

comisión del codex alimentarius

ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS
PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACION

ORGANIZACION MUNDIAL
DE LA SALUD

OFICINA CONJUNTA: Via delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel.: 39 6 57051 Télex: 625825-625853 FAO I Email: codex@fao.org Facsimile: 39 6 5705.4593

Tema 14(c) del programa

**CX/FAC 99/16
Enero de 1999**

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS

COMITE DEL CODEX SOBRE ADITIVOS ALIMENTARIOS Y CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS

31ª reunión

La Haya, Países Bajos, 22-29 de marzo de 1999

DOCUMENTO DE SINTESIS RELATIVO A LA PATULINA

(Preparado por Francia)

INTRODUCCION

1. En la 28ª reunión del CCFAC, se pidió a Francia que preparara un documento de síntesis sobre la patulina, que contribuyera a establecer límites máximos de contaminación de los alimentos por la patulina. En este documento de síntesis se tienen en cuenta los datos toxicológicos actuales así como los resultados analíticos proporcionados por Alemania, el Reino Unido, los Estados Unidos de América y Francia, así como los datos de exposición de la población. En la 29ª reunión del CCFAC, se invitó a Francia a redactar un nuevo documento teniendo en cuenta las observaciones enviadas por los gobiernos. En la 30ª reunión del CCFAC, el documento de Francia se adelantó al Trámite 3 a reserva de la modificación del límite máximo propuesto para la patulina en el zumo (jugo) de manzana y las bebidas listas para el consumo que contienen zumo (jugo) de manzana.

2. La patulina es una micotoxina producida por gran número de diferentes hongos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Byssochlamys*. Pueden detectarse en las futas, las hortalizas y los cereales enmohecidos, así como en los forrajes. (NB: puede detectarse también en los quesos. La patulina se encuentra por infección natural por *Penicillium* en numerosas frutas y legumbres sin elaborar o elaboradas (zumos (jugos), salsas, compotas, jaleas) pero la contaminación más frecuente es la provocada por *Penicillium expansum* que se encuentra en determinadas formas de podredumbre de las manzanas, tales como el "moho azul", dañadas en la superficie. No obstante, no puede excluirse la presencia de patulina en las frutas aparentemente sanas. El grado de contaminación está relacionado con el grado de podredumbre y la patulina apenas se extiende fuera de los tejidos alterados: por consiguiente, la exposición humana no es previsible sino a partir de las frutas elaboradas. De 1972 a 1979 se realizaron numerosos análisis sobre la patulina en los zumos (jugos) de manzana, observándose niveles de contaminación muy variables, de 5 a 2 500 µg/kg.

PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

3. La patulina es una lactona (4-hidroxi-4h-furo[3,2-c], pirane-2(6h)-one), de peso molecular 154,12. Forma cristales incoloros a un punto de fusión de 111°C. Es soluble en agua, etanol, acetona, acetato de etilo, éter y cloroformo, pero insoluble en el benceno y el éter de petróleo. La patulina no se destruye con la aplicación de calor y es estable a un pH ácido. Su concentración disminuye con el almacenamiento prolongado; la acción de los sulfitos se refuerza con el aumento de la temperatura, la

X0734/S

adición de ácido ascórbico, la fermentación alcohólica y el tratamiento con carbón activo. La patulina pierde su actividad biológica en medio alcalino y en presencia de moléculas que contienen agrupaciones sulfidrilas como la cisteína y el glutatión.

METODOS DE ANALISIS

4. Los métodos de determinación de la patulina utilizados respetan en general el esquema siguiente:

- 1 - Extracción
- 2 - Purificación o eliminación de compuestos indeseables
- 3 - Concentración
- 4 - Determinación cualitativa y cuantitativa mediante técnicas cromatográficas

5. Existen métodos normalizados de determinación de la patulina en los zumos (jugos) de manzana. La ISO ha publicado dos normas, ISO 8128-1: 1993 e ISO 8128-2: 1993, una por cromatografía en capa delgada (CCD), la otra por cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE). Estos métodos son bastante parecidos a los publicados en el Manual de métodos de análisis oficiales de AOAC Internacional: AOAC 974-18 y AOAC 995-10. Se utilizan corrientemente también otros métodos, por ejemplo el método AFNOR NF V76-116 de noviembre de 1985, que es el método oficial en Francia. Su ámbito de aplicación se extiende a los zumos (jugos) de manzanas, a los concentrados de zumos (jugos) de manzana y a las sidras. Suiza dispone asimismo de métodos oficiales publicados en Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 75, 506-513 (1984). Estos métodos se presentan en el Cuadro 1 del anexo junto con sus características técnicas y sus valores de repetibilidad y reproducibilidad. Se ha de señalar que el 30 de septiembre de 1996 se emprendió un proyecto de la Unión Europea coordinada por el Reino Unido. Este estudio tiene por objeto seleccionar y normalizar los métodos de análisis de micotoxinas por los Estados de la Unión Europea y presentarlas en forma de normas del CEN. Para la patulina, las matrices consideradas son los zumos (jugos) de manzanas y la compota de manzanas.

ABSORCIÓN, DISTRIBUCION Y EXCRECCION

6. La patulina marcada con C^{14} , administrada por vía oral en forma de una dosis simple de 3 mg/kg de peso corporal a ratas Sprague-Dawley se elimina por lo general por las heces y las orinas en 24 horas. Después de siete días, queda retenido del 2 al 3 por ciento en los tejidos blandos (bazo, riñones, pulmón e hígado) así como en la sangre.

IDENTIFICACION DE PROBLEMAS TOXICOLOGICOS

Toxicidad aguda

7. La dosis letal 50, en los ratones, es de 15 a 35 mg/kg según la modalidad de administración. La patulina tiene un efecto citotóxico que le confieren propiedades antibióticas, antifúngicas y antiprotozoarias. Uno de los mecanismos de esta citotoxicidad es el aumento de la permeabilidad de la membrana. La patulina desorganiza los microfilamentos fitoplásmicos. Inhibe *in vitro* varios enzimas como ARN-polimerasa y ADN-polimerasa. Altera asimismo la transcripción y la traslación por efecto directo sobre la ADN.

Mutagenicidad-carcinogenicidad

8. Se han realizado estudios de carcinogenicidad en ratones y ratas, pero dos de tres estudios se han basado en animales de la primera generación tomados de entre animales utilizados para estudios de teratogenesis. Los resultados de los ensayos de mutagenicidad son variables, positivos respecto del *Bacillus subtilis* y negativos respecto a *E. Coli* y *Salmonella Typhimurium*. La patulina indujo roturas de la ADN pero ninguna síntesis no programada de la ADN. Indujo asimismo aberraciones cromosómicas pero sin intercambio de cromátides hermanos. No existen, pues, pruebas evidentes de un efecto cancerígeno de la patulina, si bien todos los expertos toxicólogos están de acuerdo en cuanto a la necesidad de realizar un estudio de carcinogénesis en otra especie distinta de la rata. Por último, la patulina produce efectos inmunotóxicos, pero estos últimos intervienen en dosis muy superiores a la dosis sin efecto.

Ingestión máxima tolerable

9. Tras la primera evaluación toxicológica realizada en la 35ª reunión del JECFA en 1990 se estableció una ingestión semanal máxima tolerable provisional (ISMTP o PTWI en inglés) de 7 µg/kg de peso corporal. En la segunda evaluación realizada en la 44ª reunión del JECFA en 1995 se tuvo en cuenta el hecho de que en las ratas la mayor parte de la patulina ingerida se elimina en 48 horas y el 98 % en 7 días. Esta ausencia de acumulación indujo al JECFA a establecer una ingestión diaria máxima tolerable provisional (IDMTP o PTDI en inglés). Tras un estudio basado en los efectos combinados de la patulina en la reproducción, los efectos tóxicos a largo plazo y la carcinogenicidad se determinó la dosis sin efecto observado en 43 µg/mg de peso corporal y por día. Basándose en este estudio y utilizando el factor habitual de 100, el JECFA estableció provisionalmente en 0,4 µg/kg la ingestión diaria máxima tolerable.

EVALUACION DE LA EXPOSICION

10. En la evaluación de la exposición que se ha realizado se tienen en cuenta los resultados analíticos disponibles (Cuadros 2 y 3 del Anexo) así como los datos de consumo de productos susceptibles de ser contaminados (Cuadro 4 del Anexo). Estos datos provienen de los países citados en el párrafo 1. La función del Comité es la de proponer medidas compatibles con la seguridad del consumidor y, en consecuencia, basados en la aplicación del principio de no superación de las dosis de ingestión tolerables establecidas por el JECFA, es decir, 0,4 µg/kg de peso corporal/día.

11. Para un adulto de 60 kg, este límite corresponde a 24 µg/día de patulina; para un niño de 20 kg a 8 µg/día, y para un niño de 10 kg a 4 µg/día de patulina.

12. Los envases individuales de los zumos (jugos) de frutas (en particular los destinados a los niños) varían de 125 a 200 ml. Según la lógica aprobada por el Comité tras el examen del documento CX/FAC 98/17, el consumo normal de una porción o unidad de envase no presenta riesgos para el consumidor. En consecuencia, si un niño de 10 kg consume en un día un volumen de zumo (jugo) de manzana envasado en una unidad de 125 ml, el contenido de patulina del zumo (jugo) de manzana en cuestión no deberá superar los 32 µg/l para no superar la IDMTP (pTDI en inglés). El contenido de patulina no deberá superar los 40 µg/l en el caso de un niño de 20 kg que consuma una unidad de venta de 200 ml por día.

13. Ahora bien, los datos de consumo especificados (Cuadro 4) indican que determinados consumidores (en Francia 5 por ciento de los consumidores de zumos (jugos) de manzana) consumen de forma regular por día cantidades del orden de 200 ml de zumo (jugo) de manzana (223 ml en Francia sobre 1 500 individuos de 2 a 65 años, 150 y 290 ml entre los adultos y los niños respectivamente en el Reino Unido). Por último, en Francia más del 20 por ciento de los niños de edad inferior a 30 meses

consumen zumos (jugos) de frutas, el 3 por ciento de los cuales consume zumos (jugos) no destinados especialmente a fines nutritivos (Estudio SOFRES/Alliance 7, 1997).

14. Si los productos sólidos a base de manzana (cuadro 3), presentan un nivel de contaminación siempre inferior a 50 µg/kg, en cambio, las informaciones disponibles indican que un 10-30% de los zumos (jugos) de manzana pueden estar contaminados en niveles superiores a 50 µg/kg (cuadro 2) y que el 55% de los zumos (jugos) de manzana pueden estar contaminados en niveles superiores a 25 µg/kg (Fuente: Union Nationale des Producteurs et Distributeurs de Jus de Fruits – France). Todos estos datos confirman, pues, el riesgo de que se supere la IDMTP.

DISCUSION

15. La patulina es una sustancia tóxica de la que se sospecha un riesgo cancerígeno. Si bien no se ha establecido la prueba formal de este riesgo, el JECFA estableció en 1995 una dosis diaria máxima tolerable provisional (PTDI en inglés) de 0,4 µg/kg de peso corporal.

16. Entre las frutas y hortalizas contaminadas, solamente las manzanas pueden presentar concentraciones muy elevadas de patulina. Estas manzanas no se consumen nunca, según los datos, en su forma no elaborada, por lo que el riesgo de la patulina proviene de los productos elaborados. Los productos elaborados distintos de los zumos (jugos) (productos sólidos, compotas, etc.) presentan niveles de contaminación generalmente inferiores a 50 µg/kg, sea que el tratamiento tecnológico destruya la patulina, sea que se descarte de la producción, por razones organolépticas, las frutas muy contaminadas. El riesgo de superar la dosis de ingestión tolerable por el consumo de estos productos es, pues, altamente improbable. La fermentación destruye la patulina en gran proporción en las sidras. Además, las sidras no se destinan a los niños, lo cual hace que sea muy improbable el riesgo de superar la IDMTP por el consumo de estos productos.

17. Los zumos (jugos) de manzana pueden estar altamente contaminados, no obstante que la eliminación de frutas podridas del proceso de fabricación sea técnicamente posible, dé resultados satisfactorios y se ajuste perfectamente a la aplicación de buenas prácticas agrícolas de fabricación. Existen por tal motivo métodos automatizados (flotación de frutas) y métodos manuales que dan los resultados mejores pero que son de aplicación más difícil.

18. Es importante insistir en el hecho de que se trata de la contaminación de una bebida y que las dosis de ingestión diaria pueden ser más elevadas que en el caso de los alimentos sólidos. Esta observación es particularmente importante de tener en cuenta para los niños.

19. Los datos de consumo, la utilización de una unidad de envase de 200 ml, de una porción normalizada de 237 ml o datos de consumo regular de 200 ml por día observados por diferentes países conducen a la necesidad de proteger a los niños que consumen estos productos.

RECOMENDACIONES

20. Dado que:

- la contaminación por la patulina de productos obtenidos a partir de frutas, fundamentalmente manzanas, es una realidad constatada corrientemente,
- las dosis de ingestión de zumos (jugos) de manzana por determinadas poblaciones de consumidores, sobre todo niños, relacionadas con el peso de los individuos, pueden llegar a ser considerables,
- el comercio de estos productos no es insignificante en determinadas regiones geográficas,

- determinados estados, tales como Austria, Finlandia, Francia, Grecia, Islandia, el Reino Unido y Suecia han establecido ya límites máximos de referencia para la patulina en los zumos (jugos) de manzana y, a veces, también en otros productos, se recomienda que se examine la cuestión del establecimiento de un límite máximo para la patulina, conforme al procedimiento descrito en la Norma General del Codex para los Contaminantes.

21. Si se quiere asegurar un nivel de protección para la mayor parte de los niños, dado que son ellos los consumidores normales e importantes de zumos (jugos) de manzana, podría establecerse un límite máximo de patulina de 25µg/kg en el zumo (jugo) de manzana.

22. No obstante, el establecimiento de un límite de 25 µg/kg corre el riesgo de que no siempre pueda ser respetado por los productores de zumos (jugos) de manzana y puede plantear problemas para el comercio internacional. El establecimiento de un límite máximo de 50µg/kg de patulina en el zumo (jugo) de manzana y las bebidas a base de zumo (jugo) de manzana listos para el consumo, puede asegurar un nivel de protección suficiente para la gran mayoría de consumidores cuyo consumo de bebidas es suficientemente diversificado. Conforme a los deseos del CCFAC expresados en su 30ª reunión, se propone, pues, el límite de 50 µg/kg en el Trámite 3 del Procedimiento del Codex. Este límite podrá ser revisado, en su caso, en función de la evolución de los conocimientos respecto de la toxicidad de la patulina.

23. En cualquier caso, es fundamental estimular a los fabricantes que elaboran la manzana a que respeten las buenas prácticas de fabricación descritas en el Código de Buenas Prácticas. Se trata en particular de eliminar de su producción las frutas deterioradas, al ser su aspecto un buen indicador de su nivel de contaminación.

24. En segundo lugar, es asimismo necesario estimular a los fabricantes, cuando las condiciones de recolección y almacenamiento son desfavorables a que prevean, como complemento de selección inicial, medidas de descontaminación de los zumos (jugos), tales como el almacenamiento prolongado, el reforzamiento de la acción de los sulfitos por el aumento de la temperatura, la adición de ácido ascórbico en el medio en que se encuentran y el tratamiento mediante carbono activo. Este último tratamiento tiene sin embargo el inconveniente de descolorar los zumos (jugos) por absorción simultánea de polifenoles.

25. Deberá fomentarse la realización de estudios toxicológicos relativos a la patulina que se centren sobre todo en su acción cancerígena.

26. Tal vez sea necesario pedir al Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras que se pronuncie sobre los métodos de determinación del contenido de patulina.

Referencias

Harrison M.A., 1989, Presence and stability of patuline in apple products: a review. *J. Food Safety*, 9: 147-153.

Lindroth S., 1980, Occurrence, formation and detoxification of patulin mycotoxin. Technical Research Centre of Finland, Publication 24, UDC 615-9:582-24

Mortimer D.N., Parker I., Shepherd M.J., Gilbert J., 1985, A limited survey of retail apple and grape juices for the mycotoxin patulin. *Food Additives and Contaminants*, 2 (3): 165-170.

Sydenham E.W., Wismer H.F., Marasas W.F.O., Brown N.L., Schlechter M., Rheeder J.P., 1997, The influence of deck storage and initial processing on patulin levels in apple juice. *Food Additives and Contaminants*, 14 (5): 429-434.

CUADRO 1
Métodos

METODOS	Patulina (µg/l)	Repetibilidad en µg/l	Reproducibilidad en µg/l	Extracción	Purificación	Detección	Límite de cuantificación en µg/l
Método oficial francés NF V 76-116 Nov.1985		no indicado	no indicado	Acetato de etilo	Columna de gel de sílice	Cromatografía líquida de alta eficacia (CLAE) confirmación por Cromatografía de capa delgada (CCD)	20
AOAC Official Method 974.18		no indicado	no indicado	Acetato de etilo	Columna de gel de sílice	CCD	20
AOAC Official Method 995.10	20 µg/l 50 µg/l 100 µg/l 200 µg/l	12,9 18,5 29,4 66,4	16,5 32,2 56,6 78,4	Acetato de etilo	Lavado con carbonato de sodio	CLAE Detección UV	10
ISO 8128-2: 1993		33,4	41	Acetato de etilo + cloroformo	Columna de gel de sílice	CCD	25
ISO 8128-1: 1993	40 µg/l 207 µg/l	8,9 41,9	10,5 47,5	Acetato de etilo	Lavado con carbonato de sodio	CLAE Detección UV	10
Método oficial suizo Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 75,506 (1984)		no indicado	no indicado	Acetato de etilo	Lavado con carbonato de sodio	CLAE Detección UV	5 a 10
Método oficial suizo Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. 75,506 (1984)		no indicado	no indicado	Extrelut	Columna de sílice	CLAE Detección UV	5 a 10

CUADRO 2
Análisis relativo a los zumos (jugos) de manzana

Año	País	Número	% positivos	% > 50µg/kg	mín-máx
1980	F	27	100	---	10-106
1980	UK	136	16	0	1-38
1980	POL	46	0	0	---
1981	NZ	20	3	---	106-216
1982	I	58	21	0	5-15
1982	AUST	222	57,5	32	5-1130
1983	F	137	---	17	---
1984	F	112	---	19,6	---
1985	UK	38	26	2.6	5-56
1991	F	7	42	---	---
1992	UK	32	57	16	59-434
1992	F	31	3,2	---	---
1993	UK	62	28	4,8	61-118
1993	F	99	10	---	---
1994	UK	191	57	2	54-497
1994	F	50	8,5	---	---
1995	UK	185	35	6	73-490
1996	UK	174	---	0,5	184
1996	F	66	50	11	10-400
1994/96	GER	---	72	6	---
	USA	102	74	26	>500

Análisis relativos a los alimentos sólidos a base de manzana

Año	País	Número	% positivos	% >50µg/kg	mín-máx
1980	UK	113	0	0	---
1981	GER	105	7	0	11-50
1982	AUST	70	25	0	5-32
1983	I	20	50	0	5-50
1993	UK	85	0	0	<25
1991	F	3	0	0	<30
1992	F	1	0	0	<30
1993	F	15	0	0	<30
1993	F	25	0	0	<25
1994	F	21	1	1	---
1996	F	32	9	0	<10
1996 (niño)	F	41	9,7	0	<10

Consumo de zumos (jugos) de manzana

La utilización de una porción estándar (método elaborado por el Reino Unido y descrito en el documento CCFAC 96/) dio lugar a una ingestión máxima de 237 ml de zumo (jugo) de fruta por día (97,5° percentilo de los consumos).

Los resultados de las encuestas de consumo en Francia y el Reino Unido presentan los consumos siguientes:

País	Edad	Media (ml/día)	97,5° percentilo (ml/día)
UK*	2-5 años	50	150
UK*	Adultos	61,5	290
F**	Adultos/Niños	---	223
G***	4-6 años	158	---
G***	7-9 años	160	---
G***	25-50 años	61	---

* Datos al 97,5° percentilo de únicos consumidores en el total de la población.

** Datos al 97,5° percentilo de únicos consumidores del total de la población; ingestión máxima regular sobre siete días por encuestas de consumo individuales con correcciones de variaciones estacionales.

*** Datos de consumo medio diario de zumos (jugos) de frutas.