos como el maíz, cacahuets (maní), semillas oleaginosas, productos de cacao, frutos secos y especias. El presente documento solamente es aplicable a las nueces del Brasil, que es el único cultivo entre las nueces de árbol que más se comercializan en que se utiliza la actividad extractiva. El extractivismo puede definirse como un procedimiento de recolección y tratamiento primario de los productos forestales destinados al comercio nacional o internacional (CAC/RCP 59-2005).

8. Las nueces del Brasil son semillas de *Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl., que son árboles que crecen de forma silvestre en el bosque del Amazonas. Pueden alcanzar hasta 60 metros de altura, empiezan a producir frutos a los 12 años y su vida alcanza hasta los 500 años. Los árboles crecen en grupos de 50 a 100 árboles y estos grupos están separados entre sí por distancias de hasta 1 kilómetro; la polinización es realizada por abejas silvestres grandes, especialmente abejas *Euglossinae* (Wadt et al., 2005).

9. El bosque del Amazonas tiene numerosos ecosistemas y una gran diversidad. Desempeña un importante papel en el equilibrio climático mundial y ofrece refugio y sustento a numerosos grupos étnicos. El clima ecuatorial es cálido y húmedo, con una temperatura media de 26° C y humedad relativa entre 80% y 95%.

10. La actividad extractiva de nueces del Brasil constituye una importante actividad para la población autóctona en los países en que crecen los árboles, y estimula un uso sostenible de los recursos naturales renovables, conciliando el desarrollo social con la conservación. Es una actividad que no destruye el bosque ni representa una amenaza para el equilibrio ecológico y el medio ambiente. Por otra parte, los árboles de *Bertholletia Excelsa* son esenciales en el bosque tropical porque ayudan a mantener el equilibrio en la relación entre la flora y la fauna.

11. El número de recolectores y de procesadores que vive de la industria de la nuez del Brasil es de aproximadamente 1,2 millones en Brasil, 600 000 en Bolivia y 200 000 en Perú. En 2006 la producción mundial total fue de 20 100 toneladas métricas, siendo un 64 % de Bolivia, un 24 % de Brasil y un 12 % de Perú (INC, 2007).

12. En su 28º período de sesiones (CAC, 2001), la CAC adoptó un Código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por aflatoxinas en las nueces de árbol; la CAC adoptó un apéndice específico para las nueces del Brasil en su 29ª período de sesiones. En información de INC se señalaba que en los últimos 15 años las industrias y productores habían hecho grandes esfuerzos para minimizar el desarrollo de hongos y producción de aflatoxinas en las nueces del Brasil. En el caso de las nueces del Brasil en especial, las condiciones en el entorno del Amazonas y las características de la actividad extractiva (recolección y tratamiento primario) no se pueden controlar y ello tiene efectos directos o indirectos sobre el desarrollo de hongos tóxicos y producción de aflatoxinas.

12. El procesado/tratamiento que ha demostrado que reduce los niveles de aflatoxinas en las nueces del Brasil comprende el pelado, la clasificación por tamaño, la gravedad específica, el color o el daño. Las nueces del Brasil listas para el consumo (LPC) son nueces que no se someten a un tratamiento/procesado adicional antes de llegar al consumidor final; las destinadas a ulterior elaboración (DUE) son sometidas a ese procedimiento. Las nueces del Brasil se pueden comercializar sin cáscara y con cáscara, tanto las listas para el consumo (LPC) como las destinadas a ulterior elaboración (DUE). Cada uno de estos productos se define del modo siguiente:

Nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo: son las nueces sin cáscara (sólo el grano) aptas para comercialización directa al consumidor final.

Nueces del Brasil sin cáscara destinadas a ulterior elaboración: son las nueces sin cáscara (sólo el grano) que se van a someter a un procedimiento de selección para reducir los niveles de aflatoxinas antes de comercializarse al consumidor final.

Nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo: son las nueces con cáscara aptas para comercialización directa al consumidor final.

Nueces del Brasil con cáscara destinadas a ulterior elaboración: son las nueces con cáscara que se van a someter a un procedimiento de clasificación y/o eliminación de la cáscara para reducir los niveles de aflatoxinas antes de comercializarse al consumidor final.

13. En este documento se examinan muchos aspectos relacionados con el contenido total de aflatoxinas en las nueces del Brasil, incluida la presencia, estimación de la ingestión alimentaria y los niveles máximos. El documento presenta también una propuesta de un plan de muestreo en el anexo II.

EVALUACIÓN TOXICOLÓGICA

14. En su 49ª reunión, el JECFA (FAO/OMS, 1998) examinó el poder cancerígeno de las aflatoxinas y los posibles riesgos asociados a su ingestión. El JECFA analizó una amplia variedad de estudios realizados con animales y con personas que proporcionaron información cualitativa y cuantitativa sobre la hepatocarcinogenia de las aflatoxinas. No se propuso una ingestión diaria tolerable porque estos compuestos son cancerígenos genotóxicos. Los cálculos potenciales de cáncer de hígado en el hombre debido a la exposición a la aflatoxina B₁ se obtuvieron de estudios epidemiológicos y toxicológicos.

15. La capacidad cancerígena de la aflatoxina B₁ es considerablemente mayor en portadores del virus de la hepatitis B (alrededor de 0,3 casos de cáncer al año por cada 100 000 personas por ng de aflatoxinas B₁ por kg de peso corporal al día), según determinado por la presencia en el suero del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (personas HBsAg⁺), en comparación con las personas HBsAg⁻ (alrededor de 0,01 casos de cáncer al año por cada 100 000 personas por ng de aflatoxinas B₁ por kg de peso corporal al día). El JECFA señaló además que la vacunación contra el virus de la hepatitis B reduciría el número de portadores del virus, y por tanto la potencia de las aflatoxinas en las poblaciones vacunadas disminuiría, dando lugar a una reducción del riesgo de cáncer de hígado (FAO/OMS, 1998).

MÉTODOS ANALÍTICOS

16. Para determinar el contenido de aflatoxinas en las nueces existe una serie de métodos analíticos. En general, los métodos incluyen los pasos de preparación de la muestra, extracción, limpieza y cuantificación. Tras una homogeneización efectiva, se aplica un paso de extracción con disolvente utilizando una mezcla de acetonitrilo o metanol y agua. La limpieza de la muestra utiliza la partición líquido-líquido o bien extracción en fase sólida (SPE) con adsorbentes como sílice, florisil, C18, óxido de aluminio e inmunoabsorbentes como columna de inmunoadfinidad (Gilbert y Vargas, 2003). Los métodos de identificación y cuantificación que se emplean normalmente son cromatografía en capa fina (TLC o HPTLC) o cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC), con detección de fluorescencia. Para analizar el contenido de aflatoxinas en las nueces del Brasil fueron validados dos métodos a través de estudios de colaboración utilizando limpieza SPE (AOAC 994.08) y columna de inmunoadfinidad (Stroka et al., 2000), seguido de HPLC-FL (Gilbert y Vargas, 2003). Se han desarrollado métodos de cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem con ionización por electrospray o ionización química por presión atmosférica (LC-MS/MS) para determinar y confirmar la contaminación por aflatoxinas en distintos alimentos (Bacaloni et al., 2008; Spanjer et al., 2008). Spanjer et al. (2008) desarrollaron un método con inyección directa en un LC-MS/MS tras extracción con acetonitrilo: agua para 33 micotoxinas, incluyendo aflatoxinas BG. El límite de detección (LOD) o el límite de cuantificación (LOQ) para cada aflatoxina dependen de la matriz, el procedimiento de limpieza y el método de detección, y normalmente oscila entre 0,1 y 1 µg/kg (Marklinder et al., 2005; Sobolev, 2007).

17. Los equipos de ensayo basados en anticuerpos para analizar el contenido de aflatoxinas se utilizan principalmente con fines de selección. En el sitio Web de AOAC Internacional (AOAC, 2009) figura una lista de distintos tipos de equipos para el análisis de aflatoxinas B₁ y el contenido total de aflatoxinas, que utilizan crisoles revestidos de anticuerpos, láminas para ELISA, columnas, tarjetas y tubos. Sin embargo, pocos equipos se han validado mediante un estudio de colaboración entre laboratorios (Gilbert y Vargas, 2003).

18. El CCFAC estableció un criterio de rendimiento para los métodos de análisis para la detección del contenido total aflatoxinas en los alimentos (CX/CF 07/1/6). Tanto el Comité Europeo de Normalización (CEN 1999) como la Unión Europea (CE, 2006) han establecido también características de rendimiento del método general para las aflatoxinas, y han aprobado los últimos documentos del Codex para cacahuetes

(maní) y nueces de árbol (almendras, avellanas y pistachos).

19. En su 36ª reunión el CCFAC señaló que no era necesario elaborar más métodos de análisis para la detección de aflatoxinas en las nueces de árbol. En el futuro, el Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Muestreo (CCMAS) podría examinar, si se solicita, métodos adicionales.

FACTORES QUE REPERCUTEN EN LA PRESENCIA DE AFLATOXINAS EN LAS NUECES DEL BRASIL

20. Diversos factores medioambientales influyen en el desarrollo de hongos y la producción de aflatoxinas, pero los factores que se consideran decisivos son la temperatura y la humedad relativa. Otros factores son la composición del substrato, las condiciones de almacenamiento y los daños producidos por insectos (Arrus et al., 2005a).

21. Olsen et al. (2008) demostraron que en la mayoría de las muestras de 199 lotes de nueces del Brasil con cáscara importadas a Europa la relación entre la aflatoxina B₁ y G₁ era de aproximadamente 50/50, indicando que el principal hongo responsable de la producción de aflatoxinas no puede ser *Aspergillus flavus*, porque produce únicamente aflatoxinas B. Los datos recopilados durante los últimos 5 años por miembros de la industria de INC (Pino Calcagni, comunicación personal) demuestran que el promedio pesado de la proporción de aflatoxinas B₁ al contenido total de aflatoxinas es del 66,3%, variando desde un 25% hasta un máximo del 96,4%.

22. El desarrollo de hongos toxígenos y la formación de aflatoxinas puede producirse en las fases (de recolección) antes y después de la cosecha. Según Johnson et al. (2008), la infección preliminar de las nueces del Brasil con hongos productores de aflatoxinas puede producirse en un estadio muy temprano puesto que del exterior de vainas asépticas unidas todavía al árbol se aisló *A. flavus*. La probabilidad y proporción de desarrollo de hongos y formación de toxinas guardaba relación en gran medida con la actividad acuosa (a_w), que es una medición del agua no ligada en el cultivo/alimento. Cuanto más elevada es la a_w más rápido es el desarrollo. Baymam et al. (2002) han demostrado que la mayoría de las infecciones con especies de *Aspergillus* en las nueces del Brasil es interna.

23. El desarrollo de hongos y producción de toxinas en las nueces del Brasil se produce generalmente en el suelo tras caer del árbol, durante la cosecha, el transporte y el almacenamiento, y se ven favorecidos por las condiciones climáticas del bosque del Amazonas, principalmente durante la época de las lluvias (Cartaxo et al., 2003; Wadt et al., 2005; Pacheco & Scusel, 2007).

24. En nueces del Brasil recogidas hasta 60 días después de haber caído las vainas del árbol (Cartaxo et al., 2003) y durante el procesado (Souza et al., 2003) se detectó la presencia de *Aspergillus flavus* y *A. niger*. Además de estas especies, se detectó también la presencia de *Aspergillus parasiticus* en nueces del Brasil defectuosas (Brasil, 2003; datos sin publicar). Recientemente se ha detectado *Aspergillus nomius* en lotes de nueces del Brasil y éste puede ser uno de los productores más importantes de aflatoxinas en estas nueces (Olsen et al, 2008).

25. Arrus et al (2005b) realizaron un estudio para entender mejor el origen de las aflatoxinas en las nueces del Brasil. Se recogieron asépticamente cinco vainas de nueces del Brasil de árboles ubicados en cada uno de los campos del bosque del Amazonas en Perú. Las partes exteriores de las vainas de la nuez no contenían *A. parasiticus* y solamente las vainas de un campo dieron cepas de *A. flavus*. Todas las cepas analizadas eran aflatoxígenas (630 µg/kg a 915 µg/kg del contenido total de aflatoxinas). Las nueces enteras, con cáscara obtenidas tras abrir las vainas no dieron *A. flavus* ni *A. parasiticus*. En ninguna de las nueces se detectaron aflatoxinas (LOD de 1,75 µg/kg). Las nueces con cáscara y y sin cáscara sometidas a varias operaciones de procesado dieron todas positivo para *A. flavus* pero negativo para *E. coli* y salmonelas.

26. Los efectos de la humedad relativa (HR) y la temperatura sobre la producción de aflatoxinas se evaluaron en nueces del Brasil con cáscara y sin cáscara (enteras y en mitades) inoculadas con el género aflatoxígeno *Aspergillus* (Arrus et al., 2005a). En nueces conservadas a 25° y 30 °C, y 97% de HR se detectó la producción máxima de aflatoxinas. En las mitades se observó el nivel más alto de aflatoxinas B₁ (4483 µg/kg) y del contenido total de aflatoxinas (6817 µg/kg) mientras que las nueces con cáscara contenían los niveles más bajos de aflatoxinas B₁ y del contenido total de aflatoxinas (49 µg/kg y 93 µg/kg, respectivamente). No se produjeron aflatoxinas a 10 °C (97% de HR) ni a 30 °C (75% de HR) . Esto indica que después de la cosecha el desarrollo de hongos se puede evitar secando la nuez lo antes posible hasta que

tenga un nivel de humedad o actividad acuosa inocua. Adicionalmente, una importante estrategia para prevenir la producción de aflatoxinas en las nueces del Brasil es controlar adecuadamente la temperatura y la HR durante la conservación.

27. Según Arrus et al. (2005a), el límite del contenido de humedad y de la actividad acuosa (a_w) necesario para controlar la producción de aflatoxinas ($<4 \mu\text{g/kg}$) a 30°C hasta 60 días de almacenamiento es de 4,57 % (0,70 de a_w) para las nueces con cáscara, y de 4,50 % (0,68 de a_w) y 5,05 % (0,75 de a_w) para las nueces sin cáscara (enteras y en mitades, respectivamente). Por encima de estos valores la producción de aflatoxinas puede aumentar considerablemente. La mejor forma de expresar la disponibilidad de agua necesaria para permitir el desarrollo de hongos es como a_w .

PRESENCIA DE AFLATOXINAS EN LAS NUECES DEL BRASIL

28. Varios países han estado estudiando la presencia de aflatoxinas en las nueces del Brasil. De 176 muestras analizadas en los Estados Unidos, el 11 % estaban contaminadas con aflatoxinas a niveles que varían desde trazas hasta $20 \mu\text{g/kg}$, y el 6 % tenía niveles superiores a $20 \mu\text{g/kg}$. El nivel máximo detectado fue de $619 \mu\text{g/kg}$ (Pohland, 1993). En Japón, de las 74 muestras de nueces del Brasil analizadas solamente estaban contaminadas 4 y 2 muestras contenían aflatoxinas por encima de $10 \mu\text{g/kg}$ (hasta $123 \mu\text{g/kg}$) (FAO/OMS, 1998).

29. De 51 muestras de nueces de Brasil analizadas en la República de Chipre, 10 muestras presentaron contaminación por aflatoxinas a niveles de $8,3 \mu\text{g/kg}$ a $20 \mu\text{g/kg}$ para el tipo B_1 , no detección hasta $1,1 \mu\text{g/kg}$ para el tipo B_2 y $2,3 \mu\text{g/kg}$ a $9,4$ para el tipo G_1 (Ioannou-Kakouri et al., 1999).

30. Entre noviembre de 2003 y marzo de 2004 la Agencia de Normas Alimentarias del Reino Unido realizó un estudio en una variedad de nueces y productos de nueces. Cuatro de las 21 muestras analizadas de nueces del Brasil contenían niveles superiores a los límites normativos de la CE y el Reino Unido de $4 \mu\text{g/kg}$ para el contenido total de aflatoxinas (Food Standards Agency, 2004).

31. En un estudio realizado en Brasil de 1998 a 2004 se analizaron 500 muestras de nueces del Brasil (302 sin cáscara y 198 con cáscara). En el 71,8 % de las nueces sin cáscara y el 41,4 % de las nueces con cáscara analizadas no se detectó la presencia de aflatoxinas ($<0,6 \mu\text{g/kg}$). Los niveles de aflatoxinas B_1 eran $<2 \mu\text{g/kg}$ en el 69,4% y $<10 \mu\text{g/kg}$ en el 80 % de las muestras (sin cáscara y con cáscara). Aproximadamente el 70 % y 80 % de todas las muestras tenían niveles $<4 \mu\text{g/kg}$ y $<20 \mu\text{g/kg}$, respectivamente. Las concentraciones medianas del contenido total de aflatoxinas fueron de $1,85 \mu\text{g/kg}$ y $0,8 \mu\text{g/kg}$ en las nueces de Brasil con cáscara y sin cáscara, respectivamente (CAC, 2005a).

32. El Ministerio de Agricultura del Brasil presentó datos relativos a la presencia de aflatoxinas en las muestras de nueces del Brasil tomadas de lotes destinados a la exportación y lotes rechazados por los países importadores durante los años 2005 y 2006. En todos los casos se analizó solamente la parte comestible (los granos). Aproximadamente el 85 % de las 294 muestras (lotes) analizadas no presentaban niveles detectables de aflatoxina B_1 ($<0,6 \mu\text{g/kg}$ ó $1 \mu\text{g/kg}$). Los niveles del contenido total de aflatoxinas en las muestras positivas (concentración más baja) oscilaban entre $0,4 \mu\text{g/kg}$ y $242 \mu\text{g/kg}$, y 13 muestras (el 4,4 %) tenían niveles $> 20 \mu\text{g/kg}$ (Brazil, 2006; sin publicar).

33. En un estudio realizado en Brasil, de 179 muestras de nueces del Brasil analizadas en cuanto a aflatoxinas 79 estaban contaminadas (72,4 %) a niveles que varían desde $183,4 \mu\text{g/kg}$ a $924,2 \mu\text{g/kg}$. No se detectaron aflatoxinas en 30 muestras sin cáscara analizadas (Pacheco et al., 2006).

34. El Grupo Científico de EFSA evaluó los datos sobre la presencia de aflatoxinas en las nueces de árbol y otros productos de 2000 a 2006 presentados por 22 países miembros de la UE. Las muestras guardaban relación con la importación, el mercado o el control de la compañía y no se especificaba qué muestras eran listas para el consumo o para ulterior elaboración. De 622 muestras de nueces del Brasil analizadas, el 56,4% tenía niveles del contenido total de aflatoxinas inferiores al LOD ($0,1 \mu\text{g/kg} - 0,2 \mu\text{g/kg}$), el 22% entre el LOD y $4 \mu\text{g/kg}$, el 2,4 % entre $4 \mu\text{g/kg}$ y $10 \mu\text{g/kg}$, y el 19,1 % superiores a $10 \mu\text{g/kg}$ (EFSA, 2007).

35. En Suecia se llevó a cabo un estudio para evaluar la aptitud del consumidor para distinguir las nueces del Brasil con cáscara contaminadas por aflatoxinas (Marklinder et al., 2005). El nivel mediano y el percentil 95° de aflatoxinas en la parte comestible de 132 muestras tomadas antes de la selección por el grupo fueron de $1,4 \mu\text{g/kg}$ y $557 \mu\text{g/kg}$, respectivamente. Después de la selección, estos niveles fueron de $0,4 \mu\text{g/kg}$ y 56

µg/kg, respectivamente. El estudio concluyó que las nueces del Brasil pueden ser una de las pocas nueces que los consumidores pueden seleccionar visualmente la parte comestible de la parte contaminada no comestible durante el proceso de pelado antes de consumirla y, de esta manera, protegerse de la exposición a niveles elevados de aflatoxinas.

36. En su evaluación de la ingestión a través de los alimentos en su 68^a reunión, el JECFA utilizó datos sobre la contaminación por aflatoxinas de países productores. La concentración mediana del contenido total de aflatoxinas en las nueces del Brasil (sin cáscara) era de 20 µg/kg (FAO/OMS, 2008).

37. En general, la cáscara representa entre el 50 % y el 60 % del peso total de la nuez del Brasil. Marklinder *et al* (2005) han demostrado que en la mayoría de los casos, los niveles del contenido total de aflatoxinas eran más bajos en las cáscaras que en la nuez de la misma muestra. Pacheco y Scusel (2007) encontraron una proporción mediana del contenido total de aflatoxinas (n= 80) de 1,1 en nueces del Brasil con cáscara y sin cáscara al analizar muestras tomadas directamente de los silos, sin ningún tipo de clasificación.

38. De Mello & Scussel (2007) estudiaron las características externas de las nueces del Brasil con cáscara (dimensiones, peso, cromaticidad, y espesor de la cáscara), contenido de humedad y contaminación por aflatoxinas (analizado por LC-MS/MS). Según su longitud, las nueces del Brasil se clasificaron en tres grupos de tamaño grande, mediano y pequeño. Las muestras del grupo de nueces de tamaño pequeño presentaron un nivel medio de aflatoxinas B1 de 5,62 µg/kg. En las muestras de los otros dos grupos no se detectaron aflatoxinas. Los autores concluyeron que las características externas de las nueces del Brasil pueden ayudar a distinguir entre las nueces sanas/inocuas y deterioradas, y podrían ser de utilidad para la clasificación de nueces del Brasil y el desarrollo de máquinas. En la actualidad, no se dispone de tales máquinas. Si bien se utiliza luz ultravioleta para la clasificación visual y actualmente se dispone de máquinas de clasificación láser, son extremadamente costosas (Pino Calcagni, comunicación personal). Todavía se necesita determinar la eficacia de estas máquinas de clasificación para reducir el contenido de aflatoxinas en las nueces del Brasil con cáscara.

39. Pacheco & Scussel (2009) analizaron por LC-MS/MS nueces del Brasil con cáscara y sin cáscara de las temporadas de 2006 y 2007 destinadas a la exportación. Las muestras se tomaron de sacos grandes (nueces con cáscara) y mesas de clasificación tras ser clasificadas por tamaño (nueces sin cáscara) inmediatamente después del procesado en una fábrica de Manaus, Estado del Amazonas. De las 171 muestras analizadas, el 8,7% (11 con cáscara y 3 sin cáscara) de las nueces tenían niveles del contenido total de aflatoxinas >4 µg/kg; la mayoría de las nueces con cáscara (9 muestras) era de la temporada de 2006.

40. El Gobierno del Brasil – Ministerio de Agricultura – presentó los resultados del Proyecto CONFORCAST (2005), en un taller celebrado en Belém, Pará (Brasil), del 10 al 12 de noviembre de 2008. Los principales objetivos de este proyecto eran diseñar planes de muestreo para las nueces del Brasil sin cáscara y con cáscara, y evaluar qué categorías de nueces del Brasil (el grano y con cáscara) se podían asociar más con la contaminación por aflatoxinas. También se obtuvo información sobre la presencia de aflatoxinas en lotes de nueces del Brasil listos para comercializar (sin cáscara y con cáscara). Las muestras fueron tomadas durante los años 2006 y 2008 en plantas de procesado de los Estados de Pará y Acre. En los estudios de muestreo se sometieron a muestreo 25 lotes de nueces del Brasil sin cáscara y 13 lotes de nueces del Brasil con cáscara (4 a 8 toneladas) según diseños de muestreo no equilibrados.

41. Todas las muestras del proyecto CONFORCAST (con cáscara y los granos) fueron analizadas para el contenido de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ por HPLC-FL con derivatización post-columna utilizando una célula electroquímica, con criterios de rendimiento de conformidad con CEE 401/2006. Para cada submuestra, los niveles del contenido total de aflatoxinas en las nueces del Brasil con cáscara se calcularon a partir de los niveles encontrados en las cáscaras y los granos a través de equilibrio de masas.

42. Veinticinco (25) lotes de nueces del Brasil sin cáscara fueron sometidos a muestreo y de cada lote se tomaron veinticinco (25) muestras de 200 kg. De cada muestra, se tomaron 20 submuestras de 10 kg. para analizarlas. En el Cuadro 1 aparece el resumen de los resultados obtenidos en las 500 submuestras analizadas para el contenido total de aflatoxinas. En la mayoría de submuestras (el 67,8 %), los niveles de aflatoxinas detectados en las muestras eran inferiores a 0,39 µg/kg del contenido total de aflatoxinas; el 4 % de ellas tenía niveles superiores a 10 µg/kg.

Cuadro 1: Distribución de submuestras de las muestras agregadas de lotes de nueces del Brasil sin cáscara clasificadas por distintas gamas de contaminación, en el % de las 500 submuestras analizadas

	Gama de la concentración del contenido total de aflatoxinas*, µg/kg									
	≤0,39	> 0,39≤1,0	> 1≤2,0	> 2≤4	>4≤10	>10≤15	>15≤20	>20≤30	>30≤50	>50
% de submuestras analizadas	67,8	14,0	5,8	3,4	5,0	0,8	1,0	0,4	1,0	0,8

*LOD = 0,11 µg/kg (MAPA, 2008)

43. Se sometieron a muestreo trece (13) lotes de nueces del Brasil con cáscara y se tomaron cuatrocientos (400) kg de cada lote. Un lote se excluyó del estudio debido a que faltaban muestras. De cada uno de los 12 lotes, se tomaron 10 submuestras de 40 kg, las nueces se pelaron y tras inspeccionarlas visualmente por personal preparado, se separaron en granos buenos y las cáscaras correspondientes (con residuos y sin residuos) y granos podridos y las cáscaras correspondientes. Para 5 lotes, este proceso dio lugar a 20 submuestras de granos buenos, 10 submuestras de cáscaras, 10 submuestras de granos podridos y 10 submuestras de las cáscaras correspondientes, respectivamente (posteriormente se excluyeron tres submuestras debido a problemas técnicos). Para cada uno de los 7 lotes restantes, este procedimiento dio lugar a 20 submuestras de granos buenos y 1 submuestra de las cáscaras correspondientes (con residuos y sin residuos), 10 submuestras de granos podridos de masa de muestra variable y 10 submuestras de las cáscaras correspondientes. En este procedimiento se derivaron 54 submuestras en total. En la Figura 2 se muestra un diagrama con el protocolo de muestreo.

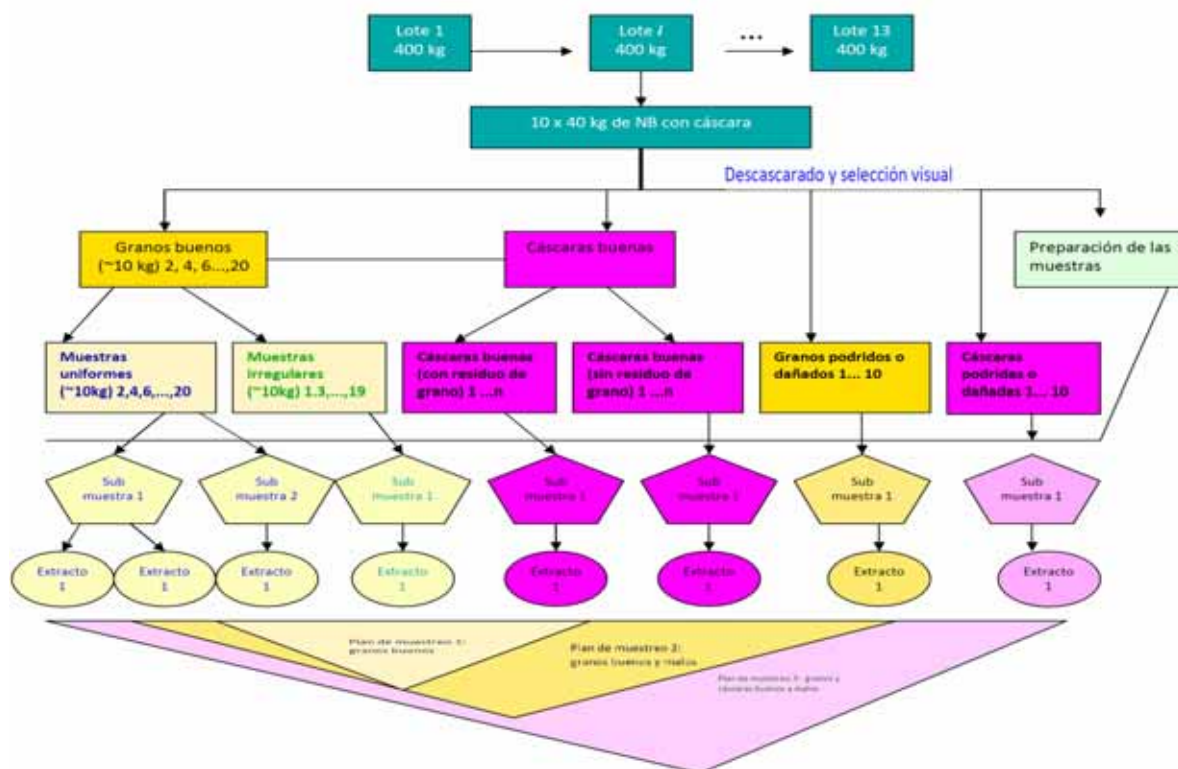


Figura 2. Procedimientos para la preparación de nueces del Brasil con cáscara

44. En el Cuadro 2 se muestra la distribución de los niveles del contenido total de aflatoxinas encontrados en las 54 submuestras de las nueces del Brasil con cáscara analizadas. Cuando se analizaron todas las nueces (buenas y podridas, incluidos los granos y las cáscaras correspondientes), el 35,2 % de las submuestras tenían un contenido total de aflatoxinas superior a 20 µg/kg, teniendo el 3,6% de ellas niveles superiores a 50 µg/kg. Cuando solamente se analizaron las nueces buenas (los granos y las cáscaras correspondientes), más del 90 % de las submuestras tenían niveles de aflatoxinas < 5 µg/kg y alrededor del 2 % de ellas tenían niveles

superiores a 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Cuadro 2: Distribución de submuestras de las muestras agregadas de 12 lotes de nueces del Brasil con cáscara analizando todas las nueces (buenas y podridas) y solamente las nueces buenas, clasificadas por gamas distintas de contaminación, en % de las 54 submuestras analizadas.

	Gama de la concentración total de aflatoxinas*, $\mu\text{g}/\text{kg}$						
	≤ 5	$> 5 \leq 10$	$> 10 \leq 15$	$> 15 \leq 20$	$> 20 \leq 30$	$> 30 \leq 50$	> 50
Todas las nueces	1,9	11,1	27,8	24,1	25,9	5,6	3,7
Solamente nueces buenas	90,4	3,8	3,8	0,0	0,0	1,9	0,0

*LOD = 0,11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (MAPA, 2008)

45. El Cuadro 3 muestra la masa de la nuez (kg) y el contenido total de aflatoxinas obtenido en las 54 submuestras analizadas, según el modelo descrito en el párrafo 43. Pese a que la masa total (%) de los granos de nueces buenas pesaba casi el doble que las cáscaras, los niveles del contenido total de aflatoxinas en la cáscara de las nueces buenas eran 3 veces superiores a los que se encontraron en los granos de las nueces buenas. Las nueces podridas representaban alrededor del 6 % de toda la masa de nuez analizada, pero contribuían a casi el 85 % de la masa del contenido total de aflatoxinas (μg). La concentración del contenido total de aflatoxinas en las nueces podridas (268,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$) era 93 veces mayor que la encontrada en las nueces buenas (2,89 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Mientras en las nueces buenas las aflatoxinas se concentraban más en las cáscaras, las cáscaras de las nueces podridas contribuían más al contenido total de aflatoxinas detectado en las nueces podridas. Todos los defectos, que comprendían las nueces podridas y todas las cáscaras (el 38,5 %), contribuían alrededor del 94 % a la masa del contenido total de aflatoxinas. Resultados similares fueron señalados por Whitaker et al. (1998) que detectaron que una masa pequeña de defectos (el 18%) contribuía al 93% de la masa de aflatoxinas en el cacahuete (maní).

Cuadro 3. Masa de muestra (kg), masa de aflatoxinas (μg), y concentración de aflatoxinas ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en todas las muestras de 12 lotes de nueces del Brasil por categoría.

Categoría	Masa (kg)	Masa (% del total)	Masa AFT* (μg)	Masa AFT ¹ (% del total)	Concentración AFT ¹ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Nueces buenas (grano y cáscara)	1 373,16	94,44	3 965,01	15,44	2,89
Granos buenos	893,56	61,46	1 507,09	5,87	1,69
Cáscaras de nueces buenas ²	479,6	32,99	2 457,92	9,57	5,04
Nueces podridas (grano y cáscara)	80,84	5,56	21 723,29	84,56	268,72
Granos podridos	38,83	2,67	13 653,32	53,15	351,62
Cáscaras de granos podridos	42,01	2,89	8 069,96	31,41	192,10
Todos los defectos (granos podridos y todas las cáscaras)	579,96	38,54	24 181,21	94,13	43,15
Todas las categorías	1 454,00	100,00	25 688,30	100,00	17,67

¹ muestras que contienen niveles del contenido total de aflatoxinas inferiores al LOD (0,11 $\mu\text{g}/\text{kg}$) se consideraron que estaban en 0 $\mu\text{g}/\text{kg}$; ² suma de lo que se detectó en las cáscaras con y sin residuos en el grano (figura 2); para la concentración del total de aflatoxinas, se tomó la mediana.

46. Los datos presentados en el Cuadro 3 muestran claramente que las aflatoxinas están distribuidas en todas las partes de la nuez, no solamente en el grano (la parte comestible de la nuez del Brasil) o las nueces

podridas. Sin embargo, la categoría de las nueces podridas era la que tenía la contribución más elevada a la contaminación general del contenido total de aflatoxinas.

47. En el proyecto CONFORCAST se investigó también la posibilidad de emplear la masa de aflatoxinas y la concentración de aflatoxinas en los defectos (cáscaras y grano podridos) para predecir la concentración de aflatoxinas en las nueces del Brasil con cáscara de un lote sometidas a muestreo. Las mejores correlaciones se detectaron entre la concentración de aflatoxinas en las nueces del Brasil con cáscara y la masa de aflatoxinas en las nueces podridas ($R^2=0,93$; ecuación de regresión: $C=0,0337M + 3,5687$). La correlación con la concentración total de aflatoxinas y la masa detectada en todos los defectos también fue elevada ($R^2=0,74$ y $0,73$, respectivamente) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Correlación de una regresión lineal entre la concentración del contenido total de aflatoxinas en una muestra de nueces del Brasil con cáscara en un lote ($\mu\text{g}/\text{kg}$) y varios parámetros

Parámetro	R ²	Parámetro	R ²
Masa de aflatoxinas, nueces podridas (μg)	0,93	Concentración de aflatoxinas, granos podridos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0,50
Concentración de aflatoxinas, todos los defectos ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0,74	Masa de nuez podrida (% de la masa total)	0,34
Masa de aflatoxinas, todos los defectos (μg)	0,73	Masa de granos podridos (% de la masa total)	0,33
Masa de aflatoxinas, granos podridos (μg)	0,64	Masa de todos los defectos (% de la masa total)	0,09
Concentración de aflatoxinas, nueces podridas ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0,63	Masa de nuez podrida (% de la masa total)*	0,084

*correlación con concentración de aflatoxinas en nueces buenas ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

48. En muchos países, cuando entra en el mercado un lote de nueces del Brasil con cáscara, las nueces se analizan como tales, sin ningún tipo de procesado. Los resultados del proyecto CONFORCAST muestran que los niveles detectados en las nueces con cáscara no pueden utilizarse para apreciar la exposición del hombre a las aflatoxinas por el consumo de nueces del Brasil, puesto que las cáscaras y las nueces podridas, que no se consumen, pueden estar muy contaminadas.

49. Un enfoque para calcular el nivel de una sustancia, como un contaminante, presente en la porción comestible del alimento (pertinente para la evaluación de la exposición) de resultados obtenidos de alimentos no procesados (que contienen la porción no comestible) es calcular el factor de procesado (FP). Cuando se dispone de un conjunto de datos, el FP se puede calcular dividiendo la concentración del contaminante detectado en el alimento procesado por el nivel detectado en el alimento no procesado (denominado también producto sin elaborar) (CX/PR/07/39/8; [ftp.fao.org/codex/ccpr39/pr39_08e.pdf](ftp://ftp.fao.org/codex/ccpr39/pr39_08e.pdf)). En el caso de las nueces del Brasil, los procedimientos de procesado de interés son el pelado y la clasificación. Para un sólo procedimiento de procesado/alimento/contaminante, los FP pueden variar ampliamente, y la recomendación es utilizar el mejor valor calculado de los datos disponibles (CX/PR/07/39/8). Esta variabilidad es especialmente cierta en el caso de las aflatoxinas en las nueces del Brasil, puesto que las condiciones medioambientales desde la cosecha al mercado pueden influir en los niveles de contaminación por hongos y de aflatoxinas en la nuez y en la cáscara.

50. Pese a que el proyecto CONFORCAST no se diseñó con este propósito, el FP medio para las nueces del Brasil se puede calcular utilizando los datos presentados en el Cuadro 3. Se examinaron dos casos hipotéticos. El primero guardaba relación con un lote de nueces del Brasil con cáscara que se comercializarían como listas para el consumo (nueces buenas); en este caso, el factor de procesado calculado para el pelado (FP_{LPC}) fue 0,6 (1,69/2,89). El segundo caso hipotético guardaba relación con un lote de nueces del Brasil con cáscara que se comercializaría como destinadas a ulterior elaboración (DUE – comprende nueces buenas y podridas); en este caso se puede efectuar clasificación visual después del pelado y el factor de procesado calculado (FP_{DUE}) fue 0,1 (1,69/17,69). Estos factores de procesado pueden emplearse para evaluar la seguridad de los niveles normativos de aflatoxinas en las nueces del Brasil con

cáscara en la ingestión alimentaria de aflatoxinas del consumo de nueces peladas.

51. El concepto de objetivo de inocuidad de los alimentos (FSO) del Codex Alimentarius es la frecuencia máxima o concentración de un peligro en un alimento en el momento de consumo que proporciona o contribuye al nivel de protección apropiado (ALOP). Este concepto respalda el enfoque del FP para calcular la concentración de aflatoxinas en las nueces del Brasil en el momento de consumo. Por tanto, el consumidor puede alcanzar el ALOP al pelar y clasificar las nueces del Brasil.

52. Se ha reconocido que el FP_{DUE} calculado refleja la situación detectada dentro del proyecto CONFORCAST, en que los lotes de nueces del Brasil DUE contenían alrededor del 6 % de nueces podridas en masa. En lotes con un porcentaje más alto o más bajo de nueces podridas, el FP_{DUE} será más alto o más bajo, respectivamente.

PRÁCTICA PARA LA PREVENCIÓN Y REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS EN LAS NUECES DEL BRASIL

53. En el proyecto SafeNut¹ de STDF² se terminó recientemente una validación de buenas prácticas, con respecto a los factores que provocan la contaminación por aflatoxinas en la cadena de producción de nueces del Brasil y los métodos de control disponibles. Los resultados de este proyecto señalan claramente una necesidad de actualizar el código de prácticas actual para la prevención y reducción de la contaminación por aflatoxinas en las nueces del Brasil (CAC/RCP 59 -2005, REV.1-2006). El informe final de SafeNut de STDF estará disponible a principios de 2009, pero a este documento se adjunta una propuesta de revisiones (Anexo 1).

INGESTIÓN ALIMENTARIA

54. Los productos con mayor contaminación de aflatoxinas son los cereales (principalmente el maíz), el cacahuete (maní), las semillas oleaginosas, las nueces de árbol, los frutos secos, las especias y la copra. La principal fuente de exposición alimentaria a las aflatoxinas es a través del maíz, el cacahuete (maní) y sus productos que son una parte esencial de la alimentación en algunos países (CAC, 2005b).

55. En su 49ª reunión, el JECFA evaluó el posible impacto de dos cantidades hipotéticas para la contaminación de aflatoxinas en el cacahuete (maní) (10 µg/kg ó 20 µg/kg de aflatoxinas B1) en poblaciones utilizadas como muestra y su riesgo general. Se concluyó que reduciendo el nivel máximo (NM) permitido del contenido total de aflatoxinas en el cacahuete (maní) de 20 µg/kg de aflatoxinas B1 a 10 µg/kg de aflatoxinas B1 no se obtendría ninguna diferencia observable en los porcentajes de cáncer de hígado (FAO/OMS, 1998).

56. Se calculó que la ingestión alimentaria de aflatoxinas por la población de Suecia era de 0,6 ng/kg y 0,7 ng/kg de peso corporal, para los consumidores de cantidades medias y altas (percentil 95°), respectivamente (Thuvander, 2001). El consumo de nueces del Brasil calculado es de 0,3 g por día, tanto para los consumidores de cantidades medias como para los del percentil 95°. No se informó de los pesos corporales de las dos poblaciones. En otro estudio realizado en Suecia, suponiendo un consumidor de 70 kg de peso corporal y un consumo de nueces del Brasil de 0,3 kg durante Navidades, la ingestión media de aflatoxinas era de 0,73 ng/kg de peso corporal y el percentil 95° de 110 ng/kg de peso corporal. Repartiendo el consumo durante todo un año, las cifras serían 0,002 ng/kg y 0,3 ng/kg de peso corporal (Marklinder et al., 2005).

57. En su 68ª reunión, el JECFA evaluó el impacto para la salud humana de la exposición alimentaria a las aflatoxinas a través del consumo de las partes comestibles de nueces de árbol (listas para el consumo) y de higos secos (FAO/OMS, 2008). Utilizando los 13 grupos de dietas de consumo de SIMUVIMA/Alimentos (OMS, 2006) y suponiendo un peso corporal de 60 kg, el Comité evaluó el impacto en la exposición alimentaria a las aflatoxinas de establecer niveles máximos hipotéticos de 4 µg/kg, 8 µg/kg, 10 µg/kg, 15µg/kg ó 20 µg/kg para el contenido total de aflatoxinas en las almendras, las nueces del Brasil, las avellanas, los pistachos y los higos secos.

¹ El Standards and Trade Development Facility (STDF) es un programa global de capacitación y cooperación técnica establecido por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE), el Banco Mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Mundial del Comercio (OMC).

² <http://stfd-safenutproject.com/>. (proyecto 114 de STDF)

58. Según los datos de SIMUVIMA/Alimentos, el consumo de nueces del Brasil es distinto a cero únicamente en los grupos de dietas E, K y M (0,1 g por persona al día), que comprenden a países europeos, latinoamericanos y norteamericanos, respectivamente. El consumo de otras nueces es mucho más elevado, y puede ser de alrededor de 2 g por persona al día de avellanas o almendras en el grupo B, que comprende a los países mediterráneos. Datos de INC indican que el consumo medio de nueces del Brasil de los países de mayor consumo es de 0,082 g por persona al día, que corresponde al 2,2 % de las cuatro nueces de árbol juntas.

59. El JECFA decidió basar la evaluación en información proporcionada por países productores, señalando que dicha información representa mejor los productos en el comercio y se obtiene una estimación sensata de la exposición alimentaria al contenido total de aflatoxinas a través de las nueces de árbol. El Comité señaló que la mayoría de la información utilizada en la estimación de la exposición al contenido total de aflatoxinas de alimentos diferentes a las nueces de árbol y los higos secos procedía de la Unión Europea y que dicha información no reflejaba los valores medios reales en otras regiones del mundo. Probablemente esto da lugar a una estimación más baja de la exposición alimentaria al contenido total de aflatoxinas y una estimación más elevada de la contribución relativa de la exposición alimentaria al contenido total de aflatoxinas a través de nueces de árbol.

60. En el peor de los casos, cuando no se utiliza ningún nivel máximo, la ingestión del contenido total de aflatoxinas por el consumo de nueces de árbol e higos secos fue de más del 5% de la exposición alimentaria al contenido total de aflatoxinas solamente para los grupos de dietas B, C, D, E y M de SIMUVIMA/Alimentos (24,6 %, 20 %, 45 %, 16,8 % y 9,3 %, respectivamente).

61. Si en las almendras, las nueces del Brasil, las avellanas, los pistachos y los higos secos se aplicara realmente un NM de 20 µg/kg tendría un impacto en la contribución relativa a la exposición alimentaria del contenido total de aflatoxinas en esos grupos solamente, incluidos los consumidores de grandes cantidades de nueces de árbol. Esto se debe únicamente al elevado contenido del total de aflatoxinas en los pistachos. Para las nueces de árbol distintas a los pistachos, la presencia de un nivel máximo no tiene efecto sobre la exposición al contenido total de aflatoxinas a través de la alimentación.

62. El JECFA calculó que un NM aplicado de 20 µg/kg, 15 µg/kg, 10 µg/kg, 8 µg/kg ó 4 µg/kg da lugar a exposiciones al contenido total de aflatoxinas a través de la alimentación que oscilan entre 0,12 ng/kg, 0,10 ng/kg, 0,08 ng/kg, 0,07 ng/kg y 0,06 ng/kg de peso corporal por día en el grupo de exposición más alta (D) y 0,03 ng/kg, 0,02 ng/kg, 0,02 ng/kg, 0,02 ng/kg y 0,01 ng/kg de peso corporal por día en el grupo con la exposición más baja (M).

63. El JECFA señaló que las estimaciones para los grupos europeos B, E y F, con NM de 4 µg/kg a 20 µg/kg para las nueces de árbol eran del alcance de las comunicadas en el dictamen de EFSA con NM de 4 µg/kg a 10 µg/kg para las nueces de árbol, incluidos los consumidores de grandes cantidades.

64. El JECFA concluyó que aplicar un NM de 15 µg/kg, 10 µg/kg, 8 µg/kg ó 4 µg/kg tendría poco impacto sobre la exposición general al contenido total de aflatoxinas a través de la alimentación en los cinco grupos de población con exposición más elevada, en comparación con establecer un NM de 20 µg/kg. Cuando se evaluó el impacto de la aplicación teórica completa del NM para el contenido total de aflatoxinas, la proporción de muestras rechazadas por establecer un NM de 20 µg/kg para las nueces del Brasil era del 11 %. Este valor se incrementó al 17 % para un NM de 4 µg/kg.

65. Al Grupo científico sobre contaminantes en la cadena de alimentos (CONTAM) de la Autoridad Europea para la Seguridad Alimentaria se le pidió que aconsejara sobre el posible incremento de los riesgos para la salud de los consumidores asociado con un incremento en los niveles máximos vigentes en la UE para las almendras, los pistachos y avellanas, teniendo en cuenta los modelos de consumo de estas nueces en la UE. En su dictamen N° EFSA-Q-2006-174 el Grupo concluyó que el cambio de los niveles máximos para el contenido total de aflatoxinas de 4 µg/kg a 8 µg/kg ó 10 µg/kg del contenido total de aflatoxinas tendría efectos menores sobre las estimaciones de la exposición a través de los alimentos y el riesgo de cáncer.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES:

66. El presente documento sobre las aflatoxinas en las nueces del Brasil lleva a las siguientes conclusiones y recomendaciones, para que se examinen en la 3ª reunión del CCCF:

I) La producción de nueces del Brasil representa una importante actividad económica para la población amazónica, contribuyendo a la conservación de la selva tropical.

II) El consumo de nueces del Brasil en el mundo es más bajo que el de otras nueces de árbol. A diferencia de las otras nueces de árbol, la característica extractivista de las nueces del Brasil limita un alto incremento del consumo, incluso si se produce un aumento de la demanda en el mercado.

III) En su última reunión, el JECFA concluyó que la aplicación de un NM de 15 µg/kg, 10 µg/kg, 8 µg/kg ó 4 µg/kg tendría poco impacto en la exposición general al contenido total de aflatoxinas a través del consumo de almendras, nueces del Brasil, avellanas y pistachos en los cinco grupos de la población con exposición más elevada en comparación con establecer un NM de 20 µg/kg. Además, para las nueces de árbol distintas a los pistachos, la presencia de un NM no tiene ningún efecto sobre la exposición al contenido total de aflatoxinas a través de la alimentación.

IV) Los niveles de aflatoxinas en nueces del Brasil sin cáscara buenas (comestibles) en lotes destinados a la exportación de plantas brasileñas como listas para el consumo son normalmente muy bajos, y generalmente varían desde 0,39 µg/kg hasta 10 µg/kg.

V) En muchos países importadores, las nueces del Brasil con cáscara se analizan como tal en el punto de entrada sin ninguna clasificación para separar las nueces buenas de las podridas. Resultados del proyecto CONFORCAST han demostrado que los niveles del contenido total de aflatoxinas en las nueces del Brasil con cáscara sin clasificar listas para exportar (que podrían clasificarse como destinadas a ulterior elaboración) eran superiores a 50 µg/kg en el 3,7 % de los lotes. Este lote debería someterse a un tratamiento/procesado, como pelado y/o clasificación para reducir los niveles de aflatoxinas, antes de comercializarlo al consumidor final.

VI. El proyecto CONFORCAST ha demostrado que los niveles del contenido total de aflatoxinas detectados en nueces buenas con cáscara eran en su mayoría inferiores a 5 µg/kg. No obstante, cabe señalar que en el proyecto, las nueces buenas se seleccionaron tras inspeccionar la nuez entera después de eliminar la cáscara, que es un procedimiento que no es una práctica rutinaria en un laboratorio.

VII. Las nueces del Brasil buenas con cáscara pueden separarse de las nueces podridas en la muestra analítica por inspección visual en el laboratorio cortando la nuez por la mitad a fin de calcular la contaminación del contenido total de aflatoxinas en el lote de nueces del Brasil. Este procedimiento es realizado de manera rutinaria por los exportadores al adquirir las nueces a los productores y cuando quieren clasificar un lote para exportarlo como listo para el consumo.

VIII. En base a datos de la presencia de aflatoxinas en las nueces del Brasil evaluados en este documento, incluidos los datos comunicados por el proyecto CONFORCAST, se recomienda utilizar los siguientes límites máximos (LM) del contenido total de aflatoxinas en los distintos productos de nueces del Brasil en el comercio internacional:

Producto de nuez del Brasil	LM AFT, µg/kg
Sin cáscara, lista para el consumo	15
Sin cáscara, destinada a ulterior elaboración	20
Con cáscara, lista para el consumo	20
Con cáscara, destinada a ulterior elaboración	50

IX) Los niveles de aflatoxinas en las nueces del Brasil podridas con cáscara son considerablemente más elevados que los detectados en las nueces con cáscara buenas, seleccionadas por clasificación visual tras el pelado u otro procedimiento disponible que ha demostrado que reduce los niveles de aflatoxinas. Adicionalmente, las cáscaras contribuyen de manera importante a la concentración de aflatoxinas en toda la nuez, incluso cuando la nuez ha sido clasificada visualmente como buena. Estudios han demostrado que los consumidores pueden separar visualmente los granos de la nuez del Brasil comestibles de los no comestibles (muy contaminados) tras el proceso de pelado y por tanto protegerse de la exposición a altos niveles de aflatoxinas.

X) Los factores de procesamiento calculados en este documento (párr. 50) (FP_{LPC} de 0,6 y FP_{DUE} de 0,1) pueden utilizarse para evaluar el impacto del LM recomendado para las nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo y destinadas a ulterior elaboración, en la ingestión de aflatoxinas a través de los alimentos. Utilizando estos factores, se puede calcular que a un LM de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, los consumidores serían expuestos a nueces que tienen niveles de 12 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectivamente.

XI) En casos en que el lote de DUE con cáscara tiene un % de nueces podridas inferior al 6% en masa (detectado en el proyecto CONFORCAST), el FP_{DUE} será superior, pero no es probable que a un LM de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, el consumidor sea expuesto a niveles no inocuos de aflatoxinas en las nueces del Brasil comestibles.

XII) Se ha reconocido que las nueces del Brasil están presentes en muchos productos, p. ej., en cereales para el desayuno, productos de aperitivo, barras de cereales y productos a base de nueces listos para el consumo, incluidas pastas. La exposición humana a las aflatoxinas de su contenido en las nueces del Brasil utilizadas para preparar estos productos es más baja que la exposición del consumo de nueces del Brasil en sí debido a factores de dilución. Está claro que los productos utilizados para preparar alimentos a base de nueces del Brasil deberían controlarse para garantizar la seguridad de los consumidores.

REFERENCIAS

1. AOAC International. Available in: <http://www.aoac.org/testkits/testedmethods.html>. Access at: February 2009.
2. AOAC Official methods 994.08. Aflatoxins in corn, almonds, brazil nuts, peanuts and pistachio nuts. AOAC – Official Methods of Analysis (2000), 17th Ed., Vol. II, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Chapter 49, 26-27.
3. Arrus, K.; Blank, G.; Abramson, D.; Clear, R.; Holley, R.A. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in Brazil nuts. *Journal of Stored Products Research*, 41: 513-527. 2005a.
4. Arrus, K.; Blank, G.; Clear, R.; Holley, R.A.; Abramson, D. Microbiological and aflatoxin evaluation of Brazil nut pods and the effects of unit processing operations. *Journal of Food Protection* 68, 1060-65, 2005b.
5. Bacaloni, A., Cavaliere, C., Cucci, F. Foglia, P. Samperi, R., Laganà, A., Determination of aflatoxins in hazelnuts by various sample preparation methods and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1179 182–189, 2008.
6. Bayman, P.; James, L.; Mahoney, N. E. *Aspergillus* on tree nuts: incidence and associations. *Mycopathologia*, 155:161-169. 2002.
7. BRAZIL. Ministry of Agriculture, Data on Brazil nuts. 2006 (unpublished data).
8. CAC - Codex Alimentarius Commission. 24th Session of Codex Commission. Alinorm 01/41, paragraph 138. 2001.
9. CAC - Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 37th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants CRD 17, Data on the occurrence of aflatoxins in Brazil nuts, in Brazil, from 1998-2004, 2005a.
10. CAC - Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 37th Session. Discussion Paper on aflatoxins in Brazil nuts. CX/FAC 05/37/24, December 2004, The Hague, the Netherlands, 25-29, April, 2005b.
11. CAC - Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 37th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, ALINORM 05/28/12, 2005c.
12. Cartaxo, C. B. C.; Souza, J. M. L.; Corrêa, T. B.; Costa, P.; Freitas-Silva, O. Occurrence of aflatoxin and filamentous fungi contamination in brazil-nuts left inside the forest. In: IV Congreso Latinoamericano de Micotoxicología. Anais eletrônicos. Havana, Centro Nacional de Sanidad Agropecuária, 2003.
13. CONFORCAST. Ferramentas Analíticas para Capacitação do Brasil na Garantia da Conformidade da Castanha-Do-Brasil (*Bertholletia Excelsa*) quanto ao Perigo aflatoxina. Projeto nº 1.265/05, Aprovado pela FINEP na Chamada Pública, “Ação Transversal - TIB - 06/2005 - Linha 1”. MAPA. Ministério da Agricultura, pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - DAS, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal – DIPOV. Coordenação-Geral de Apoio Laboratorial – CGAL, Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG, United States

- Department of Agriculture (Thomas Whitaker and Andy Slate).
14. EC. European Commission. European Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006. Methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 2006.
 15. EFSA, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission 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 N° EFSA-Q-2006-174. *The EFSA Journal* 446, 1 – 127. 2007
 16. FAO/WHO. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additive Series, No. 40, 1998.
 17. FAO/WHO. Safety evaluation of certain food additives and contaminants (Sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additives Series: 59, p.305. 2008. Available at http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241660594_eng.pdf. Accessed on January 2009.
 18. Food Standard Agency, 2004. Analysis of Aflatoxin B₁ and total aflatoxins in edible nuts and nut products. Summary available at: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/summarynuts.pdf>
 19. Frisvad, J. C., Thrane, U., Samson, R. A. and Pitt, J.I. (2006) Important mycotoxins and the fungi which produce them. In: Hocking. A. C., Pitt, J.I., Samson, R. A. and Thrane, U. (Eds) *Advances in Food Mycology*. Springer, New York, pp.3-31.
 20. Gilbert, J. and Vargas, E.A. *Advances in Sampling and Analysis for Aflatoxins in Food and Animal Feed. Toxin Reviews* (formerly *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*), 22(2&3): 381-422. 2003.
 21. INC. International Nut and Dried Fruit Council Foundation. Document prepared for the Electronic Working Group "Discussion Paper on Maximum Levels for Total Aflatoxins in Ready-to-eat Almonds, Hazelnuts and Pistachios" led by the European Community, 2007.
 22. Ioannou-Kakouri E, Aletrari M, [Christou E](#), Hadjioannou-Ralli A, Koliou A, Akkelidou D. Surveillance and Control of Aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂ and M₁ in Foodstuffs in the Republic of Cyprus: 1992-1996. *J. of AOAC International*, 82(4): 883 – 892. 1999.
 23. Ito, Y.; Peterson, S.; Wicklow, D.T.; Goto, T. *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section flav. *Mycological Research*, 105(2): 233-239. 2001.
 24. Johnsson, P, Lindbland, M., Thim, A.M., Jonsson, N., Vargas, E.A., Medeiros, N.L., Brabet, C., Quaresma de Araújo, M., and Olsen, M. Growth of aflatoxigenic moulds and Aflatoxin formation in Brazil nuts. *World Mycotoxin Journal*, 1(2):127-137, 2008.
 25. Marklinder, I.; Lindblad, M.; Gidlund, A.; Olsen, M. Consumers' ability to discriminate aflatoxincontaminated Brazil nuts. *Food Add. Cont.* 22 (1): 56-64. 2005.
 26. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária, Abastecimento. LACQSA/LANAGRO-MG. POP 055, Determinação de aflatoxinas por cromatografia liquida de alta eficiencia e em camada delgada, revisão 02, 25 de fevereiro de 2008.
 27. Mello F. R. and Scussel V. M. 2007. Characteristic of in-shell Brazil nuts and their relationship to aflatoxin contamination: criteria for sorting. *J. of Agric. and Food Chemistry*, October, 9305-9310.
 28. Olsen M, Johnsson P, Möller T, Paladino R and Lindblad M. *Aspergillus nomius*, an important aflatoxin producer in Brazil nuts? *World Mycotoxin Journal* 1 (2), 123-126, 2008
 29. Ozay, G., Seyhan, F., Yilmaz, A., Whitaker, T. B., Slate, A. B., Giesbrecht, F. G. Sampling Hazelnuts for Aflatoxin: Effect of Sample Size and Accept/Reject Limit on Reducing the Risk of Misclassifying Lots: *Food Chemical Contaminants Journal of AOAC International*, 90, 1028-1035, 2007
 30. Ozay, G., Seyhan, F., Yilmaz, A., Whitaker, T. B., Slate, A. B., Giesbrecht, F. G. Sampling Hazelnuts for Aflatoxin: Uncertainty Associated with Sampling, Sample Preparation, and Analysis : Food chemical contaminants - *Journal of AOAC international* vol. 89 No. 4, 2006.
 31. Pacheco A., Robert F.; Scussel V. Detecção de aflatoxinas em castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) na safra de 2005. *Analytica*, 22: 64-65. 2006.
 32. Pacheco A; Scussel V. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the Amazon basin. *J. Agric. Food Chem.* 55:11087-92, 2007.
 33. Pacheco, A.M.; Scussel. V.M. Aflatoxins Evaluation on *In-shell* and *Shelled* Dry Brazil Nuts for Export Analyzed by LC MS/MS - 2006 and 2007 Harvests. *World Mycotoxin Journal. In press.* 2009.
 34. Pohland A. E. Mycotoxins in review. *Food Add. Cont.*, 10: 17-28. 1993.

35. Salunkhe D. K.; Adsule R. N.; Padule D. N. Aflatoxins in foods and feeds, Metropolitan, Book Co.Pvt. Ltd., New Delhi, India, p. 18. 1987.
36. Sobolev VS. Simple, rapid, and inexpensive cleanup method for quantitation of aflatoxins in important agricultural products by HPLC. *J Agric Food Chem.* 55:2136-41, 2007
37. Souza, J. M. L.; Cartaxo, C. B. C.; Leite, F. M. N.; Reis, F. S. Avaliação microbiológica de castanha do brasil em usinas de beneficiamento no Acre. In: XLIX Reunião Anual da Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical. Anais. Fortaleza, p. 201 (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 67). 2003.
38. Spanjer M, C., Rensen, P., M.; Scholten, J.M., LC-MS/MS multi-method for mycotoxins after single extraction, with validation data for peanut, pistachio, wheat, maize cornflakes, raisins and figs. *Food additives and contaminants*, 25(4): 472-489, April 2008.
39. Stroka, J., Anklam, E., Jorissen, U., Gilbert, J. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste and paprika powder: collaborative study. *J. AOAC*, 83, 2, 320-340, 2000.
40. Thuvander, A.; Möller, T.; Enghardt Barbieri, H.; Jansson, A.; Salomonsson, A.-C.; Olsen, M. Dietary intake of some important mycotoxins by the Swedish population. *Food Add. Cont.* 18 (8): 696-706. 2001.
41. Wadt., L. H. O.; Kainer, K. A.; Gomes-Silva, D. A. P. Population structure and nut yield of a *Bertholetia excelsa* stand in southwestern Amazonia. *Forest Ecology and Management.* 211: 371-384. 2005.
42. Whitaker, T.B., Slate, A.B., Giesbrecht, F. G Sampling Almonds for Aflatoxin, Part II: Estimating Risks Associated with Various Sampling Plan Designs: Food chemical contaminants - *Journal of AOAC International* vol. 90, 3, 2007.
43. WHO – World Health Organization. GEMS/Food Custers Diet (Global Environment Monitoring System/ Food Contamination Monitoring and Assessment Program). 2006. Available at <http://www.who.int/foodsafety/chem/gems/en/index1.htm>.

ANEXO I

PLAN DE MUESTREO PARA EL CONTENIDO TOTAL DE AFLATOXINAS EN LAS NUECES DEL BRASIL

Este Anexo formará parte de los PLANES DE MUESTREO PARA LA CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS EN NUECES DE ÁRBOL LISTAS PARA EL CONSUMO Y NUECES DE ÁRBOL DESTINADAS A ULTERIOR ELABORACIÓN: ALMENDRAS, AVELLANAS Y PISTACHOS (CODEX STAN 193-1995, Lista I, Anexo 2), aprobados en la 2ª reunión del CCCF y adoptados por la Comisión del Codex Alimentarius en su 31º período de sesiones. Los aspectos relacionados con las nueces del Brasil distintos de las otras nueces estarán contemplados en este Anexo.

CONSIDERACIONES SOBRE LA ESTRUCTURA DEL PLAN DE MUESTREO

Las nueces del Brasil se pueden comercializar como "nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo", "nueces del Brasil sin cáscara destinadas a ulterior elaboración", "nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo" y "nueces del Brasil con cáscara destinadas a ulterior elaboración", de acuerdo a la definición que figura abajo. En consecuencia, los niveles máximos y los planes de muestreo se proponen para todos los tipos comerciales de nueces del Brasil.

Nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo: son las nueces sin cáscara (sólo el grano) aptas para comercialización directa al consumidor final.

Nueces del Brasil sin cáscara destinadas a ulterior elaboración: son las nueces sin cáscara (sólo el grano) que se van a someter a un procedimiento de selección para reducir los niveles de aflatoxinas antes de comercializarse al consumidor final.

Nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo: son las nueces con cáscara aptas para comercialización directa al consumidor final.

Nueces del Brasil con cáscara destinadas a ulterior elaboración: son las nueces con cáscara que se van a someter a un procedimiento de clasificación y/o eliminación de la cáscara para reducir los niveles de aflatoxinas antes de comercializarse al consumidor final.

Los lotes de nueces del Brasil con cáscara siempre contienen nueces podridas debido a la extracción característica de las nueces en el bosque. Los cuadros 1 y 2 (Anexo IV) muestran que los lotes de nueces del Brasil con cáscara listas para comercializarse, de los que se tomaron muestras en el Proyecto CONFORCAST, contenían, en promedio, un 6% de nueces podridas. El resultado de este proyecto indica que la separación de las nueces podridas de la muestra agregada (muestra analítica) antes del análisis podía ofrecer una estimación de la contaminación por AFT presente sólo en las nueces buenas. A partir de los resultados del Proyecto CONFORCAST (cuadros 1 y 2), se propone la eliminación del 5% de las nueces podridas de la muestra de los lotes de nueces con cáscara listas para el consumo, antes de analizarlas, de conformidad con los siguientes procedimientos.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS Y NIVELES MÁXIMOS PARA LAS AFLATOXINAS

Nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo

Nivel máximo: 20 ng/g total de aflatoxinas

Número de muestras de laboratorio: 1

Tamaño de la muestra de laboratorio: 20 kg

Preparación de las muestras: molino tipo turrax, porción analítica de 100 g (papilla: 50 g de granos: 50 g de agua)

Regla para las decisiones: Si el resultado del análisis de aflatoxinas es inferior o igual a 20 ng/g del total de aflatoxinas, se acepta el lote. De otra forma, se rechaza el lote

La curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestreo para las nueces del Brasil sin cáscara destinadas a ulterior elaboración se presenta en el Anexo III.

Nueces del Brasil con cáscara destinadas a ulterior elaboración

Nivel máximo: 50 ng/g total de aflatoxinas

Número de muestras de laboratorio: 1

Tamaño de la muestra de laboratorio: 20 kg

Preparación de las muestras: molino tipo turrax, porción analítica de 100 g (papilla: 50 g de nueces: 50 g de agua). En el caso de las "nueces del Brasil con cáscara" destinadas a ulterior elaboración, la porción analítica puede ser la nuez entera, ya que algunas veces no es factible la eliminación de la parte que no es comestible (la cáscara).

Regla para las decisiones: Si el resultado del análisis de aflatoxinas es inferior o igual a 50 ng/g del total de aflatoxinas, se acepta el lote. De otra forma, se rechaza el lote

La curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestreo para las nueces del Brasil con cáscara destinadas a ulterior elaboración se presenta en el Anexo III.

Nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo:

Nivel máximo: 15 ng/g total de aflatoxinas

Número de muestras de laboratorio: 2

Tamaño de la muestra de laboratorio: 10 kg

Preparación de las muestras: molino tipo turrax, porción analítica de 100 g (papilla: 50 g de granos: 50 g de agua).

Regla para las decisiones: Si el resultado del análisis de aflatoxinas es inferior o igual a 15 ng/g del total de aflatoxinas en las dos muestras de análisis, se acepta el lote. De otra forma, se rechaza el lote

La curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestreo para las nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo se presenta en el Anexo III.

Nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo:

Nivel máximo: 20 ng/g total de aflatoxinas

Número de muestras de laboratorio: 2

Tamaño de la muestra de laboratorio: 10 kg

Preparación de las muestras: se cortan las nueces a la mitad, se separan hasta un 5% de las nueces podridas, se analizan las nueces buenas (granos y cáscaras), molino tipo turrax, porción analítica de 100 g (papilla: 50 g de nueces; 50 g de agua). Las nueces podridas se deben separar hasta un 5% (% muestra masa-kg) de la muestra analítica (2x10 kg) mediante inspección visual en la etapa del laboratorio cortando las nueces a la mitad para calcular la contaminación del lote por aflatoxinas. Cuando la muestra presenta más del 5% de nueces podridas se deberá preparar sin separar nueces.

Regla para las decisiones: Si el resultado del análisis de aflatoxinas es inferior o igual a 20 ng/g del total de aflatoxinas, se acepta el lote. De otra forma, se rechaza el lote

La curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestreo para las nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo se presenta en el Anexo III.

OBS: El Proyecto CONFORCAST indicó que los niveles de aflatoxinas observados en las nueces buenas con cáscara fue en su mayor parte inferior a 5µg/kg.

Anexo II

Curvas características de operación que describen el funcionamiento de los proyectos de planes de muestreo para las aflatoxinas en las nueces del Brasil

Para cada lote, se comparó la distribución observada de los resultados de las aflatoxinas (total de aflatoxinas) en las 40 muestras de nueces del Brasil sin cáscara con tres distribuciones teóricas asimétricas positivas: binomial negativa, distribución gamma y las distribuciones teóricas lognormales. Se usó el método divergente de la potencia para medir la bondad de ajuste entre las distribuciones observadas y las teóricas. Se escogió el binomio negativo para simular la distribución entre los resultados del análisis de las muestras para una determinada concentración de los lotes y diseño de las muestras. El binomio negativo también se seleccionó para simular la distribución entre los resultados del análisis de las muestras para las almendras, las avellanas y los pistachos.

Un trazo de las probabilidades de aceptación frente a la concentración del lote se denomina curva característica de operación (CO). La forma de la curva CO se define únicamente por la estructura del plan de muestreo. El plan de muestreo se define por un límite de aceptación/rechazo y el procedimiento de análisis de las aflatoxinas. El procedimiento de análisis de las aflatoxinas se define por el número y el tamaño de las muestras, el método de preparación de las muestras (tipo de molino y tamaño de la porción analítica) y el procedimiento analítico. La curva CO se utiliza para predecir los lotes buenos rechazados (riesgo del vendedor o riesgo del exportador) y los lotes malos aceptados (riesgo del comprador o del importador).

Nueces del Brasil sin cáscara

En el Cuadro 1 se presenta la estimación de las varianzas asociadas a cada paso del plan de muestreo para las nueces del Brasil sin cáscara.

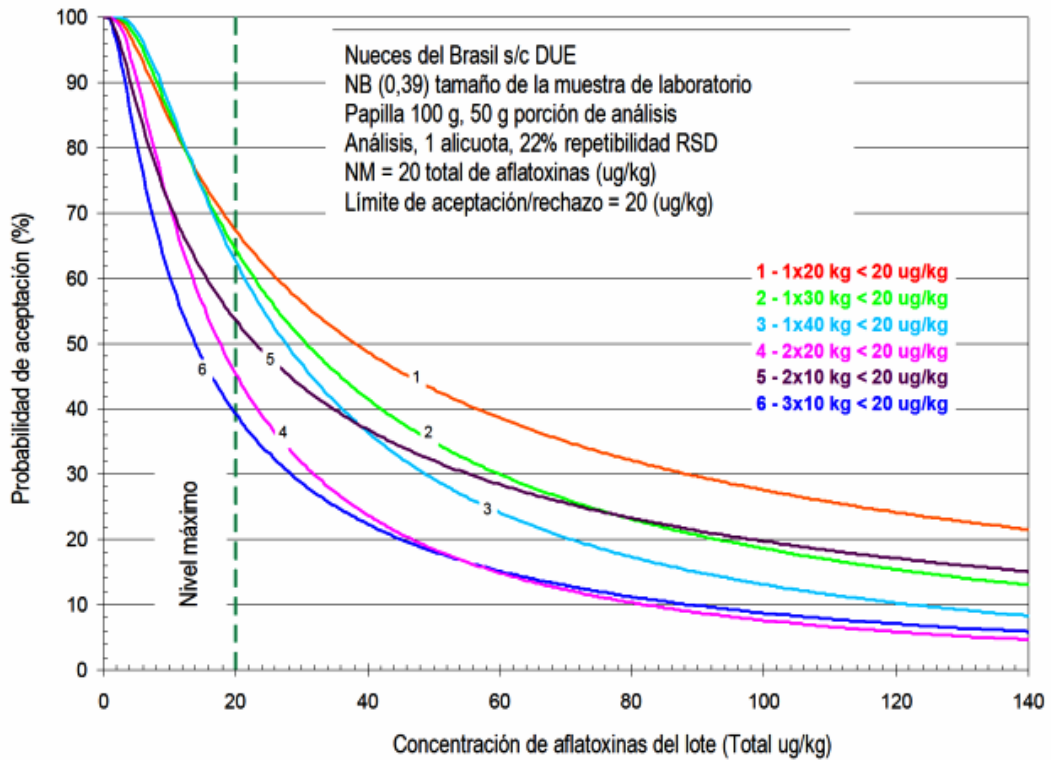
Cuadro 1. Varianzas en los pasos del plan de muestreo para las nueces del Brasil sin cáscara

Datos usados para el análisis de la varianza	Varianza del muestreo	Varianza de la preparación de las muestras	Varianza del análisis	Total de las varianzas
Nuez del Brasil s/cáscara - Del estudio I de NB s/c cáscara - Total de aflatoxinas, omitidos los lotes <0,39 ug/kg - Sólo granos - Muestra de 15 lotes, 10 kg, 185 granos/kg	$s_m^2 = 4,8616C^{1,689}$ R = 0,80	$s_{ms}^2 = 0,0306C^{0,632}$ R = 0,24	experimental $s_a^2 = 0,0164C^{1,117}$ FAPAS $s_a^2 = 0,0484C^{2,0}$ R = 0,43	$s_t^2 = 5,464C^{1,850}$ R = 0,73

Nueces del Brasil sin cáscara destinadas a ulterior elaboración

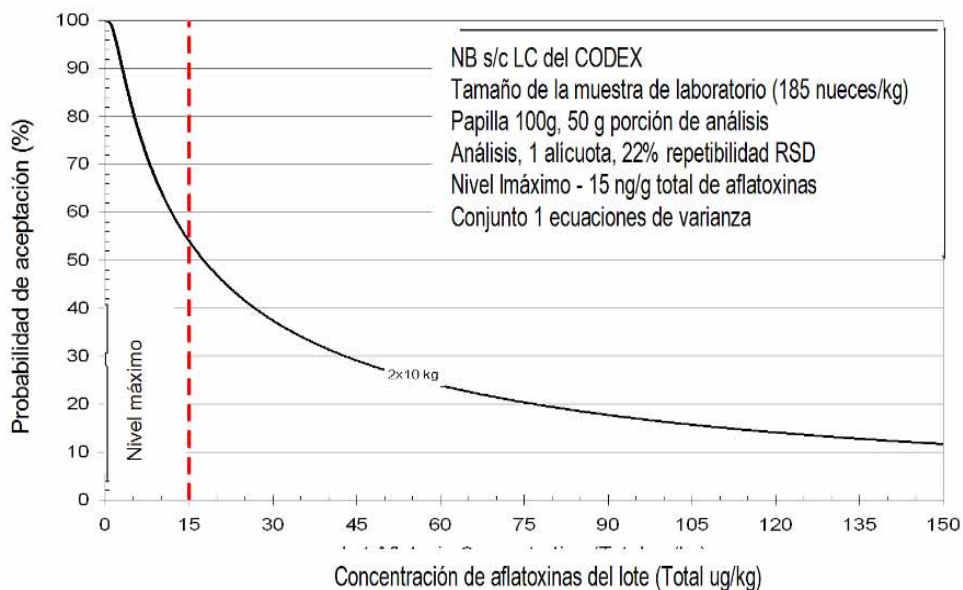
En el Gráfico 1 se presenta la curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestreo para las aflatoxinas en las nueces del Brasil sin cáscara destinadas a ulterior elaboración, utilizando una sola muestra de laboratorio de 20 kg y un nivel máximo de 20 ng/kg para el total de aflatoxinas. Las curvas características de operación reflejan la incertidumbre asociada a una muestra de laboratorio de 20 kg de nueces sin cáscara, molino tipo turrax, porción analítica de 100 g (papilla: 50 g de grano: 50 g de agua), y cuantificación de las aflatoxinas en la porción analítica mediante HPLC - FL con derivatización post-columna con Kobra Cell.

Gráfico 1. Curvas de operación de nueces del Brasil sin cáscara destinadas a ulterior elaboración (DUE) con un límite máximo de 20 µg/kg



En el Gráfico 2 se presenta la curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestreo de las aflatoxinas para las nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo, con dos muestras de laboratorio de 10 kg cada una y un nivel máximo de 15 ng/g para el total de aflatoxinas, molino tipo turrax, porción analítica de 100 g (papilla: 50 g de grano: 50 g de agua), y cuantificación de las aflatoxinas en la porción analítica mediante HPLC - FL con derivatización post-columna con Kobra Cell.

Gráfico 2 - Curva de operación de las nueces del Brasil sin cáscara listas para el consumo (LC) con un límite máximo de 15 µg/kg



Nueces del Brasil con cáscara

En el Cuadro 2 se expone la estimación de las varianzas asociadas a cada paso del plan de muestreo para las nueces del Brasil con cáscara.

Cuadro 2. Varianzas en los pasos del plan de muestreo para las nueces del Brasil con cáscara

Datos usados para el análisis de la varianza	Varianza del muestreo	Varianza de la preparación de las muestras	Varianza del análisis	Total de las varianzas
Nuez del Brasil c/cáscara - del estudio II con cáscara (conjunto 5) - Total de aflatoxinas - Muestra de 10 kg, 97 nueces/kg	$s_s^2 = 5,885C^{1,092}$ * calculado del total	$s_{ss}^2 = 0,0306C^{0,632}$ R = 0,24	experimental $s_a^2 = 0,0164C^{1,117}$ FAPAS $s_a^2 = 0,0484C^{2,0}$ R = 0,43	$s_t^2 = 5,922C^{1,090}$ R = 0,90

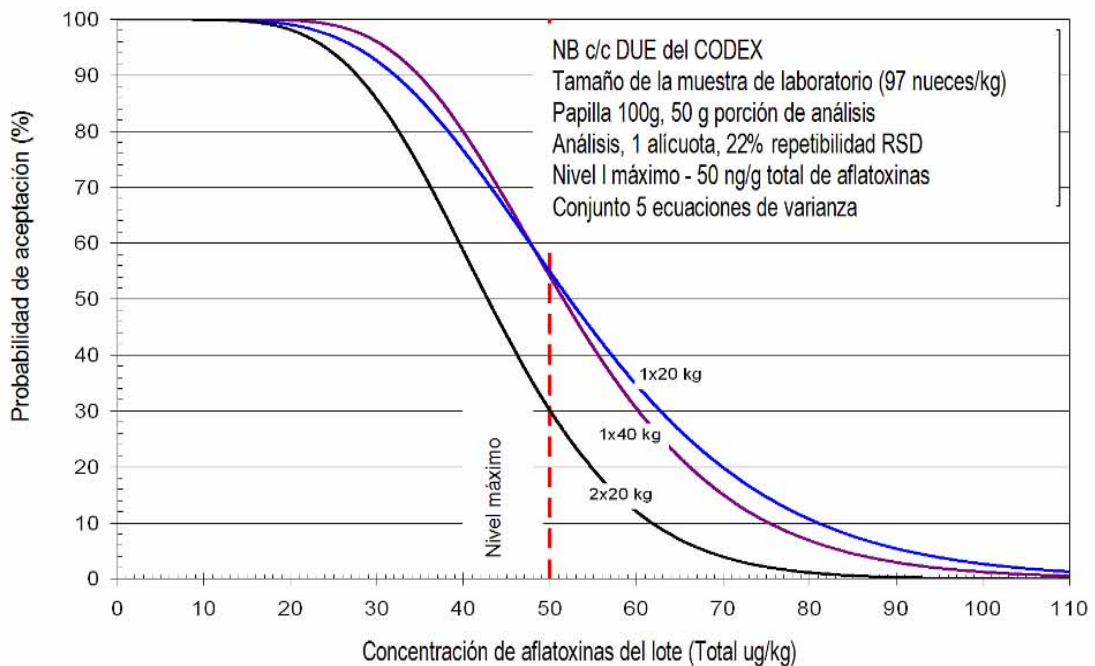
Nueces del Brasil con cáscara destinadas a ulterior elaboración

En el gráfico 3 se muestra la curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestro para las aflatoxinas para las nueces del Brasil en cáscara destinadas a ulterior elaboración, utilizando una sola muestra de laboratorio de 20 kg y un nivel máximo de 50 ng/g para el total de aflatoxinas. Las curvas características de operación reflejan la incertidumbre asociada a una muestra de laboratorio de 20 kg de nueces con cáscara, molino tipo turrax, porción analítica de 100 g (papilla: 50 g de granos: 50 g de agua), y la cuantificación de las aflatoxinas en la porción analítica mediante HPLC - FL con derivatización post-columna con Kobra Cell.

Gráfico 3 - Curvas de operación para las nueces del Brasil con cáscara destinadas a ulterior elaboración (DUE) con un límite máximo de 50 µg/kg.

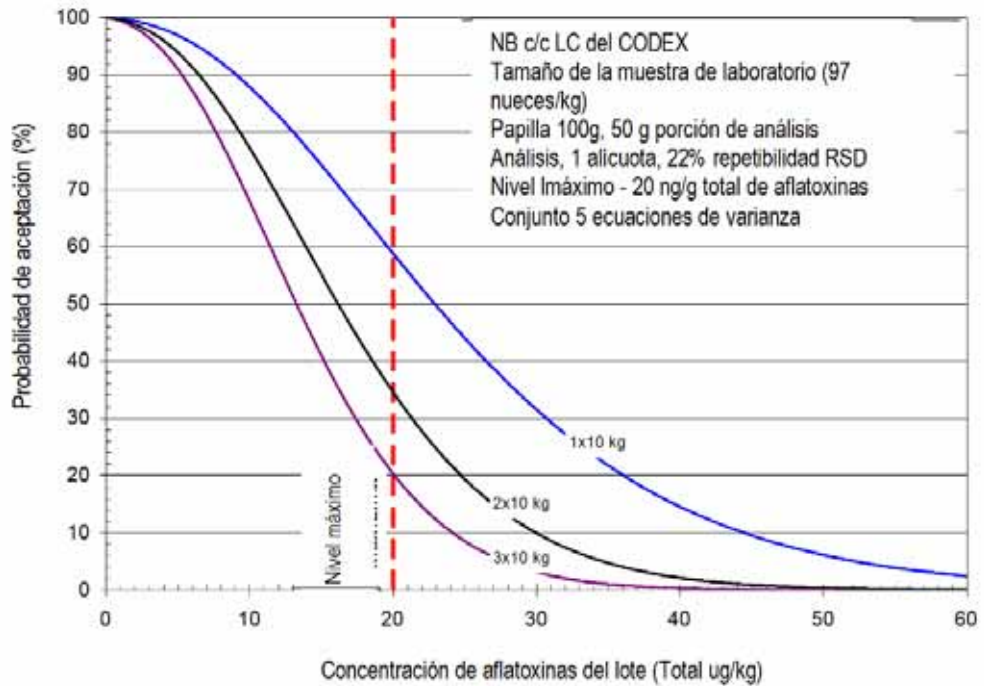
Nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo

En el gráfico 4 se presenta la curva característica de operación que describe el funcionamiento del plan de muestreo de las aflatoxinas para las nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo, utilizando dos



muestras de laboratorio de 10 kg cada una y un nivel máximo de 20 ng/g para el total de aflatoxinas, un molino tipo turrax, porciones analíticas de 100 g (papilla: 50 g de grano: 50 g de agua), y la cuantificación de las aflatoxinas en la porción analítica mediante HPLC - FL con derivatización post-columna con Kobra Cell.

Gráfico 4 - Curva de operación de las nueces del Brasil con cáscara listas para el consumo (LC) con un límite máximo de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$.



ANEXO IV

Cuadro 1. Contribución de la masa de los componentes (% de masa de las muestras: kg) por todas las categorías en todas las muestras de 12 lotes de nueces del Brasil por categoría).

Lote	Granos buenos (%)	Cáscaras con y sin residuos de grano (%)	Cáscaras de granos buenos con y sin residuos de grano (%)	Cáscaras y granos podridos (%)	Granos buenos: aflatoxinas (µg/kg)	Nueces buenas: aflatoxinas (µg/kg)	Nueces podridas: aflatoxinas (µg/kg)	Total de contaminación (todas las fracciones) (µg/kg)	% de nueces podridas (% de masa)	Promedio de aflatoxinas en las nueces buenas	Promedio de aflatoxinas en todas las categorías I
1	66,4	31,6	98,0	2,0	6,0	5,7	416,0	13,8	< 2%	5,7	13,8
5	62,5	34,6	97,1	2,9	0,5	1,9	860,4	26,6	<4%	3,0	13,9
1	65,5	31,6	97,1	2,9	0,3	2,0	631,5	20,5			
1	66,8	30,1	96,9	3,1	3,9	4,4	456,7	18,2			
4	64,3	32,4	96,8	3,2	0,5	2,9	232,3	10,3			
1	63,4	33,0	96,4	3,6	3,7	4,8	489,9	22,2			
4	63,5	32,8	96,3	3,7	0,4	2,5	187,6	9,3			
8	52,1	44,2	96,3	3,7	0,0	0,7	436,8	16,8			
11	53,7	42,5	96,3	3,7	0,0	0,9	102,8	4,7			
10	52,8	43,3	96,1	3,9	0,2	4,9	69,1	7,3			
12	53,3	42,8	96,1	3,9	0,0	2,8	125,8	7,6			
3	69,7	26,3	96,0	4,0	0,4	2,4	189,7	9,9			
7	51,3	44,6	95,9	4,1	0,0	1,9	633,4	28,0			
1	66,4	29,3	95,7	4,3	0,2	1,3	310,0	14,4			
5	63,0	32,7	95,7	4,3	0,4	1,9	360,6	17,3			
6	55,7	40,0	95,7	4,3	2,1	3,0	422,1	21,0			
5	66,4	29,3	95,7	4,3	0,9	1,8	234,3	11,8			
4	61,8	33,9	95,6	4,4	0,3	2,7	207,1	11,6			
1	62,2	33,4	95,6	4,4	0,2	2,3	326,2	16,6			
4	66,2	29,4	95,6	4,4	2,6	4,4	352,5	19,8			
5	62,9	32,4	95,3	4,7	1,7	3,0	229,0	13,6			
4	63,1	32,2	95,3	4,7	0,5	2,1	215,7	12,2			
3	66,4	28,8	95,3	4,7	7,1	5,7	250,5	17,3			
9	52,6	42,5	95,0	5,0	0,2	1,3	408,8	21,5			

5	64,2	30,6	94,8	5,2	0,3	2,1	189,8	11,9			
5	62,3	32,5	94,8	5,2	0,2	1,8	210,0	12,6			
1	65,6	29,1	94,7	5,3	0,6	3,0	431,6	25,7			
4	60,6	34,1	94,7	5,3	0,2	2,1	141,8	9,5			
3	65,4	29,1	94,5	5,5	0,2	0,9	137,7	8,5	<6%	2,6	15,5
1	64,0	30,4	94,5	5,5	0,2	1,6	254,8	15,6			
4	60,6	33,5	94,1	5,9	1,2	3,4	287,3	20,1			
3	64,8	29,3	94,1	5,9	0,3	1,6	147,9	10,3			
3	67,3	26,7	94,0	6,0	2,6	2,9	376,1	25,2			
5	64,1	29,9	94,0	6,0	0,3	2,6	542,3	35,1			
3	65,6	28,3	94,0	6,0	0,3	3,2	292,7	20,7			
1	64,7	29,3	94,0	6,0	0,2	1,7	446,2	28,6			
3	68,3	25,6	93,9	6,1	1,7	3,0	185,2	14,1			
4	62,1	31,7	93,7	6,3	14,4	13,2	244,1	27,7	<7%	2,9	16,6
4	62,5	31,0	93,5	6,5	2,7	4,0	187,7	15,9			
5	61,3	32,0	93,3	6,7	1,7	3,5	175,9	15,1			
3	61,9	31,3	93,2	6,8	1,4	2,7	183,1	14,9			
2	58,5	34,6	93,2	6,8	0,1	0,7	156,8	11,3			
3	65,9	26,8	92,7	7,3	4,1	4,4	189,3	17,9			
2	58,2	34,4	92,7	7,3	0,1	1,4	230,2	18,2	<8%	2,8	16,9
2	60,5	32,0	92,6	7,4	0,1	0,7	366,5	27,8			
2	59,9	31,7	91,6	8,4	0,4	1,3	121,3	11,3	<9%	2,8	17,0
2	58,2	33,4	91,6	8,4	0,3	1,2	299,3	26,3			
5	61,3	29,7	91,0	9,0	0,2	1,6	196,2	19,1			
2	57,9	33,0	90,8	9,2	0,0	1,5	180,3	17,9	<10%	2,9	17,5
2	57,4	33,0	90,4	9,6	16,1	12,5	292,7	39,4			
2	58,5	31,4	89,9	10,1	2,2	2,3	108,3	12,9	<11%	2,9	17,6
2	57,7	32,0	89,6	10,4	4,2	3,6	266,0	30,8			
All	61,5	33,0	94,4	5,6	1,7	2,9	268,7	17,7			

* Nueces podridas = % de granos y cáscaras podridos

OBS 1: La muestra 2 del lote 1 y la muestra 6 del lote 2 se eliminaron por atípicas. **OBS 2:** Datos clasificados por el % de nueces podridas (granos y cáscaras)

Cuadro 2. Contribución de la masa de los componentes (% de masa de las muestras: kg) por componente en todas las muestras de 12 lotes de nueces del Brasil por categoría

Lote	Granos buenos (%)	Cáscaras con residuos de grano (%)	Cáscaras sin residuos de grano (%)	Granos podridos (%)	Cáscaras podridas (%)	Granos buenos: aflatoxinas (µg/kg)	Todas las categorías: aflatoxinas (µg/kg)	% de granos podridos (% de masa)	Promedio de aflatoxinas en los granos buenos	Promedio de aflatoxinas en todas las categorías
1	66,4	15,1	16,6	1,0	0,9	6,0	13,8	<2%	1,2	15,4
1	66,8	16,7	13,4	1,2	1,9	3,9	18,2			
5	62,5	20,5	14,2	1,4	1,5	0,5	26,6			
1	65,5	20,5	11,0	1,4	1,5	0,3	20,5			
4	64,3	21,8	10,6	1,4	1,8	0,5	10,3			
0	52,8	20,7	22,7	1,5	2,4	0,2	7,3			
1	53,3	15,2	27,6	1,7	2,2	0,0	7,6			
8	52,1	21,6	22,6	1,7	2,0	0,0	16,8			
1	53,7	23,3	19,2	1,7	2,1	0,0	4,7			
4	63,5	22,0	10,8	1,9	1,8	0,4	9,3			
7	51,3	23,1	21,6	1,9	2,3	0,0	28,0			
1	63,4	18,4	14,7	2,0	1,6	3,7	22,2			
1	66,4	14,0	15,3	2,0	2,3	0,2	14,4			
5	66,4	15,5	13,8	2,0	2,3	0,9	11,8			
3	69,7	19,3	7,0	2,1	1,9	0,4	9,9			
5	63,0	18,9	13,7	2,1	2,2	0,4	17,3			
1	62,2	16,9	16,5	2,1	2,3	0,2	16,6			
6	55,7	24,1	15,9	2,1	2,2	2,1	21,0			
5	64,2	20,7	9,9	2,2	3,0	0,3	11,9			
5	62,9	21,9	10,5	2,3	2,4	1,7	13,6			
4	61,8	21,8	12,0	2,4	2,0	0,3	11,6			
9	52,6	22,9	19,5	2,4	2,6	0,2	21,5			
3	66,4	18,9	10,0	2,5	2,3	7,1	17,3			
5	62,3	19,3	13,2	2,5	2,7	0,2	12,6			
4	66,2	20,0	9,4	2,5	1,9	2,6	19,8			
1	65,6	18,2	10,9	2,6	2,7	0,6	25,7			
1	64,0	19,1	11,4	2,6	2,9	0,2	15,6			

4	63,1	17,6	14,6	2,7	2,1	0,5	12,2			
3	64,8	15,0	14,3	2,7	3,3	0,3	10,3			
5	64,1	14,9	15,0	2,7	3,3	0,3	35,1			
4	60,6	24,8	9,3	2,7	2,6	0,2	9,5			
3	65,4	13,0	16,1	2,7	2,8	0,2	8,5			
3	67,3	17,8	9,0	2,8	3,1	2,6	25,2			
1	64,7	17,8	11,5	2,9	3,2	0,2	28,6			
4	60,6	20,6	12,9	2,9	3,0	1,2	20,1			
3	65,6	16,3	12,0	2,9	3,1	0,3	20,7			
4	62,1	17,1	14,6	3,1	3,2	14,4	27,7	<4%	1,4	16,7
2	58,5	16,5	18,1	3,1	3,7	0,1	11,3			
5	61,3	18,7	13,2	3,3	3,5	1,7	15,1			
3	68,3	10,8	14,8	3,3	2,8	1,7	14,1			
4	62,5	20,4	10,6	3,3	3,2	2,7	15,9			
3	61,9	17,3	14,1	3,3	3,4	1,4	14,9			
2	60,5	21,3	10,8	3,5	3,9	0,1	27,8			
3	65,9	14,2	12,7	3,5	3,8	4,1	17,9			
2	58,2	17,4	17,1	3,6	3,8	0,1	18,2			
2	59,9	17,7	14,0	3,9	4,5	0,4	11,3			
2	58,2	21,5	11,9	4,0	4,4	0,3	26,3	<5%	1,7	17,6
5	61,3	14,9	14,8	4,3	4,7	0,2	19,1			
2	57,9	13,6	19,3	4,3	4,9	0,0	17,9			
2	57,4	16,2	16,8	4,5	5,2	16,1	39,4			
2	58,5	21,7	9,6	4,8	5,3	2,2	12,9			
2	57,7	19,0	12,9	4,9	5,4	4,2	30,8			
All	61,5	18,7	14,3	2,7	2,9	1,7	17,7			

OBS 1: Se eliminaron la muestra 2 del lote 1 y la muestra 6 del lote 5 por sus valores atípicos. **OBS 2:** Datos clasificados por el % de granos podridos.