

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 8 del programa

CX/CF 10/4/8
Marzo de 2010

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

4ª reunión

Izmir (Turquía), 26 – 30 de abril de 2010

ANTEPROYECTO DE NIVELES MÁXIMOS PARA EL CONTENIDO DE FUMONISINAS EN EL MAÍZ Y PRODUCTOS DEL MAÍZ, Y PLANES DE MUESTREO ASOCIADOS (N10-2009)

Se invita a los miembros y observadores del Codex que deseen presentar observaciones en el Trámite 3 sobre el tema anterior, incluyendo posibles consecuencias para sus intereses económicos, a que lo hagan de conformidad con el *Procedimiento uniforme para la elaboración de normas y textos afines del Codex* (Manual de Procedimiento de la Comisión del Codex Alimentarius) antes del **12 de abril de 2010**. Las observaciones se dirigirán:

a:

Sra. Tanja Åkesson
Punto de contacto del Codex
Ministerio de Agricultura, Naturaleza y Calidad
Alimentaria
Apartado de correos 20401
2500 EK La Haya (Países Bajos)
Tel.: +31 70 378.4045
Fax.: +31 70 378.6141
Correo electrónico: t.z.j.akesson@minlnv.nl –
preferentemente -

con copia al:

Secretario, Comisión del Codex Alimentarius,
Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas
Alimentarias,
Viale delle Terme di Caracalla,
00153 Roma (Italia)
Fax: +39 (06) 5705 4593
Correo electrónico: codex@fao.org -
preferentemente -

INFORMACIÓN GENERAL

1. La 3ª reunión del Comité del Codex Alimentarius sobre Contaminantes de los Alimentos decidió iniciar el trabajo sobre el establecimiento de niveles máximos y planes de muestreo asociados para el contenido de fumonisinas (FB₁ y FB₂) en el maíz y algunos productos a base del maíz¹ y aprobado por el 32º período de sesiones de la Comisión del Codex Alimentarius². El Comité decidió además pedir al JECFA que examinara los datos disponibles toxicológicos y de la presencia a fin de llevar a cabo una reevaluación del contenido de fumonisinas en el maíz y los productos del maíz y que, partiendo del resultado de esa reevaluación del JECFA, la dosis máxima podía ser revisada¹. En el informe de la última sesión del Comité encontrará más información sobre el debate de esta cuestión³.

2. Durante el desarrollo de los anteproyectos de niveles máximos y planes de muestreo asociados, la delegación de Brasil recibió datos de la frecuencia de Argentina, Bélgica, China, Finlandia, Japón, Nigeria, Noruega, Reino Unido y los Estados Unidos de América. Los Estados Unidos de América remitieron curvas características de operación (CO) que respaldan el debate sobre los planes de muestreo.

¹ ALINORM 09/32/41, párr. 101, Apéndice VII.

² ALINORM 09/32/REP, Apéndice VI.

³ ALINORM 09/32/41, párrs. 96-101.

S

PETICIÓN DE OBSERVACIONES

3. En los Anexos I y II se presentan anteproyectos de niveles máximos para el contenido de fumonisinas en el maíz y los productos del maíz, y planes de muestreo asociados para recabar observaciones en el trámite 3. El Anexo III contiene información de apoyo de los anteproyectos de niveles máximos y planes de muestreo complementarios.

ANEXO I

**ANTEPROYECTOS DE NIVELES MÁXIMOS PARA EL CONTENIDO DE FUMONISINAS
(FB₁ + FB₂) EN EL MAÍZ Y LOS PRODUCTOS DEL MAÍZ**

Se presentan los siguientes niveles máximos de fumonisinas (FB₁ + FB₂) en el maíz y los productos del maíz para recabar observaciones y someterlas a examen por el Comité.

| Producto | Nivel máximo de fumonisinas (FB₁+FB₂), mg/kg |
|---|---|
| Maíz en grano, sin elaborar | 5 |
| Harina/sémola de maíz | 2 |
| Palomitas en grano | 2 |
| Alimentos para bebés a base de maíz | 0,5 |
| Cereales para el desayuno, aperitivos y hojuelas a base de maíz | 1 |

Tomando en consideración:

- (a) Los datos proporcionados por los gobiernos nacionales permitieron concluir que en la mayoría de los países la frecuencia de fumonisinas en el maíz en grano y la harina de maíz es elevada, con una concentración media de fumonisinas FB₁+FB₂ en torno a 1 mg/kg y 0,5 mg/kg, respectivamente. La ingesta total de fumonisinas del consumo de maíz en grano y productos relacionados, incluida la harina de maíz, a esos niveles de contaminación alcanzó la ingesta diaria tolerable media provisional (IDTMP) para las dietas H e I, que comprenden a países de África y América Latina. Si bien en África el procesado del maíz es muy bajo y se cultiva principalmente en el hogar, en algunos países de América Latina, existe un elevado consumo de productos de maíz nixtamalizado.
- (b) El nivel medio de fumonisinas en los cereales para el desayuno era muy diferente entre los países, llegando a 0,51 mg/kg de FB₁+FB₂ en EE.UU. Es importante señalar que las fumonisinas enlazadas observadas en productos de maíz extrudido, como los cereales para el desayuno, no se detectan mediante el procedimiento común de extracción, y la exposición a las fumonisinas no se puede observar plenamente. Estudios disponibles han demostrado que los niveles encontrados en la forma enlazada son más elevados que los encontrados en la forma libre. Se deberá tratar de ampliar el estudio de las fumonisinas enlazadas y generar datos de consumo a nivel internacional en productos de maíz extrudido que permitan realizar una evaluación completa de riesgos del contenido de fumonisinas.
- (c) Es necesario evaluar el cumplimiento y eficiencia del Código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por micotoxinas en los cereales, en los niveles del contenido de fumonisinas en el maíz. Sin embargo, los datos de la bibliografía o proporcionados por los gobiernos nacionales no permitieron realizar esa evaluación.
- (d) En algunas comunidades donde los alimentos básicos son el maíz y productos a base de maíz, la presencia conjunta de fumonisinas, fuerte promotor de cáncer, y aflatoxinas, que son cancerígenos humanos demostrados, es motivo de preocupación. Se deberán investigar los posibles efectos sinérgicos o conjuntos de estas micotoxinas en la salud humana.
- (e) El establecimiento de un nivel máximo (NM) de fumonisinas (FB₁+FB₂) en el maíz en grano se consideró basándose en los datos de la frecuencia proporcionados por los países. Un NM de 2 mg/kg implicaría que el 27% de los lotes del mercado quedarían excluidos; un NM de 5 mg/kg y 10 mg/kg reduciría de forma considerable ese porcentaje (a 1,4 % y 0,3 %, respectivamente), representando la ingesta media el 30 % - 40 % de la IDTMP. Un límite de 5 mg/kg significaría que el 30% del percentil 95° de los consumidores excederá la IDTMP.
- (f) Tomando en consideración el riesgo de exposición y el impacto en el comercio internacional, en el maíz en grano se recomienda un NM de 5 mg/kg para FB₁+FB₂.

ANEXO I

- (g) El establecimiento de un NM para el contenido de fumonisinas (FB_1+FB_2) en la harina/sémola de maíz se examinó en base a datos de la frecuencia proporcionados por los Estados Unidos de América y países europeos. El mayor conjunto de datos fue proporcionado por EE.UU., señalando que en torno al 8% de los lotes quedaría excluido del mercado si para este producto se estableciera un NM de 2 mg/kg.
- (h) Japón, China, países europeos y EE.UU. presentaron datos sobre palomitas. Se analizaron 252 muestras en total, de las cuales el 75 % dieron resultados positivos en cuanto a FB_1 ; el nivel más elevado fue 1,6 mg/kg de FB_1+FB_2 . Se recomienda un NM de 2 mg/kg para FB_1+FB_2 en granos para palomitas.
- (i) Se presentaron datos de 86 muestras de alimentos para bebés solamente analizadas en países de la Unión Europea. La mayoría de las muestras no tenía FB_1 y el nivel más elevado de FB_1+FB_2 fue 0,32 mg/kg. Se recomienda un NM de 0,5 mg/kg para FB_1+FB_2 en alimentos para bebés a base de maíz.
- (j) Países europeos, Japón, Australia y EE.UU. presentaron datos sobre cereales para el desayuno, hojuelas y aperitivos. En total se analizaron 431 muestras detectando FB_1 en casi el 60 %. Los valores máximos de FB_1+FB_2 fueron 2,3 mg/kg en Japón y 1,67 mg/kg en EE.UU.; los niveles máximos en otros países eran inferiores a 1 mg/kg.
- (k) Es importante destacar que los niveles en los cereales para el desayuno, hojuelas y aperitivos se refieren solamente a las fumonisinas libres y se necesitan datos adicionales sobre los residuos de fumonisinas enlazadas en estos productos. Además, estos productos no se someten a procesado antes de su consumo y su consumo por los niños es importante. Se recomienda un NM de 1 mg/kg para FB_1+FB_2 en los cereales para el desayuno, hojuelas y aperitivos a base de maíz.
- (l) Además de datos de residuos de fumonisinas enlazadas, se necesitan datos del consumo de cereales para el desayuno, hojuelas, aperitivos y tortillas para completar la evaluación de riesgos a través de los alimentos de fumonisinas.

ANTEPROYECTO DE PLAN DE MUESTREO PARA EL CONTENIDO DE FUMONISINAS

Los siguientes planes de muestreo para el contenido de fumonisinas (FB₁+FB₂) se presentan a fin de recopilar observaciones y someterlas al examen del Comité. Las curvas características operatorias que describen el rendimiento del plan de muestreo se indican en el Anexo III.

Maíz en grano

| | |
|-------------------------------------|---|
| Nivel máximo | 5 mg/kg de FB ₁ +FB ₂ |
| Incrementos | 50x100g |
| Tamaño de la muestra global | 5 kg |
| Preparación de la muestra | Molido en seco con un molino apropiado (Romer Mill) |
| Tamaño de la muestra de laboratorio | 1 kg |
| Número de muestras de laboratorio | 2 |
| Porción de ensayo | 25 g de porción de ensayo |
| Método | LC |
| Norma de decisión | Si el resultado del ensayo de la muestra de fumonisinas de ambas muestras de laboratorio es igual o inferior a 5 mg/kg, aceptar el lote. De lo contrario, rechazarlo. |

Harina/sémola de maíz

| | |
|-------------------------------------|---|
| Nivel máximo | 2 mg/kg de FB ₁ +FB ₂ |
| Incrementos | 10 x 100 g |
| Tamaño de la muestra global | 1 kg |
| Preparación de la muestra | Ninguna |
| Tamaño de la muestra de laboratorio | 50 g |
| Número de muestras de laboratorio | 1 |
| Porción de ensayo | Igual a la muestra de laboratorio |
| Método | LC |
| Norma de decisión | Si el resultado del ensayo de la muestra de fumonisinas de ambas muestras de laboratorio es igual o inferior a 5 mg/kg, aceptar el lote. De lo contrario, rechazarlo. |

Palomitas

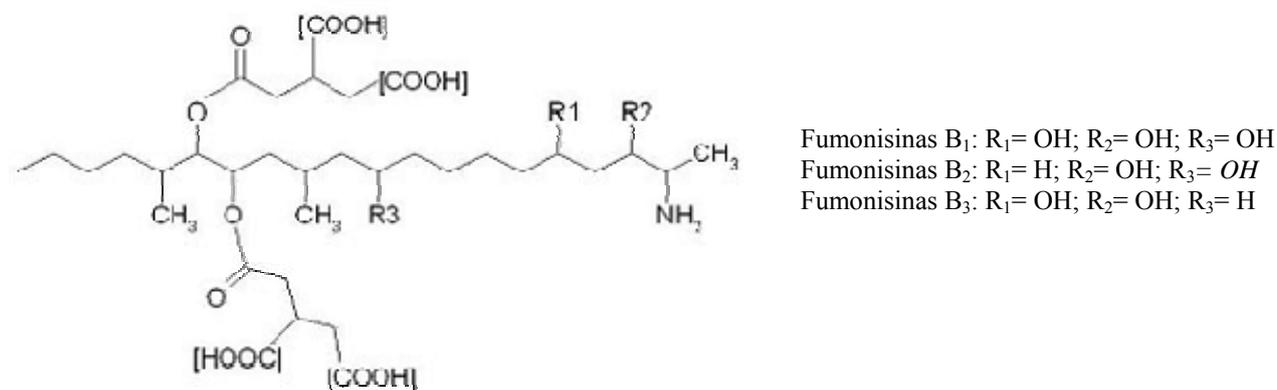
| | |
|-------------------------------------|---|
| Nivel máximo | 2 mg/kg de FB ₁ +FB ₂ |
| Incrementos | 50x100g |
| Tamaño de la muestra global | 5 kg |
| Preparación de la muestra | Molido en seco con un molino apropiado (Romer Mill) |
| Tamaño de la muestra de laboratorio | 1 kg |
| Número de muestras de laboratorio | 2 |
| Porción de ensayo | 25 g de porción de ensayo |
| Método | LC |
| Norma de decisión | Si el resultado del ensayo de la muestra de fumonisinas de ambas muestras de laboratorio es igual o inferior a 2 mg/kg, aceptar el lote. De lo contrario, rechazarlo. |

Este anexo presenta información general como apoyo a los anteproyectos de niveles máximos y planes de muestreo asociados que figuran en los Anexos II y III.

INTRODUCCIÓN

1. Las fumonisinas son micotoxinas relacionadas estructuralmente con un grupo de diésteres del ácido propano-1, 2, 3-tricarboxílico y varios 2-amino-12, 16-dimetilpolihidroxiicosanos, en los que los grupos hidroxilos C14 y C15 están esterificados con el grupo carboxilo terminal del ácido tricarboxílico (Gráfico 1). Se han identificado por lo menos 18 sucedáneos de las fumonisinas que se han clasificado en las series A, B, C y P, por su estructura química (Plattner *et al.*, 1996, Sewram *et al.*, 2005, Torres *et al.*, 2007, Kumar *et al.*, 2008). La serie B, que consta principalmente de fumonisinas B₁ (FB₁), y la fumonisinas B₂ (FB₂), son consideradas los análogos más abundantes y más tóxicos presentes de forma natural (Sydenham *et al.*, 1992a,b Thiel *et al.*, 1992). Recientemente, se detectaron 28 isómeros de FB₁ en un cultivo de arroz en sólido contaminado con *Fusarium verticillioides*, por RP-HPLC/ESI-TOFMS y RP-HPLC/ESI-ITMS (Bartok *et al.*, 2010).

Gráfico 1. Estructura química de las fumonisinas FB₁, FB₂ y FB₃



2. Las fumonisinas son producidas principalmente por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (sinónimo *F. moniliforme* Sheldon) (teleomorph, *Gibberella moniliformis*), *Fusarium proliferatum* (Matsushima) y *Fusarium nygamai*, y también por *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* (Marasas *et al.*, 2001; Rheeder *et al.*, 2002).

3. Frisvad *et al.* (2007) detectaron por primera vez FB₂ en cultivos de *Aspergillus niger*. Posteriormente se demostró que las cepas de *A. niger* pueden producir FB₂ y FB₄ en las uvas y las pasas (Morgensen *et al.*, 2010), y también FB₂ en el café (Noonim *et al.*, 2010). Månsson *et al.* (2010) aislaron una nueva fumonisina FB₆, junto con FB₂ de cultivos estacionarios del hongo *A. niger* NRRL 326.

4. La interacción biológica entre la planta de maíz y el hongo es compleja, y puede producir resultados diametralmente opuestos (Yates and Spaks, 2008). El *F. verticillioides* crece dentro de la planta de maíz como endófito (Bacon and Hinton, 1996), interacción que es favorable para el desarrollo de la planta en otros miembros de las gramíneas (Clay, 1990; Yates *et al.*, 2005). Sin embargo, en condiciones difíciles de crecimiento de las plantas, la relación endófito asintomática se puede convertir en una interacción que produce enfermedad y/o micotoxinas (Bacon and Nelson, 1994; Abbas *et al.*, 2006).

5. Los mecanismos que desencadenan la conversión de la relación planta-hongo de una situación asintomática a una que produce enfermedad para la planta y una interacción que produce micotoxinas no se han determinado todavía (Yates and Sparks, 2008). No obstante, es posible que en el proceso intervengan la falta de agua y las infestaciones de insectos, factores que se han asociado al inicio de los aspectos nocivos de esta interacción entre el hongo y la planta (Dowd, 2003).

6. Ross *et al.* (1992) estimaron que la proporción de FB₁/FB₂ en el maíz contaminado de forma natural es aproximadamente de 3:1. Algunos autores estimaron que las fumonisinas FB₁ suponen aproximadamente el 70% del contenido total de fumonisinas en la naturaleza (Nelson *et al.*, 1993 Marasas, 2001; Wang *et al.* 2008a,b). Las fumonisinas FB₃ se pueden encontrar con baja frecuencia y la proporción entre fumonisinas FB₃ y FB₁ varía desde 0,34 a 0,87 (Bacon *et al.*, 1992; Sydenham *et al.*, 1991; Chulze *et al.*, 1999).

7. De datos sobre la presencia de fumonisinas FB₁, FB₂ y FB₃ en 169 muestras de maíz presentados por el Gobierno Chino a este Comité se desprende que, por término medio, las fumonisinas FB₁ suponían el 73,8 % (± 5,6%) y las fumonisinas FB₂, el 16,1 % (± 5,0%) del contenido total de fumonisinas encontrado en las muestras; la proporción media de fumonisinas FB₁:FB₂:FB₃ era de 10:2,3:1.4; alrededor del 99% de las muestras dieron positivo para fumonisinas FB₁ y el 85% para fumonisinas FB₃. En su última evaluación de las fumonisinas, el JECFA (2001) calculó la proporción de FB₁:FB₂:FB₃ en 10:3:1.

8. El alcance de la contaminación del maíz por fumonisinas varía de acuerdo a la ubicación geográfica, las prácticas agrícolas y el genotipo del maíz (Jackson and Jablonski, 2004). En los niveles de fumonisinas influyen también factores ambientales como la temperatura, la humedad, la sequía y el volumen de lluvia durante los períodos de precosecha y cosecha; el almacenamiento de los granos del maíz cosechado en condiciones inadecuadas de humedad puede traducirse en una acumulación adicional de fumonisinas (Bacon and Nelson, 1994). Por lo general se encuentran concentraciones mayores de fumonisinas en los granos de maíz producidos en las regiones más cálidas del mundo (Shelby *et al.*, 1994; Miller, 1999).

ASPECTOS BIOLÓGICOS

9. En 2001, el JECFA evaluó en su 56ª reunión abundantes datos técnicos, bioquímicos y toxicológicos sobre las fumonisinas, así como datos sobre la exposición alimentaria humana a las fumonisinas. Estudios de laboratorio con animales e *in vitro* han mostrado una perturbación del metabolismo de los lípidos como el sitio inicial de la actividad de las fumonisinas. El mecanismo propuesto basado en los lípidos supone la inhibición de la ceramida sintasa, una enzima clave para la biosíntesis de los esfingolípidos, así como modificaciones del ácido graso poliinsaturado y los grupos de fosfolípidos. Ambos conducen por último a alteraciones mediadas por los lípidos que indican el crecimiento, la muerte y la diferenciación de las células y a vías metabólicas decisivas para dicho crecimiento, muerte y diferenciación de las células (FAO/OMS, 2001).

10. En los estudios de especies animales examinados por el JECFA, se comprobó que las fumonisinas FB₁ atacan el hígado y el riñón; en los ratones, el hígado era más sensible que el riñón. El nivel de efecto no observado (NOEL) para el cáncer renal en ratas Fischer 344N fue de 0,67 mg/kg pc/día, y el NOEL para la toxicidad renal fue de 0,2 mg/kg pc/día. El NOEL para el cáncer hepático en ratas BD IX machos fue 0,8 mg/kg pc/día, y el NOEL en ratones hembra B6C3F₁ con alimentación restringida fue 1,9 mg/kg pc/día.

11. El JECFA asignó una ingesta diaria máxima tolerable provisional (IDTMP) de 2 µg/kg pc/día a las fumonisinas FB₁, FB₂ y FB₃, solas o mezcladas, sobre la base de un NOEL de 0,2 mg/kg pc/día y un coeficiente de seguridad de 100.

12. Los estudios de epidemiología humana examinados por el JECFA indican una relación entre la presencia de *Fusarium verticillioides* en el maíz y la frecuencia de cáncer de esófago en diversas regiones del mundo. En los índices de enfermedad influyen las diferencias geográficas de demografía, grupos étnicos, susceptibilidad genética, cultura, economía y condiciones nutricionales, sin embargo, se están observando algunos factores comunes de riesgo, como que el maíz sea el principal alimento básico y una situación socioeconómica baja. Además, las altas frecuencias de cáncer de esófago se han asociado a una alimentación limitada que consta principalmente de trigo o maíz y a un contenido bajo de algunos minerales y vitaminas.

13. La evaluación del JECFA incluyó informes de índices más altos de defectos en el tubo neural (DTN) en zonas de Sudáfrica, China y los Estados Unidos, en momentos en que los alimentos a base de maíz consumidos contenían concentraciones relativamente elevadas de fumonisinas. Dado que la deficiencia de folato se ha asociado con la formación de DTN, la obstrucción de la ingesta de folato por las fumonisinas puede haber sido un factor a este respecto (FAO/OMS, 2001).

14. En un estudio más reciente realizado en China se investigó el estado de contaminación por FB₁ en muestras de alimentos en zonas de elevada y baja frecuencia de cáncer de esófago y de hígado (Sun *et al.*, 2007). Se encontraron concentraciones más altas de fumonisinas en las zonas de frecuencia elevada de cáncer, lo que indica una posible contribución de las fumonisinas FB₁ en las carcinogénesis humanas de esófago y hepáticas.

15. En un estudio del perfil toxicológico de las fumonisinas en animales de laboratorio y estudios epidemiológicos en personas, Marasas *et al.* (2004) señalaron que las fumonisinas son posibles factores de riesgo de DTN, anomalías cranofaciales y otros defectos congénitos que se originan en la cresta neural. Esto se confirmó posteriormente en un estudio de Missmer *et al.* (2006) con mujeres mexicano-estadounidenses, en el que se encontró una asociación entre un índice creciente de esfingandina/esfingosina (Sa:So) en suero materno, con riesgo mayor de DTN en su descendencia.

16. Theumer *et al.* (2002) demostraron que la ingesta subcrónica de FB₁ podía afectar al intestino delgado y alterar el perfil de las interleucinas y algunas de las principales funciones de los macrófagos en la actividad

antitumoral en ratas. En estudios *in vitro* posteriores se observó que la exposición conjunta a fumonisinas y aflatoxinas B₁ (AFB₁) producía una toxicidad hepática mayor respecto a su suministro individual, e inducía apoptosis y hepatocitos mitóticos. Además, la mezcla de fumonisinas y AFB₁ provocó distintos efectos inmunobiológicos en comparación con la acción individual de las mismas toxinas (Theumer *et al.* 2003). Si bien el intestino absorbe y metaboliza insuficientemente las fumonisinas FB₁, algunos estudios han mostrado que inducen trastornos intestinales (dolor abdominal o diarrea) (Bouhet and Oswald, 2007).

17. El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) clasificó las fumonisinas FB₁ como un posible cancerígeno para el ser humano (Grupo 2B) (IARC, 2002).

PLANES DE MUESTREO

18. En 2001 el JECFA evaluó un estudio de Whitaker *et al.* (1998) en el que se describe la varianza del muestreo asociada al análisis de maíz sin cáscara para detectar las fumonisinas. En este estudio la muestra global fue de unos 45 kg, tomada de 24 lotes de maíz sin cáscara cosechado en 24 campos de Carolina del Norte (Estados Unidos). Cada muestra global se dividió con un divisor en 32 muestras de análisis de 1,1 kg, que se tritularon en un molino Romer. Un muestreo inclusivo utilizado para determinar la variación fue: selección de 10 lotes con una gran variedad de concentraciones de fumonisinas; de cada lote se tomaron aleatoriamente 10 muestras de análisis trituradas, y de cada una se tomaron dos porciones de 25-g por división de muestras. Se determinaron las fumonisinas FB₁, FB₂, y FB₃ con el método oficial 995.15 de la AOAC. En el muestreo, preparación de las muestras y varianzas analíticas se encontró que había funciones de concentración de fumonisinas que se describen en el Anexo I mediante las ecuaciones 1, 2 y 3, respectivamente.

19. En un lote dado con un nivel de contaminación de 2 mg/kg, el coeficiente de variación (CV) asociado con el muestreo (muestra de maíz sin cáscara de 1,1 kg) fue del 17%, el CV asociado con la preparación de la muestra (molino Romer y porción de ensayo de 25 g) fue del 9,1%, y el CV de análisis (HPLC y 1 alícuota cuantificada) fue del 9,7%. Estos valores eran independientes del tipo de fumonisinas. El coeficiente de variación asociado con el procedimiento de ensayo total era del 45%, que era del mismo orden de magnitud que en la medición del contenido de aflatoxinas en el maíz sin cáscara en un procedimiento de ensayo similar.

20. En el Cuadro 1 figura el plan de muestreo para el análisis de las fumonisinas en diversos productos, presentado en el informe del JECFA. Este plan supone que se deben tomar muestras de un mínimo de 30 lotes de alimentos de cada país o región; el coeficiente de variación del plan de muestreo no debe ser superior al 30%, y el coeficiente de variación del método analítico completo no debe superar el 10%.

Cuadro 1 - Planes de muestreo propuestos para el análisis de fumonisinas (FAO/OMS, 2001)

| Producto | Incrementos (n x y gramos) | Tamaño agregada (kg) | Notas |
|---|----------------------------|----------------------|--|
| Maíz entero (descascarado) | 50 x 100 | 5,0 | Whitaker <i>et al.</i> (1998): Variación del muestreo para las fumonisinas similar al documentado para las aflatoxinas. |
| Maíz en mazorca | 50 mazorcas | 7,5 | Suponiendo que el centro de la mazorca representa alrededor del 30% del peso total de la mazorca y que una mazorca tiene alrededor de 100 g de granos. |
| Harina de maíz, sémola de maíz, maíz granulado, alimentos de maíz elaborado (por ej. hojuelas de maíz, hojuelas de tortilla, palomitas, harinas para panecillos, almidón) | 10 x 100 | 1,0 | Se supuso que la varianza de las muestras para estos productos fue similar a la asociada a las aflatoxinas en piensos triturados; plan de muestro recomendado asociado con una precisión del muestreo de 12,5% para las aflatoxinas en piensos triturados. |

21. Los rendimientos de varios tipos de planes de muestreo de fumonisinas para maíz descascarado se indican en el Anexo I para tamaños de muestras de 1, 2 y 5 kg y niveles máximos de 1 mg/kg, 2 mg/kg, 5 mg/kg y 10 mg/kg. La curva característica operatoria (CO) que describe el rendimiento de cada plan de muestreo se determinó utilizando las ecuaciones 1, 2 y 3, la distribución binomial negativa (Whitaker *et al.*, 1998 and Whitaker *et al.*, 2007) para calcular las curvas características operatorias.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

22. Las fumonisinas son moléculas polares, solubles en agua y en disolventes polares y, por tanto, son idóneas para su determinación mediante HPLC de fase inversa. Dado que carecen de un importante cromóforo UV se pueden detectar concentraciones bajas de fumonisinas después de derivar extractos de muestras seguido de detección por fluorescencia. En general, las fumonisinas pueden extraerse del maíz o de los productos a base de maíz con agua metanol o agua acetonitrilo. Por lo general se utilizan cartuchos de limpieza C18, SAX o columnas de inmunoafinidad (Sydenham *et al.*, 1996; Solfrizzo *et al.*, 2001, Caldas and Silva, 2007). El límite de cuantificación (LdC) de los métodos HPLC/fluorescencia oscila entre 0,02 µg/kg y 0,5 µg/kg. HPLC/fluorescencia es el método oficial [995.15] de la AOAC-IUPAC para los granos de maíz en concentraciones de 0,5 µg/g - 8 µg/g de FB₁ ó 0.8 µg/g - 12,8 µg/del total de fumonisinas (Sydenham *et al.*, 1996c).

23. Los métodos ELISA han recibido mucha atención recientemente porque se pueden utilizar con fines de análisis rápido sobre el terreno o en laboratorio (Castells *et al.*, 2008). Maragos *et al.* (2001) detectaron fumonisinas FB₁ con detección por polarización de fluorescencia, con un LdD de 0,5 µg/kg. Wang *et al.* (2008b) extrajeron fumonisinas FB₁, FB₂, FB₃ y FB₄ con ACN:agua y las analizaron mediante HPLC aunado a un detector de láser dispersivo.

24. En los últimos años se han utilizado mucho los métodos LC/MS o LC/MS-MS porque proporcionan un análisis cuantitativo, así como confirmación de la identidad de las fumonisinas. Silva *et al.* (2009) han demostrado que LC/MS-MS proporcionan mayor sensibilidad (12 µg/kg para FB₁ y FB₂) si se compara con LC/MS (40 µg/kg para ambos tipos de fumonisinas), y detección fluorescente (20 µg/kg para FB₁ y 15 µg/kg para FB₂), y se demostró también que son más precisos.

25. Las fumonisinas enlazadas con almidones y proteínas observadas en alimentos sometidos a tratamiento térmico durante la elaboración, como los cereales para el desayuno y las tortillas, no se pueden detectar mediante un análisis convencional. En un método descrito por Kim *et al.* (2003), las FB₁ enlazadas a proteínas se extrajeron con 1% de sodio dodecilsulfato (SDS), la fumonisina enlazada se hidrolizó con 2 N KOH, el extracto se limpió en un cartucho polimérico OASIS y las fumonisinas se determinaron mediante HPLC, como HFB₁ (FB₁ hidrolizada). Park *et al.* (2004) mejoraron ulteriormente este método elaborando un complejo de SDS con azul de metileno y eliminando su interferencia en el análisis de HPLC.

PRESENCIA EN LOS ALIMENTOS

26. La presencia mundial de fumonisinas en los alimentos está bien documentada y reseñada en la bibliografía y por el JECFA (FAO/OMS, 2001). Si bien las fumonisinas aparecen principalmente en el maíz y productos a base de maíz, la presencia natural esporádica de fumonisinas en otros productos alimenticios, como el sorgo, la cebada, el arroz y el café está documentada (Noonim *et al.*, 2010; Ghali *et al.*, 2009; Park *et al.*, 2009). Debido a que son solubles en agua es improbable que se acumulen fumonisinas en los tejidos animales, por lo cual no se han detectado o se han encontrado en concentraciones en extremo bajas en la leche, huevos y carne (Prelusky *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 1996). Se han detectado concentraciones bajas de fumonisinas en cerveza comercial, probablemente a causa de la utilización de maíz granulado en vez del uso común de cebada o además del uso de ésta en el proceso de elaboración de la cerveza (Scott and Lawrence, 1995; Hlywka and Bullerman, 1999, Maenetje *et al.*, 2007).

27. La contaminación con concentraciones más bajas de fumonisinas detectada en alimentos que han recibido tratamiento térmico, como la harina de maíz precocida, muestras de aperitivos y hojuelas de maíz, citada en numerosos estudios se puede explicar por las fumonisinas enlazadas que se forman durante la elaboración y que no se pueden detectar con los métodos analíticos de costumbre (Seefelder *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2002). Kim *et al.* (2003) encontraron un promedio de 2,6 veces más FB₁ presentes en fase enlazada que las FB₁ extraíbles de las 15 muestras analizadas de alimentos a base de maíz elaborados con álcalis, tales como hojuelas de tortilla y de maíz.

28. El Cuadro 2 muestra datos sobre la presencia de fumonisinas en maíz en algunos países tomados de trabajo publicado en la bibliografía. Los estudios abarcan el maíz que se ha cosechado en los últimos 10 años (el año de cosecha empieza desde 1999). Las muestras se tomaron en el campo, en almacenes, en el mercado y/o en el hogar. Sólo se analizó FB₃ en algunos estudios. En la mayoría de los estudios se detectó FB₁ en todas las muestras analizadas; la concentración media variaba ampliamente entre los estudios, desde 0,5 mg/kg (muestras del mercado en China o del campo en Croacia) hasta 15 mg/kg en Italia (muestras del campo).

Cuadro 2: Presencia de fumonisinas en el maíz citada en la bibliografía

| País | Origen | Fumonisinas | Analizado/positivo | Año de cosecha | LdD/LdC mg/kg | Mín., mg/kg | Máx., mg/kg | Media, mg/kg | SD (mg/kg) | Ref. |
|-------------------------|-------------------------------|---|--------------------|----------------|---------------|-------------|-------------|------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| Brasil (SC) | Campo | FB ₁ | 76/76 | 2000 | NR | NR | NR | 1,89 | 1,9 | Westhuizen <i>et al.</i> , 2003 |
| | | FB ₂ | 76/76 | | NR | NR | NR | 0,7 | 0,76 | |
| | | FB ₃ | 76/76 | | NR | NR | NR | 0,28 | 0,28 | |
| | | total | 76/76 | | NR | 0,02 | 18,74 | 2,87 | 0,287 | |
| Brasil (Paraná) | Campo, recepción, pre-secado | FB ₁ | 490/490 | 2003-2004 | 0,027/- | 0,03 | 12,68 | 1,53 | NR | Silva <i>et al.</i> , 2008 |
| | | FB ₂ | 490/344 | | 0,035/- | <0,035 | 7,89 | 0,775 | NR | |
| | | Total | 490/490 | | - | 0,03 | 18,78 | 1,92 | NR | |
| Brasil (MT, RS, BA, SP) | Recién cosechado | FB ₁ | 200/196 | 2005 | -/0,015 | <0,015 | 9,67 | 1,75 | 58% de la suma de 149 >2 | Rocha <i>et al.</i> , 2009 |
| | | FB ₂ | 200/149 | | | <0,015 | 3,16 | 0,48 | | |
| China | Hogar | FB ₁ | 259/230 | 2001-2002 | 0,016/- | <0,016 | 25,5 | 1,59 | NR | Sun <i>et al.</i> , 2007 |
| China | Mercado | FB ₁ | 65/28 | 2005 | -/0,03 | 0,21 | 1,8 | 0,48 | NR | Wang <i>et al.</i> , 2008a |
| China (Linxian) | Mercado, granero, hogar | FB ₁ | 104/42 | 2005-2006 | -/3 ng/μL | < 0,025 | 3,2 | 0,735 | NR | Wang <i>et al.</i> , 2008b |
| China | Campo | FB ₁ | 282/281 | 2005 | 0,002/- | < 0,02 | 71,12 | 6,66/1,57 ^d | NR | Gong <i>et al.</i> , 2009 |
| Croacia | Campo | FB ₁ | 49/49 | 2002 | 0,01/- | 0,142 | 1,378 | 0,459 | 0,311 | Domijan <i>et al.</i> , 2005 |
| | | FB ₂ | 49/3 | | 0,01/- | 0,068 | 3,08 | 68,4; 0,109; 3,08 | | |
| Guatemala | Campo, almacén, mercado | FB ₁ | 1421/572 | 2000-2004 | 0,3/- | NR | NR | 0,935 | NR | Torres <i>et al.</i> , 2007 |
| | Mercados locales | FB ₁ +FB ₂ +FB ₃ | 236/209 | 2005 | NR | NR | 43,08 | 3,55 | 0,39 | |
| Italia | Ensayos de campo | FB ₁ | 40/40 | 2004 | -/0,004 | 0,37 | 64,15 | 15,05 | 2,08* | Cavaliere <i>et al.</i> , 2007 |
| | | FB ₂ | 40/40 | | -/0,002 | 0,19 | 37,09 | 6,74 | 1,02* | |
| | | FB ₃ | 40/40 | | NR | 0,04 | 16,69 | 2,76 | 0,36* | |
| Irán | Pienso y consumo humano | FB ₁ | 52/52 | 2000 | 0,01/- | <0,01 | 11,02 | 2,04 | NR | Ghiasian <i>et al.</i> , 2006 |
| | | FB ₂ | 52/18 | | 0,01/- | <0,01 | 3 364 | 0,558 | NR | |
| | | FB ₃ | 52/16 | | 0,01/- | <0,01 | 0,9 | 0,153 | NR | |
| Irán | Maíz desecado | FB ₁ | 49/48 | 2000 | 0,014/- | <0,014 | 12,9 | 6,14 | 3,08 | Yazdanpanah <i>et al.</i> , 2006 |
| España | de Argentina | Total (B ₁ +B ₂ +B ₃) | 92/92 | 2002-2004 | 0,025/- | 0,337 | 10,61 | 2,60 | 1,81 | Castells <i>et al.</i> , 2008 |
| África Occidental | 0 a 6 meses de almacenamiento | FB ₁ +FB ₂ +FB ₃ | 144/ NR | 1999-2003 | 0,25/- | NR | NR | 1,90 ^a | NR | Fandohan <i>et al.</i> , 2005 |

a. media de 36 conjuntos de datos; NR= no citada; * SD más bajo (0,05); PHC=primario; carcinoma hepatocelular; c. Total/ FB₁ = 1.32; d. media/mediana

29. Doce países de todo el mundo presentaron información al Comité sobre los niveles de fumonisinas en maíz, productos a base de maíz y otros productos. En el Cuadro 3 se presenta un resumen de la información recibida.

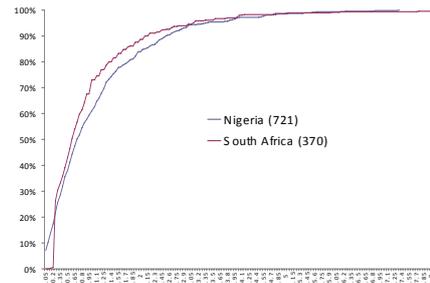
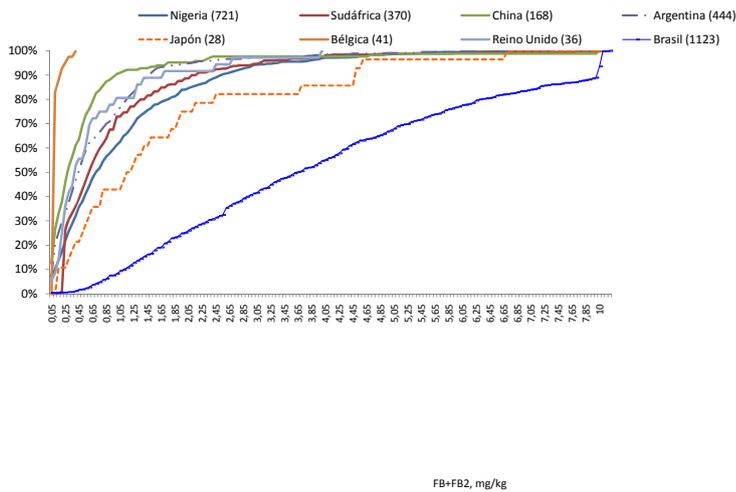
Cuadro 3. Datos sobre los niveles de fumonisinas presentados por gobiernos nacionales

| País | Productos/muestras analizados | Fumonisinias | Período de muestreo |
|-----------------------------|---------------------------------------|--|---------------------|
| Argentina | Maíz | FB ₁ y FB ₂ | 2005-2007 |
| Australia | Productos de maíz y otros productos | FB ₁ y FB ₂ | 2003 |
| Brasil | Maíz | FB ₁ y FB ₂ | 1999 - 2006 |
| Bélgica | Maíz, sus productos y otros productos | FB ₁ , FB ₂ y FB ₃ | 2008 -2009 |
| China | Maíz y otros productos | FB ₁ , FB ₂ y FB ₃ | 2008-2009 |
| Finlandia | Productos de maíz | FB ₁ y FB ₂ | 2006-2009 |
| Japón ^a | Maíz, sus productos y otros productos | FB ₁ , FB ₂ y FB ₃ | 2004-2009 |
| Nigeria | Maíz | FB ₁ | 2003 |
| Noruega | Maíz y otros productos | FB ₁ , FB ₂ y FB ₃ | 1999-2001 |
| Sudáfrica | Maíz | Total fumonisinas (FB ₁ + FB ₂ + FB ₃) | 2003 - 2008 |
| Reino Unido | Maíz y sus productos | FB ₁ y FB ₂ y FB ₃ | 2003 - 2009 |
| Estados Unidos ^b | Maíz y sus productos | FB ₁ y FB ₂ | 2004 - 2008 |

^a. Datos del Ministerio de Sanidad, Trabajo y Bienestar, y el Ministerio de Agricultura, Bosques y Pesca; ^b datos resumidos

30. En el Gráfico 2 se muestran las distribuciones de los niveles de FB₁+FB₂ en el maíz en Argentina, Bélgica, Brasil, China, Japón, Nigeria, Sudáfrica y Reino Unido. Cuando se remitieron solamente datos sobre FB₁ o el total de fumonisinas (FB₁+FB₂+FB₃), FB₁ y/o FB₂ se estimaron en base al porcentaje de FB₁:FB₂:FB₃ de 10:3:1 (FAO/OMS, 2001). A excepción de Brasil, las distribuciones eran asimétricas positivamente, extendiéndose el extremo asimétrico hacia valores más elevados. Utilizando la prueba Chi-cuadrado, estas poblaciones no encajaban ($p < 0.01$) en la distribución normal, lognormal y gama. Tampoco encajaban en la distribución normal utilizando la prueba Shapiro-Wilk. La distribución de los datos de Brasil es claramente diferente de las encontradas para los demás países. La distribución de los datos de Nigeria y Sudáfrica es similar, probablemente debido al clima y las prácticas agrícolas similares.

Gráfico 2. Distribución acumulativa de FB₁+FB₂ en el maíz en datos presentados por los gobiernos nacionales. El número de muestras analizadas se indica entre paréntesis. Las distribuciones acumulativas de Nigeria y Sudáfrica se indican detalladamente



31. El Cuadro 4 muestra un resumen descriptivo de los datos sin elaborar recibidos. Se analizaron entre 36 muestras (Reino Unido) y 1123 muestras (Brasil), siendo el número de muestras positivas (\geq LdD/LdC de FB1) entre 0% y 100% (Cuadro 4). La media era inferior o en torno a 1 mg/kg en todos los casos, excepto en Brasil, donde se encontró una media de 4,4 mg/kg. También se citó un valor máximo más alto en Brasil (45,4 mg/kg). Los datos resumidos presentados por los Estados Unidos figuran en el Cuadro 5.

Cuadro 4. Resumen descriptivo de los datos del nivel de fumonisinas (F_1+B_2) de datos sin elaborar presentados por los gobiernos nacionales

| País | Analizadas | %Positivo | Media ^a | Sd | Mediana | 25° P | 75° P | Mín. | Máx. |
|----------------------|--------------|-------------|--------------------|-------|---------|-------|-------|-------|-------|
| Argentina | 444 | 90 | 0,73 | 1,1 | 0,44 | 0,15 | 1,0 | 0,01 | 15,8 |
| Bélgica | 41 | 98,9 | 0,10 | 0,064 | 0,075 | 0,075 | 0,086 | 0,075 | 0,395 |
| Brasil | 1 123 | 99,7 | 4,4 | 3,4 | 3,64 | 2,0 | 5,76 | 0,045 | 45,4 |
| China | 168 | 31,7 | 0,62 | 1,7 | 0,28 | 0,087 | 0,560 | 0,002 | 19,1 |
| Japón | 28 | 100 | 1,67 | 1,67 | 1,18 | 0,52 | 2,0 | 0,11 | 6,7 |
| Nigeria ^b | 721 | 97,2 | 1,1 | 1,13 | 0,70 | 0,290 | 1,42 | 0,01 | 7,34 |
| Noruega | 12 | 0 | 0,04 | - | 0,02 | - | - | 0,02 | 0,02 |
| Sudáfrica | 370 | 75,0 | 0,96 | 1,15 | 0,59 | 0,230 | 1,17 | 0,144 | 11,7 |
| Reino Unido | 36 | 100 | 0,69 | 0,84 | 0,37 | 0,203 | 0,79 | 0,019 | 3,97 |
| Total | 2 994 | 76,9 | 1,1 | | | | | | |

Sd=Desviación estándar. A. La media se calculó teniendo en cuenta muestras no detectadas al límite de detección o, cuando se proporcionó, el límite de cuantificación; b. valores $< 0,01$ mg/kg se consideró no detectado.

Cuadro 5. Resumen de los datos sobre FB₁+FB₂ (mg/kg) en maíz presentados por Estados Unidos^a

| Año | Analizadas | % positivo | Media | Sd | Mín. | Máx. | % > 2 |
|--------------|------------|-------------------------|-------------------------|-----------|------------|-------------|-------------------------|
| 2004 | 64 | 46,9 | 0,91 | 0,79 | 0,11 | 4,38 | 23,3 |
| 2005 | 39 | 59,0 | 0,31 | 0,31 | 0,1 | 2,44 | 4,4 |
| 2006 | 41 | 63,4 | 0,82 | 0,91 | 0,11 | 4,68 | 19,2 |
| 2007 | 19 | 78,9 | 1,1 | 0,94 | 0,13 | 5,53 | 46,7 |
| 2008 | 24 | 87,5 | 0,48 | 0,33 | 0,11 | 1,48 | 0 |
| Total | 187 | 67,1^b | 0,72^b | NR | 0,1 | 4,68 | 18,7^b |

^a Las muestras fueron recogidas por personal de campo de la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) durante investigaciones rutinarias de empresas que almacenan y/o distribuyen alimentos nacionales conforme al Programa de Cumplimiento del FDA para Micotoxinas en Alimentos Nacionales e Importados utilizando procedimientos analíticos de AOAC Int.; LdC = 0,1 mg/kg; ^b Media calculada de los valores anteriores.

32. El Cuadro 6 muestra el porcentaje de las muestras de maíz analizadas en cada país con FB₁+FB₂ superior a ciertos niveles. Por término medio, un 33 % de las muestras analizadas eran superiores a 1 mg/kg, el 18 % superior a 2 mg/kg y el 5% superior a 5 mg/kg. Más del 90 % de las muestras brasileñas eran superiores a 1 mg/kg.

Cuadro 6. Porcentaje de muestras de maíz con niveles de FB₁+FB₂ superiores a ciertos niveles, en mg/kg, según los datos sin elaborar presentados por los gobiernos nacionales

| País | Muestras analizadas | % > 1 | % > 2 | % > 4 | % > 5 | % > 10 |
|--------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Argentina | 444 | 25,0 | 5,2 | 1,8 | 0,9 | 0,2 |
| China | 168 | 9,5 | 4,8 | 2,4 | 1,2 | 0,6 |
| Bélgica | 41 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Brasil | 1 123 | 91,8 | 74,8 | 45,2 | 32,8 | 6,4 |
| Japón | 28 | 57,1 | 25,9 | 14,3 | 3,6 | 0 |
| Nigeria | 721 | 38,8 | 16,0 | 3,1 | 1,4 | 0 |
| Sudáfrica | 370 | 27,0 | 11,4 | 2,7 | 1,4 | 0,3 |
| Reino Unido | 36 | 18,4 | 8,3 | 0 | 0 | 0 |
| EE.UU. | 187 | - | 18,7 | - | - | - |
| Total | 3 118 | 33,4^a | 18,3^a | 8,7^a | 5,2^a | 0,9^a |

a. Media calculada de los valores citados

33. En el Cuadro 7 se muestra un resumen de los datos sobre productos de maíz presentados por gobiernos nacionales. La variedad de productos analizados es muy elevada y solamente se enumeran los productos más comunes. Por lo general, los niveles medios de FB₁+FB₂ eran inferiores a 0,10 mg/kg. Los niveles medios más altos se encontraron en sémola, harina o polenta de maíz, productos con gránulos de tamaño diferente obtenidos tras la desgerminación y molienda del grano. En EE.UU., el 9,6 % de las muestras de sémola de maíz tenía niveles superiores a 2 mg/kg y el 6,4 % de las muestras de harina de maíz superiores a 2 mg/kg. Los niveles encontrados en maíz sin madurar (maíz dulce o maíz en conserva) eran bajos, a excepción de los datos de EE.UU. (media de 0,67 mg/kg). Los cereales para el desayuno, tortillas y palomitas tenían niveles medios entre 0,20 mg/kg y 0,60

mg/kg en la mayoría de los casos.

Cuadro 7. Niveles de fumonisinas en productos de maíz presentados por gobiernos nacionales

| País | Producto | Analizadas | % positivo ^a | Resultado | Mín. ^b | Máx. | Media ^c | Sd |
|-------------|--|------------|-------------------------|-----------|-------------------|--------|--------------------|-------|
| Bélgica | Alimentos para bebé | 40 | 0 | B1+B2 | <0,075 | <0,075 | - | - |
| Finlandia | Alimentos para bebé | 1 | 0 | B1+B2 | <0,03 | <0,03 | - | - |
| Reino Unido | Alimentos para bebé | 46 | 26 | B1+B2 | <0,04 | 0,32 | 0,06 | 0,05 |
| Australia | Hojuelas de maíz/cereales para el desayuno | 12 | 0 | B1+B2 | <0,10 | <0,10 | - | - |
| Bélgica | Hojuelas de maíz/cereales para el desayuno | 51 | 39,2 | B1+B2 | <0,075 | 6,7 | 0,238 | 0,93 |
| Finlandia | Hojuelas de maíz/cereales para el desayuno | 9 | 66,7 | B1+B2 | <0,03 | 0,64 | 0,07 | 0,08 |
| Japón | Hojuelas de maíz/cereales para el desayuno | 101 | 40,6 | B1 | <0,01 | 0,103 | 0,015 | 0,012 |
| | | | | B2 | <0,01 | 0,019 | 0,010 | 0,001 |
| Reino Unido | Hojuelas de maíz/cereales para el desayuno | 64 | 87,5 | B1+B2 | <0,02 | 0,73 | 0,13 | 0,13 |
| EE.UU. | Hojuelas de maíz/cereales para el desayuno | 21 | 57,1 | B1+B2 | <0,2 | 2,3 | 0,51 | - |
| Bélgica | Hojuelas de maíz | 28 | 53,6 | B1+B2 | <0,075 | 0,30 | 0,17 | 0,29 |
| Finlandia | Hojuelas de maíz | 9 | 66,7 | B1+B2 | <0,03 | 0,20 | 0,07 | 0,07 |
| Japón | Aperitivo de maíz | 90 | 85,6 | B1 | <0,002 | 1,67 | 0,068 | 0,18 |
| | | | | B2 | <0,002 | 0,60 | 0,019 | 0,064 |
| Reino Unido | Aperitivo de maíz | 46 | 76,1 | B1+B2 | <0,02 | 0,30 | 0,09 | 0,06 |
| Finlandia | Pan/bizcocho de maíz | 5 | 40 | B1+B2 | <0,03 | 0,52 | 0,127 | 22 |
| Reino Unido | Pan/pasta de maíz | 11 | 63,6 | B1+B2 | <0,02 | 1,05 | 0,23 | 0,35 |
| Finlandia | Maíz, en conserva | 5 | 0 | B1+B2 | <0,03 | <0,03 | - | - |
| EE.UU. | Maíz, en conserva | 15 | 80 | B1+B2 | <0,2 | 2,57 | 0,67 | - |
| Australia | Maíz dulce | 4 | 0 | B1+B2 | <0,1 | <0,1 | | |

ANEXO III

| País | Producto | Analizadas | % positivo ^a | Resultado | Mín. ^b | Máx. | Media ^c | Sd |
|-------------|---------------------------------|------------|-------------------------|-----------|-------------------|-------|--------------------|-------|
| Japón | Maíz dulce | 177 | 8,5 | B1 | <0,01/ <0,002 | 0,036 | 0,008 | 0,004 |
| | | | | B2 | <0,01/ <0,002 | 0,015 | 0,008 | 0,004 |
| Reino Unido | Maíz dulce/tierno | 32 | 90,6 | B1+B2 | <0,02 | 0,25 | 0,08 | 0,05 |
| Finlandia | Gránulos de maíz | 2 | 100 | B1+B2 | 0,03 | 0,138 | 0,084 | - |
| Japón | Gránulos de maíz | 53 | 100 | B1 | <0,002 | 1,38 | 0,15 | 0,25 |
| | | | | B2 | <0,002 | 0,59 | 0,042 | 0,09 |
| EE.UU. | Gránulos de maíz | 45 | 51,1 | B1+B2 | <0,2 | 1,3 | 0,345 | - |
| EE.UU. | Harina de maíz | 130 | 61,5 | B1+B2 | <0,2 | 3,6 | 0,52 | - |
| Finlandia | Harina de maíz | 7 | 85,7 | B1+B2 | <0,03 | 1,68 | 0,51 | 0,72 |
| Reino Unido | Harina de maíz | 69 | 87 | B1+B2 | <0,04 | 2,7 | 0,49 | 0,57 |
| Reino Unido | Sémola y polenta de maíz | 22 | 100 | B1+B2 | 0,04 | 7,8 | 1,2 | 1,8 |
| EE.UU. | Sémola de maíz ^c | 268 | 62,7 | B1+B2 | <0,2 | 4,07 | 0,53 | - |
| Bélgica | Polenta | 20 | 90 | B1+B2 | <0,075 | 1,85 | 0,59 | 0,58 |
| Japón | Almidón de maíz | 35 | 28,6 | B1 | <0,002 | 0,063 | 0,004 | 0,010 |
| | | | | B2 | <0,002 | 0,017 | 0,003 | 0,003 |
| Bélgica | Palomitas | 60 | 20 | B1+B2 | <0,075 | 0,26 | 0,087 | 0,034 |
| China | Palomitas | 3 | 100 | B1+B2 | 0,044 | 0,246 | 0,105 | 0,12 |
| Finlandia | Palomitas | 2 | 0 | B1+B2 | <0,03 | - | - | - |
| Japón | Palomitas | 69 | 76,8 | B1 | <0,002 | 0,354 | 0,049 | 0,070 |
| | | | | B2 | <0,002 | 0,094 | 0,012 | 0,016 |
| Reino Unido | Palomitas | 9 | 44,4 | B1+B2 | <0,2 | 0,58 | 0,13 | 0,19 |
| EE.UU. | Palomitas | 109 | 16,5 | B1+B2 | <0,02 | 1,63 | 0,59 | - |
| Finlandia | Taco | 1 | 100 | B1+B2 | 0,30 | - | - | - |
| Bélgica | Tortilla | 30 | 36,7 | B1+B2 | <0,075 | 0,84 | 0,20 | 0,27 |
| Reino Unido | Tortilla/tortilla trocitos/taco | 56 | 92,8 | B1+B2 | <0,02 | 1,4 | 0,27 | 0,24 |

| País | Producto | Analizadas | % positivo ^a | Resultado | Mín. ^b | Máx. | Media ^c | Sd |
|-------------|------------------------|------------|-------------------------|-----------|-------------------|-------|--------------------|--------|
| Japón | Sopa de maíz, líquida | 63 | 0 | B1 | <0,01 | - | - | - |
| | | | | B2 | <0,01 | - | | |
| Japón | Sopa de maíz, en polvo | 46 | 15,2 | B1 | <0,01 | 0,013 | 0,010 | 0,0004 |
| | | | | B2 | <0,01 | - | - | - |
| Reino Unido | Aceite de maíz | 19 | 26,3 | B1+B2 | <0,01 | 0,08 | 0,05 | 0,02 |

^a para FB₁; ^b los niveles < corresponden al LdC de FB₁ y/o FB₂; ^c suponiendo que las muestras < LdC están al LdC; ^d el 9,6 % de las muestras con niveles superiores a 2 mg/kg; ^e el 6,4 % de las muestras con niveles superiores a 2 mg/kg

ASPECTOS AGRÍCOLAS, TECNOLÓGICOS Y COMERCIALES

Enfoques agrícolas

34. El Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas, incluido el anexo sobre fumonisinas (CAC/RCP 51-2003) recomienda que se planifique detenidamente el momento de la cosecha ya que el maíz cultivado y cosechado durante los meses de calor puede tener niveles de fumonisinas considerablemente más altos que el maíz cultivado y cosechado en los meses más frescos del año.

35. Si bien el maíz es muy sensible a la pérdida de agua y sufre cuando la actividad del agua (a_w) llega a 0,98, las especies de *Fusarium* se desarrollan bien por debajo de ese valor y con una a_w de 0,90. De esa forma, en condiciones de sequía el hongo crece muy bien y es en extremo difícil combatir la formación de fumonisinas en los cultivos cuando la infección fúngica se produce antes de la cosecha (Pitt JI, comunicación personal, 2009). La tensión causada por la sequía se puede reducir al mínimo con la irrigación (Cavaliere *et al.*, 2007). Asimismo, se pueden aplicar fertilizantes para reducir al mínimo la falta de nutrientes, y un plantado óptimo y métodos de control de malas hierbas se pueden utilizar para reducir al mínimo la tensión de la población (Hasegawa *et al.*, 2008).

36. Los resultados de investigaciones sobre prácticas agronómicas indican que: a) los índices de infección fúngica son más altos en cultivos sembrados en terrenos en los que antes se cultivó maíz, en particular si quedaron en el terreno residuos de esos cultivos; b) la frecuencia de podredumbre del grano por *Fusarium* es más elevada en climas cálidos en condiciones de sequía; y c) el maíz recién cosechado deberá secarse de inmediato hasta obtener un nivel adecuado de humedad y almacenarse (Bacon and Nelson, 1994; Munkvold and Desjardins, 1997; Warfield and Gilchrist, 1999; Miller, 1994; Fandohan *et al.*, 2005).

37. La infección fúngica y la producción de micotoxinas en los productos orgánicos y ordinarios sigue siendo una cuestión en extremo polémica (Magkos *et al.*, 2006) y no está demostrado científicamente que las diferencias observadas entre los alimentos comunes y los orgánicos conduzcan a un efecto objetivamente mensurable en la salud del consumidor (Ariño *et al.*, 2007).

Estabilidad de las fumonisinas durante la elaboración

38. El efecto de la elaboración en las fumonisinas depende de muchos factores, como la temperatura, la humedad del producto, la concentración de toxinas en el producto crudo y la presencia de otros ingredientes en el alimento elaborado. Las operaciones de elaboración del maíz son: clasificación, molido (seco y húmedo), tratamiento térmico, extrusión y nixtamalización.

39. La clasificación y limpieza pueden reducir la concentración de fumonisinas mediante eliminación del material contaminado, pero no destruyen las micotoxinas. Los granos rotos de maíz contienen concentraciones casi 10 veces mayores de fumonisinas que los granos intactos. Las estrategias para separar los granos sanos de los contaminados comprenden la eliminación del maíz contaminado en la fracción flotante después de aplicar un tratamiento con una solución de cloruro de sodio (Shetty & Bhat, 1999) y seguidamente pasar los granos de maíz almacenados por el equipo de limpieza y después por una mesa de gravedad (Malone *et al.*, 1998). Afolabi *et al.* (2006) propusieron la clasificación visual de los granos de maíz como técnica para que los agricultores de

subsistencia reduzcan la concentración de fumonisinas.

40. El molido en húmedo se usa para obtener almidón, germen y fibras de maíz. El molido en seco da lugar al salvado (mediante eliminación del pericarpio) y el germen, seguido de las fracciones obtenidas disminuyendo el tamaño de las partículas: gránulos, sémola y harina de maíz (Alexander 1987). Durante este procedimiento no se prevé la destrucción de las fumonisinas y aparecen en todas las fracciones, con concentraciones más elevadas en el salvado y el germen (Katta *et al.* 1997, Brera *et al.*, 2004). Rensik (2006) demostró que el germen y el salvado presentaban concentraciones de fumonisinas 29 veces más elevadas que la sémola de maíz y el maíz granulado 13 veces más altas que la harina de maíz y el triple que el maíz entero.

41. Los efectos de la aplicación de calor en la estabilidad de las fumonisinas dependen de los distintos procedimientos, las temperaturas y la duración de la aplicación de calor. Una reducción importante de las concentraciones de fumonisinas se produce durante procedimientos a temperaturas > 150 °C, como los utilizados para la producción en seco o húmedo de sémola de maíz (Scott & Lawrence, 1995), freír las hojuelas de maíz (Jackson *et al.*, 1997), hornear, asar y cocción alcalina (Castelo *et al.* 1998, Jackson *et al.* 1997, Katta *et al.* 1999). De Girolamo *et al.*, (2001) demostraron que los procedimientos de fabricación de hojuelas, cocción y tostado redujeron las concentraciones de FB1 al 48% - 70% y que la adición de glucosa incrementó el porcentaje de reducción casi al 90% durante los procedimientos de cocción y tostado.

42. El procesado por extrusión es muy utilizado en la producción de cereales para el desayuno, aperitivos y alimentos texturizados. Bullerman *et al.* (2007) descubrieron que la mayor reducción de fumonisinas se produce a temperaturas de extrusión de 160° C o más altas y en presencia de glucosa (hasta el 87%). En torno al 60% de las especies de FB1 detectadas en el maíz (fortificado y fermentado) extrudido con glucosa eran *N*-(deoxi-D-fructos-1-yl) FB1, además de las FB1 hidrolizadas (HFB1) y las FB1 *N*-carboximetil (Castelo *et al.* 2001, Bullerman *et al.*, 2008). Seefelder *et al.* (2003) han demostrado que las fumonisinas FB1 y HFB1 se pueden enlazar con polisacáridos y proteínas a través de sus dos cadenas laterales de ácido tricarbálico.

43. Voss *et al.* (2008) evaluaron la toxicidad de maíz granulado con fumonisinas FB₁ añadidas, extrudidas con el 10% de glucosa y suministradas a ratas. Con una excepción, los productos extrudidos a los que se añadieron fumonisinas B₁ y se fermentaron causaron lesiones renales moderadas y reducción del peso de los riñones, efectos comúnmente observados en ratas expuestas a fumonisinas. Las lesiones en ratas alimentadas con gránulos contaminados después de la extrusión con glucosa fueron considerablemente menos graves y no presentaron modificaciones del peso de los riñones. Los autores concluyeron que la extrusión complementada con glucosa puede ser útil para reducir de forma inocua la toxicidad de las fumonisinas en los productos a base de maíz. Lu *et al.* (2002) llegaron a la misma conclusión y mostraron que la glucosa se enlaza con las fumonisinas a través del grupo amino.

44. Dall'Asta *et al.* (2009) mostraron que las concentraciones de fumonisinas enlazadas eran más elevadas que las formas libres en las 21 muestras de productos a base de maíz analizados. La concentración media era de 1,43 mg/kg para los aperitivos, 0,15 mg/kg para la pasta y el pan, y 0,09 mg/kg para hojuelas de maíz. Los autores concluyeron que la presencia de micotoxinas enlazadas o encubiertas debía examinarse durante los estudios de evaluación de riesgos.

45. La nixtamalización es un procedimiento para elaborar masa para tortillas y otros productos de maíz, en el que el maíz se hierve y remoja en una solución de hidróxido de calcio. Este procedimiento puede reducir la concentración de fumonisinas de 50% a 80%, y en su forma hidrolizada se detecta del 35% al 60% de fumonisinas (Burns *et al.*, 2008; Dombrink-Kurtzman *et al.*, 2000). Se ha señalado que un procedimiento modificado de nixtamalización que incorpora diversas combinaciones de peróxido de hidrógeno y bicarbonato de sodio además del hidróxido de calcio produce una reducción del 100% de las FB₁, sin embargo, con un procedimiento de análisis con artemia salina, el producto de masa presentó alrededor del 60% de toxicidad del maíz sin tratar (Park *et al.*, 1996). Burns *et al.* (2008) indicaron que la matriz de interacción del maíz con micotoxinas durante la nixtamalización reduce la biodisponibilidad y la toxicidad de las FB₁ en las ratas.

46. Palencia *et al.* (2003) observaron que las tortillas preparadas con el método tradicional de nixtamalización de las comunidades mayas contenían FB₁, FB₂ y FB₃, y sus contrapartes hidrolizadas. Hubo cantidades equimolares de FB₁ y HFB₁ en las tortillas, pero el total de fumonisinas se redujo un 50%. También se observó una elevación reducida de esfinganina en las células tratadas con extractos de tortillas, en comparación con las células tratadas con extractos de maíz contaminado.

47. La fermentación con etanol del maíz contaminado por fumonisinas degrada muy poco las toxinas, casi todas permanecen en los granos del destilador, en la vinaza y en la fracción soluble del destilador (Bennett and Richard, 1996; Bothast *et al.*, 1992). También se han encontrado fumonisinas en la cerveza, lo que indica que las toxinas persisten en las condiciones (temperatura, pH) predominantes durante el procedimiento de elaboración de la cerveza (Scott & Lawrence, 1995; Scott *et al.*, 1997; Hlywka & Bullerman, 1999).

48. Visconti *et al.* (1996) observaron que las radiaciones gama (15 kGy) esterilizan efectivamente la harina de maíz, pero sólo producen una reducción de alrededor del 20% de su contenido de fumonisinas. Ferreira-Castro *et al.* (2007) observaron que es posible disminuir la concentración de fumonisinas aplicando radiaciones al maíz de 5 ó 10 kGy; sin embargo, a 2 kGy, los hongos sobrevivientes (36%) pueden producir más fumonisinas que los hongos en las muestras de control. Aziz *et al.* (2007) descubrieron que el recuento viable de *Fusarium* en las semillas disminuyó aumentando las dosis de radiación; 7 kGy fue suficiente para destruir por completo las fumonisinas FB1 en el trigo y el maíz.

EXPOSICIÓN HUMANA Y EVALUACIÓN DE RIESGOS

49. Se cree que la exposición a las fumonisinas se produce principalmente a través del consumo de maíz y productos de maíz. La ingesta varía de acuerdo a la cantidad de fumonisinas que hay en el maíz o productos de maíz y a la cantidad de maíz o productos de maíz consumidos por diferentes personas o grupos de la población.

50. El JECFA (FAO/WHO, 2001) hizo una estimación de la ingesta internacional para las FB₁ con datos de la frecuencia en 349 muestras de maíz importado, principalmente, de Europa, América del Sur y los Estados Unidos, y consumido en los Países Bajos. Esta distribución se tomó como representante del maíz disponible en el comercio en todo el mundo. Se observó que los niveles de FB₁ presentes en las muestras analizadas tenían una distribución lognormal, con una media de 1,36 mg/kg. La distribución se conjugó con datos del consumo de alimentos de las dietas regionales del SIMUVIMA/Alimentos correspondientes al maíz (GC 645), que incluyen maíz, harina de maíz, maíz dulce (en la mazorca y granos) y palomitas de maíz.

51. Se examinaron tres hipótesis. En la primera, el consumo per cápita de maíz se combinó con la distribución de la concentración de fumonisinas para obtener una distribución de la ingesta de FB₁. En la segunda hipótesis, se estimó una distribución hipotética del consumo de maíz suponiendo que está distribuido log-normalmente en cada dieta, con una desviación estándar igual al 66% del consumo medio. La tercera hipótesis tenía como finalidad emular la peor situación, en la cual el único cereal que consume la persona es el maíz.

52. La ingesta media de FB₁ en las hipótesis 1 y 2 iba de 0,2 µg/kg pc/día en la dieta europea, a 2,4 µg/kg pc/día en la dieta africana, para un peso corporal de 60 kg. La ingesta de fumonisinas al percentil 97,5° en la hipótesis 2 va de 1,4 µg/kg pc/día en Europa a 16,3 µg/kg pc/día en África. Si se supone una relación de FB₁:FB₂:FB₃ de 10:3:1, el total de la ingesta de fumonisinas (FB₁+FB₂+FB₃) se estimó sumando 40% a la ingesta estimada de FB₁. El total de la ingesta representa el 14% de la IDTMP establecida por el JECFA (2 µg/kg pc/día) en Europa, el 70% de la IDTMP en América Latina y el 160% de la IDTMP en África.

53. La ingesta prevista de fumonisinas en la tercera hipótesis iba de 5,2 µg/kg pc/día en Europa a 10 µg/kg pc/día en el Lejano Oriente. La ingesta del percentil 95° fue de 23 a 47 µg/kg pc/día en estas dietas. El JECFA hizo énfasis en que el número de personas que entran en esta hipótesis es en extremo reducido y consiste principalmente de agricultores rurales de subsistencia, que no son representativos de las poblaciones de las dietas nacionales o regionales del SIMUVIMA/Alimentos.

54. Para este documento de debate se calculó la ingesta diaria de FB₁+FB₂ a través del consumo de maíz en grano (GC 0645: excluidos la harina, el aceite y la cerveza, ya que no se espera que en el aceite y la cerveza queden concentraciones significativas de fumonisinas), de acuerdo a los 13 grupos de alimentos del SIMUVIMA/Alimentos (WHO, 2006), utilizando los niveles medios de 1 mg/kg, 2 mg/kg y 5 mg/kg. La ingesta representó hasta el 1% de la IDTMP en todos los niveles en siete de las 13 dietas. La ingesta más elevada se presentó en las dietas C (África y el Medio Oriente), D (Europa y el Medio Oriente) y M (Europa y América Latina). La ingesta excedió el 100% de la IDTMP sólo en el nivel más alto de FB₁+FB₂, en la dieta C.

Cuadro 8. Estimaciones de la ingesta diaria (en µg/persona) para las fumonisinas en el maíz (GC 645: excluye harinas, aceites y cervezas) en concentraciones de 1, 2 y 5 mg/kg en los 13 grupos de alimentos*

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M |
|---------------------|---|-----|------|------|-----|-----|-----|---|-----|---|-----|---|------|
| 1 mg/kg | | | | | | | | | | | | | |
| Ingesta, µg/persona | 0 | 1,4 | 51,4 | 11,9 | 0,2 | 0,2 | 0,6 | 0 | 0,1 | 0 | 7,7 | 0 | 19,4 |

ANEXO III

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M |
|---------------------------------------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|---|------|
| % IDTMP | 0 | 1 | 40 | 10 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 6 | 0 | 20 |
| 2 mg/kg; | | | | | | | | | | | | | |
| Ingesta, $\mu\text{g}/\text{persona}$ | 0 | 2,9 | 102 | 23,8 | 0,5 | 0,3 | 1,3 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 15,3 | 0 | 38,7 |
| % IDTMP | 0 | 2 | 90 | 20 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 10 | 0 | 30 |
| 5 mg/kg | | | | | | | | | | | | | |
| Ingesta, $\mu\text{g}/\text{persona}$ | 0,1 | 7,2 | 257 | 59,4 | 1,2 | 0,8 | 3,2 | 0,2 | 0,3 | 0,2 | 38,3 | 0 | 96,8 |
| % IDTMP | 0 | 6 | 210 | 50 | 1 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 30 | 0 | 80 |

* Se usó un peso corporal de 60 kg para todos los grupos, con excepción de los grupos G y L (55 kg).

55. El cuadro 9 muestra el cálculo de la ingesta de FB_1+FB_2 a través del consumo de maíz/harina de maíz en concentraciones de 0,5 mg/kg (media observada en la mayor parte del conjunto de datos del Cuadro 7 para la harina de maíz/sémola y polenta), 1 y 2 mg/kg. La ingesta no excedió la IDTMP para ninguna dieta al nivel de 0,5 mg/kg; duplicó con creces la IDTMP en las dos concentraciones más altas para las dietas H (América del Sur y América Central) y I (África septentrional y África oriental).

Cuadro 9. Estimaciones de la ingesta (en $\mu\text{g}/\text{persona}$) para las fumonisinas en la harina de maíz (CF 1255) en concentraciones de FB_1+FB_2 de 0,5, 1 y 2 mg/kg en los 13 grupos de dietas *

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M |
|---------------------------------------|-------|------|-------|------|------|-----|------|-------|-------|------|------|------|------|
| 0,5 mg/kg | | | | | | | | | | | | | |
| Ingesta, $\mu\text{g}/\text{persona}$ | 34,5 | 7,7 | 25,7 | 8,3 | 7,4 | 1 | 144 | 124,4 | 103,4 | 23,9 | 23,1 | 5,3 | 10,8 |
| % IDTMP | 30 | 6 | 20 | 7 | 6 | 1 | 10 | 100 | 90 | 20 | 20 | 5 | 9 |
| 1 mg/kg; | | | | | | | | | | | | | |
| Ingesta, $\mu\text{g}/\text{persona}$ | 68,9 | 15,4 | 51,3 | 16,6 | 14,7 | 2 | 28,8 | 248,8 | 206,7 | 47,8 | 46,2 | 10,5 | 21,5 |
| % IDTMP | 60 | 10 | 40 | 10 | 10 | 2 | 30 | 210 | 170 | 40 | 40 | 10 | 20 |
| 2mg/kg; | | | | | | | | | | | | | |
| Ingesta, $\mu\text{g}/\text{persona}$ | 137,8 | 30,8 | 102,6 | 33,2 | 29,4 | 4,0 | 57,6 | 497,6 | 413,4 | 95,6 | 92,4 | 21,0 | 43,0 |
| % IDTMP | 110 | 30 | 90 | 30 | 20 | 3 | 50 | 410 | 340 | 80 | 80 | 20 | 40 |

* Se usó un peso corporal de 60 kg para todos los grupos, con excepción de los grupos G y L (55 kg).

56. Al considerar la exposición crónica es razonable utilizar las concentraciones medias de FB_1+FB_2 en el maíz en grano (1 mg/kg; cuadros 4 y 5) y la harina de maíz (0,5 mg/kg; Cuadro 7) que figuran en los datos proporcionados por los gobiernos de los países para estimar la ingesta total a partir del consumo de estos dos productos. En este cálculo, la ingesta osciló del 1% de la IDTMP en el grupo de alimentación F al 100% de la IDTMP en el grupo H. La inclusión del germen de maíz (incluido el aceite), la cerveza de maíz y las palomitas de maíz (productos de los cuales hay datos sobre el consumo disponibles en el conjunto de datos de los grupos del SIMUVIMA/Alimentos) con el mismo nivel de contaminación que la harina de maíz no reveló que se excediera la IDTMP. En este caso, el grupo I también presenta una ingesta que llega a la IDTMP. Para los grupos H e I, el consumo de harina de maíz representó más del 90% del total de la ingesta de fumonisinas.

57. En Brasil se hizo una evaluación de la exposición alimentaria crónica a las fumonisinas (F_1+F_2) a partir del consumo de productos a base de maíz, con una encuesta nacional del presupuesto de las familias, para estimar los datos de consumo (Caldas and Silva, 2007). La concentración media de F_1+F_2 en la sémola/harina de maíz fue de 3,2 mg/kg. Esta ingesta representó el 24,1% de la IDTMP para el total de la población, y el 355% de la IDTMP sólo para los consumidores (de grandes cantidades del producto), lo que indica la necesidad de establecer niveles reglamentarios de inocuidad para las fumonisinas en el maíz y los productos de maíz en el Brasil.

58. En la estimación de la ingesta alimentaria de FB_1+FB_2 en Europa, realizada por una tarea de cooperación científica de la UE, la ingesta diaria promedio representó de 0,8% a 13,2% de la IDTMP para toda la población, y 22,3% de la IDTMP para los niños (de 3 a 14 años). En el caso de los adultos, las bebidas alcohólicas proporcionaron más del 50% de la ingesta; en los niños, los cereales aportaron más del 90% de la ingesta (Leblanc *et al.*, 2005). En los Países Bajos se estimó con moderación que la ingesta diaria de fumonisinas B_1 del 97% de las personas con intolerancia al gluten es por lo menos 1 μg , y la ingesta del 37% de por lo menos 100 μg , mientras que las proporciones de la población general expuesta a estas concentraciones de fumonisinas B_1 fueron de 49% y 1%, respectivamente (de Nijs *et al.*, 1998b). En Dinamarca, una estimación de un "comelón" muestra que la ingesta de fumonisinas no supera los 0,4 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$ (Petersen and Thorup, 2001).

59. En un estudio realizado en los Estados Unidos se concluyó que no se prevé riesgo de toxicidad renal humana con los niveles de contaminación del maíz y las pautas de consumo de la población de consumidores exclusivos de los Estados Unidos. También se indicó que reducir el consumo de maíz produciría efectos mayores de reducción de riesgo de daños renales humanos que reducir la concentración de fumonisinas permitida en el maíz por un factor análogo (Humpreys *et al.*, 2001).

60. En Guatemala, Torres *et al.* (2007) documentaron que el 50% de las muestras de maíz tomadas de los mercados en 2005 contenían concentraciones de fumonisinas que se traducirían en exposiciones que excederían la IDTMP. La ingesta de las mujeres en tres zonas diferentes del país fue de 3,5 a 15,6 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$.

61. Yazdanpanah *et al.* (2006) estimaron la exposición de personas de dos provincias de Irán a las FB_1 y FB_2 por consumo de maíz de 1998 a 2000. La ingesta media fue de 0,009 a 0,34 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$, con un máximo de 0,71 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$.

62. En Sudáfrica, la exposición a las fumonisinas (FB_1+FB_2) en Bizania, zona con una frecuencia relativamente baja de cáncer del esófago, fue de 3,43 \pm 0,15 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$, significativamente inferior ($p < 0.05$) que la de Centane, zona de alta frecuencia de cáncer de esófago. En las dos regiones la ingesta excedió la IDTMP para las fumonisinas (Shephard *et al.*, 2007).

63. En Corea, la media y el 95° percentil estimados de la ingesta diaria de fumonisinas ($FB_1 + FB_2$) fue de 0,03 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$ (1,5% IDTMP) y 0,08 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$ (4,0% IDTMP), respectivamente (Chung, *et al.*, 2008).

64. En México, se comparó la presencia de FB_1 en la orina con la ingesta alimentaria después del consumo de tortillas (Gong *et al.*, 2008). La media geométrica fue de 35,0, 63,1 y 147,4 pg/mL para los grupos de consumidores bajo, medio y alto, respectivamente. La presencia de FB_1 en la orina se relacionó con la ingesta de maíz, sin embargo, este biomarcador sólo se consideró factible para los grupos de la población que tienen un elevado nivel de exposición.

65. En China, ocho voluntarios adultos sanos consumieron durante un mes una alimentación normal que contenía maíz, de sus propios cultivos, potencialmente contaminado con FB_1 en concentraciones de 0,08 a 41,1 mg/kg; la ingesta diaria estimada de FB_1 fue de 0,4 a 740 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{día}$. El análisis de la relación Sa:So en la orina antes y después del consumo reveló que el metabolismo de los esfingolípidos de los humanos podía resentir la ingesta de FB_1 , y podía servir para evaluar una exposición elevada a las FB_1 ; los hombres resultaron más sensibles a sufrir trastornos del metabolismo de los esfingolípidos por las FB_1 que las mujeres (Qiu and Liu, 2001).

66. Se midieron la esfinganina y la esfingosina en la orina de residentes de Argentina y Brasil con consumo elevado de maíz, y se compararon con muestras de orina recogidas en zonas con consumo muy bajo o ninguno de

maíz. La relación media Sa:So fue de 1,27 en la orina de sujetos con un consumo elevado de maíz (n = 123) y 0,36 en los controles (n = 66), y la diferencia fue significativa estadísticamente ($p < 0.001$). La concentración media de fumonisinas en las muestras de maíz recogidas en Argentina y Brasil fue de 0,35 mg kg⁻¹ (n = 40). Si bien se registró una ingesta similar de maíz y fumonisinas en las dos poblaciones expuestas, la relación Sa:So media en Brasil (1,57) fue significativamente más alta ($p < 0,05$) que la de Argentina (0,69), lo que indica que no hay asociación con la exposición a fumonisinas (Solfrizzo *et al.*, 2004).

CONSIDERACIONES SOBRE LA GESTIÓN DE RIESGOS Y LA SALUD PÚBLICA

67. La tecnología actual no puede prevenir la contaminación de los cultivos de maíz por fumonisinas antes de la cosecha. La frecuencia y las concentraciones de fumonisinas en los cultivos de maíz en todo el mundo varían considerablemente de acuerdo a muchos factores, como las condiciones ambientales, el alcance de los daños producidos por los insectos, los híbridos de maíz que se siembran y las prácticas agronómicas utilizadas.

68. Los niveles de referencia para las fumonisinas (FB₁+FB₂+FB₃) en los alimentos en los Estados Unidos son de 2 mg/kg para los productos de maíz sin germen molidos en seco (<2,5% de contenido de grasa) y 3 mg/kg para el maíz para palomitas (USFDA, 2001). En la Comunidad Europea, el límite máximo (FB₁+FB₂) es de 4 mg/kg para el maíz sin elaborar, 1 mg/kg para el maíz destinado al consumo humano directo, 0,8 mg/kg para los cereales para el desayuno a base de maíz y los aperitivos a base de maíz, 0,2 mg/kg para los alimentos elaborados a base de maíz y los alimentos para lactantes y niños pequeños; los niveles máximos en las fracciones trituradas de maíz dependen del tamaño de las partículas: 1,4 mg/kg para >500 µm y 2 mg/kg para ≤500 µm (EC No 1126/2007).

69. En la República de Corea, la Administración de Alimentos y Medicamentos de Corea (KFDA) notificó a la OMC/MSF (G/SPS/N/KOR/283, 6 de junio de 2008) el establecimiento de límites máximos para las fumonisinas (FB₁+FB₂) de 4 mg/kg para el maíz y 2 mg/kg para el maíz granulado y la harina (salvo el germen).

70. El Cuadro 10 muestra los efectos de diversos límites reglamentarios para el maíz en grano en el porcentaje de la IDTMP para las fumonisinas, utilizando el grupo de alimentos C (Europa y el Medio Oriente, la población con la ingesta más alta, Cuadro 8) con base en la distribución de las fumonisinas en los granos de maíz en Sudáfrica y Nigeria (N=1091). Ambos países africanos mostraron perfiles parecidos de distribución (Gráfico 2 y Cuadro 4) y son exportadores importantes de maíz. La ingesta media de fumonisinas representó un aumento del 30% en el porcentaje de la IDTMP cuando se incrementó el límite de 2 a 5 mg/kg; sin embargo, este incremento representó una reducción considerable del porcentaje de muestras excluidas del mercado. El aumento del porcentaje de la IDTMP no fue importante cuando el límite aumentó de 5 a 10 mg/kg.

Cuadro 10. Porcentaje potencial de la IDTMP para las fumonisinas a partir del consumo de maíz en granos (GC 645: excluidos harinas, aceites y cervezas) en el grupo de alimentos C, con diversos límites impuestos y aplicados

| Límite (mg/kg) | Porcentaje de la IDTMP | | | | | | |
|----------------|------------------------|--------|--------|-----|-----|-----|------------|
| | Media | Mínimo | Máximo | 50° | 90° | 95° | % excluido |
| 1 | 20 | 0 | 40 | 20 | 40 | 40 | 33,4 |
| 2 | 30 | 0 | 90 | 20 | 60 | 70 | 18,3 |
| 5 | 40 | 0 | 210 | 30 | 100 | 130 | 5,2 |
| 10 | 40 | 0 | 330 | 30 | 100 | 140 | 0,9 |
| Ninguno | 40 | 0 | 500 | 30 | 100 | 140 | 0 |

REFERENCIAS

1. Abbas, H.K.; Cartwright, R.D.; Shier, W.T.; Abouzied, M.M.; Bird, C.B.; Rice, L.G.; Ross, P.F.; Sciombato, G.L.; Meredith, F.I. Natural occurrence of fumonisins in rice and Fusarium sheath rot disease. *Plant Disease* 82(1): 22-25, 1998.
2. Abbas, H.K., Williams, W.P., Windham, G.L., Pringle, H.C., Xie, W., Shier, T. Aflatoxin and Fumonisin Contamination of Commercial Corn/maize (*Zea mays*) Hybrids in Mississippi, *J, Agric, Food Chem*, 2002, 50, 5246-5254
3. Abbas, H.K., Cartwright, R.D., Shier, W.T. Aflatoxin and fumonisin contamination of maize (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Prot.* 25, 1-9, 2006.

4. Afolabi CG, Bandyopadhyay R, Leslie JF, Ekpo EJ. Effect of sorting on incidence and occurrence of fumonisins and *Fusarium verticillioides* on maize from Nigeria. *J. Food Prot*, 69, 2019-23, 2006.
5. Alexander, R.J. Maize dry milling: processes, products and applications. IN: *Maize: Chemistry and Technology*. S.A. Watson and P.E. Ramstad, eds. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN, pp 351-376, 1987.
6. Ariño A., Estopañan, G., Juan, T., Herrera, A. Estimation of dietary intakes of fumonisins B₁ and B₂ from conventional and organic maize. *Food Control* 18: 1058–1062, 2007.
7. Aziz, N.H.; El-Far, F.M.; Shahin, A.A.M.; Roushy, S.M. Control of *Fusarium* moulds and fumonisin B₁ in seeds by gamma-irradiation. *Food Control* 18, 1337–1342, 2007.
8. Bacon, C.W.; Bennett, R.M.; Hinton, D.M. and Voss, K.A. Scanning electron microscopy of *Fusarium moniliforme* within asymptomatic maize kernels and kernels associated with equine leukoencephalomalacia. *Plant Disease* 76(2): 144-148, 1992.
9. Bacon, C.W.; Nelson, P.E.; Fumonisin production in maize by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *J. Food Prot.* 57(6): 514-521, 1994.
10. Bacon, C.W. and Hinton, D.M.; Symptomless endophytic colonization of maize by *Fusarium moniliforme*. *Can. J. Bot./Rev. Can. Bot.* 74(8): 1195-1202, 1996.
11. Bakan, B.; Melcion, D.; Richard-Molard, D.; Cahagnier, B Fungal growth and fusarium mycotoxin content in isogenic traditional maize and genetically modified maize grown in France and Spain. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 728-731, 2002.
12. Bartók T, Tölgyesi L, Szekeres A, Varga M, Bartha R, Szécsi A, Bartók M, Mesterházy A, Detection and characterization of twenty-eight isomers of fumonisin B₁ (FB₁) mycotoxin in a solid rice culture infected with *Fusarium verticillioides* by reversed-phase high-performance liquid chromatography/electrospray ionization time-of-flight and ion trap mass spectrometry, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2010 Jan;24(1):35-42
13. Bennett, G.A. and Richard, J.L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology* 50(5), 235-238, 1996.
14. Bezuidenhout, S.C.; Gelderblom, W.C.A.; Gorst-Allman, C.P.; Horak, R.M.; Marasas, W.F.O.; Spiteller, G.; Vlegaar, R. Structure elucidation of the fumonisins, mycotoxin from *Fusarium moniliforme*. *Chem. Soc. Chem. Commun.* 743-745, 1988.
15. Bhat, R.V.; Shetty, P.H.; Amruth, R.P. and Sudershan, R.V. A foodborne disease outbreak due to the consumption of moldy sorghum and maize containing fumonisin mycotoxins. *Clin. Toxicol* 35(3): 249-255, 1997.
16. Bothast, R.J.; Bennett, G.A.; Vancauwenberge, J.E.; Richard, J.L. Fate of fumonisin B₁ in naturally contaminated maize during ethanol fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:233-236, 1992.
17. Bouhet, S.; Oswald, I.P. The intestine as a possible target for fumonisin toxicity. *Mol. Nutr. Food Res.* 51(8):925-31, 2007.
18. Brera, C.; Debegnach, F.; Grossi, S.; Miraglia, M.; Effect of industrial processing on the distribution of fumonisin B₁ in dry milling maize fractions. *Journal of Food Protection* 67 (6): 1261-1266, 2004.
19. Bruce G, Hammond, Keith W, Campbell, Clinton D, Pilcher, Todd A, Degooyer, Aaron E, Robinson, Brian L, Mcmillen, Steven M, Spangler, Susan G, Riordan, Larry G, Rice, John L, Richard, Lower Fumonisin Mycotoxin Levels in the Grain of Bt Corn/maize Grown in the United States in 2000-2002, *J. Agric, Food Chem*, 2004, 52, 1390-1397
20. Bullerman, L.B. Occurrence of *Fusarium* and fumonisins on food grains and in foods. IN: *Fumonisin in Foods*. L.S. Jackson, J.W. DeVries, and L.B. Bullerman, eds. Plenum Press, New York, pp 27-38, 1996.
21. Bullerman, L.B.; Bianchini, A. Stability of mycotoxins during food processing. *International Journal of Food Microbiology* 119 (1-2): 140-146, 2007
22. Bullerman, L.B.; Bianchini, Hanna, M.A., Jackson, L.S.; Jablonski, J.; Ryu, D. Reduction of Fumonisin B₁ in Corn Grits by Single-Screw Extrusion *J. Agric. Food Chem*, 56, 2400–2405, 2008.

23. Burns TD., Snook ME, Riley RT and Voss KA. Fumonisin concentration and in vivo toxicity of nixtamalized *Fusarium verticillioides* culture material; evidence for fumonisin-matrix interaction. *Food Chem Toxicol*, 46, 2841-2848, 2008.
24. Caldas, E.D.; Silva, A.C.S. Mycotoxins in maize based food products consumed in Brazil: An exposure assessment for fumonisins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (19): 7974-7980, 2007.
25. Castells, M; Marín, M; Sanchis, V; Ramos,A.J. Distribution of fumonisins and aflatoxins in corn fractions during industrial cornflake processing *Int. J. Food Microbiol.* 123: 81–87, 2008.
26. Castelo, M.M. Extrusion cooking reduces recoverability of fumonisin B₁ from extruded maize grits. *J. Food Sci* 63(4): 696-698, 1998.
27. Castelo, M.M.; Sumner, S.S., and Bullerman, L.B. Occurrence of fumonisins in maize-based food products. *J. Food Prot.* 61(6): 704-707, 1998.
28. Castelo, M.M.; Jackson, L.S.; Hanna, M.A.; Reynolds, B.H.; Bullerman, L.B. Loss of fumonisin B₁ in extruded and baked maize –based foods with sugars. *Journal of Food Science* 66: 416-421, 2001.
29. Cavaliere, C.; Foglia, P.; Guarino, C.; Motto, M.; Nazzari, M.; Samperi, R.; Lagana, A.; Berardo, N.; Mycotoxins produced by *Fusarium* genus in maize: determination by screening and confirmatory methods based on liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Food Chemistry* 105(2): 700-710, 2007.
30. Chulze S.; Etcheverry M.; Lecumberry S.; Magnoli C.; Dalcerro A.; Ramírez M.L.; Pascale M.; Rodriguez M.I. Fumonisin production on irradiated maize kernels: effect of inoculum size. *Journal of Food Protection* 62: 814-817, 1999.
31. Chung, S. H.; Cho, T. Y.; Oh, K. S.; Kim, D. S., and Hong, M. K. Fumonisin contamination in maize and processed maize products commercialized in Korea. *Cereal Research Communications*, 36, Supplementum B : 353-355, 2008.
32. Clay K. Fungal Endophytes of Grasses. *Annual Review of Ecology and Systematics.* 21: 275-297, 1990.
33. Clements, M.J.; Campbell, K.W.; Pilcher, C.; Headrick, J.M.; Pataky, J.K.; White, D.G Influence of cry1Ab protein and hybrid genotype on fumonisin contamination and *Fusarium* ear rot of maize. *Crop Science* 43: 1283-1293, 2003.
34. Codex Alimentarius, Code of Practice for the prevention and reduction of mycotoxins contamination in cereals, including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and tricothecenes. CAC/ RCP51, pp. 1–8, 2003.
35. Dall'Asta, C., Galaverna G, Mangia M, Sforza S, Dossena A, Marchelli R. Free and bound fumonisins in gluten-free food products. *Mol Nutr Food Res.* 2009 Apr;53(4):492-9
36. Da Silva M., Garcia, G.T., Vizoni, E., Kawamura, O. Hirooka, E.Y. E., Ono, Y.S. Effect of the time interval from harvesting to the pre-drying step on natural fumonisin contamination in freshly harvested corn/maize from the State of Parana, Brazil, *Food Additives and Contaminants*, May 2008; 25(5): 642–649,
37. De Girolamo, A.; Solfrizzo, M.; Von Holst, C.; Visconti, A. Comparison of different extraction solvents and clean-up procedures for the determination of fumonisins in maize and maize-based food products. *Food Addit. Contam.*, 18, 59–67, 2001.
38. De Nijs, M; Sizoo, E.A.; Vermunt, A.E.M.; Notermans, S.H.W.; van Egmond, H.P. The occurrence of fumonisin B₁ in maize-containing foods in the Netherlands. *Food Addit. Contam.* 15(4): 385-388, 1998.
39. de Nijs, M., van Egmond, H.P., Nauta, M., Rombouts, F.M. & Notermans, S.H.W. (1998b) Assessment of human exposure to fumonisin B₁. *J. Food Prot.*, 61, 879–884.
40. Doko, M.B.; Visconti, A. Occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in maize and maize-based human foodstuffs in Italy. *Food Addit. Contam.* 11: 433-439, 1994.
41. Dombrink-Kurtzman, M.A.; Dvorak, T.J. Barron ME, Roney LW. Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-contaminated corn for production of masa and tortillas. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5781-86, 2000.
42. Domijan, A.M., Peraica, M., Jurjevic, Z.E., Ivic, D., Cvjetkovic, B. Fumonisin B₁, fumonisin B₂, zearalenone and ochratoxin A contamination of corn/maize in Croatia,, *Food Additives and*

Contaminants, July 2005; 22(7): 677–680

43. Dowd, P.F. Insect management to facilitate preharvest mycotoxin management. *J. Toxicol. Toxin Rev.* 22, 327–350, 2003.
44. Dvorak NJ, Riley RT, Harris M, McGregor JA. Fumonisin mycotoxin contamination of corn-based foods consumed by potentially pregnant women in southern California. *J Reprod Med.* 53(9):672-6, 2008.
45. EC-Commission Regulation. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Commission.* No. 1881/2006 of 19 December 2006.
46. EC-Commission Regulation. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Official Journal of the European Commission.* No. 1126/2007.
47. FAO/WHO (2000) Position paper on fumonisins. Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, Thirty-second Session, Beijing, 20–24 March 2000.
48. Fandohan, P.; Gnonlonfin, B.; Hell, K.; Marasas, W.F.O.; Wingfield, M.J. Natural occurrence of *Fusarium* and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa, *International Journal of Food Microbiology* 99(2): 173-183, 2005.
49. Ferreira-Castro, F.L.; Aquino, S.; Greiner, R.; Ribeiro, D.H.B.; Reis, T.A.; Correa, B. Effects of gamma radiation on maize samples contaminated with *Fusarium verticillioides* *Applied Radiation and Isotopes* 65, 927–933, 2007.
50. Food and Drug Administration (FDA), Unpublished findings, 1999.
51. Frisvad JC, Smedsgaard J, Samson RA, Larsen TO, Thrane U. Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem.* 2007 Nov 14;55(23):9727-32.
52. Ghali R, Ghorbel H, Hedilli A. Fumonisin determination in tunisian foods and feeds. ELISA and HPLC methods comparison. *J Agric Food Chem.* 2009 May 13;57(9):3955-60.
53. Gong HZ, Ji R, Li YX, Zhang HY, Li B, Zhao Y, Sun L, Yu F, Yang J. Occurrence of Fumonisin B(1) in Maize from the Main Maize-Producing Areas of China. *Mycopathologia.* 2009, 67(1):31-6.
54. Hamed K, Abbas, Richard D, Cartwrightb, Weiping Xiec, W, Thomas Shierd, Aflatoxin and fumonisin contamination of maize (*Zea mays*) hybrids in Arkansas, *Crop Protection.* 2006, 25: 1–9
55. Hasegawa, R. H.; Fonseca, H.; Fancelli, A. L.; Silva da V. N., Schammass E. A., Reis, T. A.; Correa, B.; Influence of macro- and micronutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in maize grains. *Food Control* 19 (1):36-43, 2008.
56. Hlywka, J.J. and Bullerman, L.B. Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in beer. *Food Addit. Contam.* 16(8): 319-324, 1999.
57. Humphreys, S.H.; Carrington, C.; Bolger, P.M. A quantitative risk assessment for fumonisin B₁ and B₂ in US maize. *Food Addit. Contam.* 18(3):211 - 220, 2001.
58. International Agency for Research on Cancer (IARC) Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* 82: 171-301, 2002.
59. Jackson, L.S.; Katta, S.K.; Fingerhut, D.D.; DeVries, J.W.; and Bullerman, L.B. Effects of baking and frying on the fumonisin B1 content of maize-based foods. *J. Agric Food Chem.* 45:4800-4805, 1997.
60. Jackson, L.; Jablonski, J. *Mycotoxins in food: detection and control.* Woodhead Publishing 367-405, 2004.
61. FAO/WHO. Safety evaluations on certain mycotoxins in food (Fifty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additive Series No. 47, and FAO Food and Nutrition Paper 74, 2001. Available at: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm> (Accessed 15 January 2009).
62. Katta, S.K.; Cagampang, A.E.; Jackson, L.S. and Bullerman, L.B. Distribution of *Fusarium* molds and fumonisins in dry-milled maize fractions. *Cereal Chem.* 74(6): 858-863, 1997.
63. Katta, S.K.; Jackson, L.S.; Sumner, S.S.; Hanna, M.A.; Bullerman, L.B. Effect of temperature and screw speed on stability of fumonisin B1 in extrusion-cooked maize grits. *Cereal Chem.*, 76, 16–20,

1999.

64. Kim, E.K.; Scott, P.M.; Lau, B.P. Hidden fumonisin in maize flakes. *Food Addit. Contam.* 20, 161-169, 2003.
65. Kumar, V.; Basu, M.S.; Rajendran, T.P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities, *Crop Protection* 27(6): 891-905, 2008.
66. Leblanc, J. C.; Tard, A.; Volatier, J. L.; Verger P. Estimated dietary exposure to principal food mycotoxins from The First French Total Diet Study. *Food Additives & Contaminants: Part A* 22(7): 652- 672, 2005.
67. Li, F.Q.; Yoshizawa, T.; Kawamura, O.; Luo, X.Y, Li, Y.W., Aflatoxins and fumonisins in maize from the high incidence area for human hepatocellular carcinoma in Guangxi, China. *J.of Agric. And Food Chemistry*, 49, 4122-4126, 2001.
68. Liliana Silva a, Mónica Fernández-Franzón b*, Guillermina Font b, Angelina Pena a, Irene Silveira, Celeste Lino a, Jordi Mañes. Analysis of fumonisins in corn-based food by liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometry detectors. *Food Chemistry* 112 (2009) 1031–1037.
69. Lu, Y.; Clifford, L.; Hauck, C.C.; Hendrich, S.; Osweiler, G.; Murphy, P.A. Characterization of fumonisin B1- glucose reaction kinetics and products. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4726-4733, 2002.
70. Maenetje PW, Dutton MF. The incidence of fungi and mycotoxins in South African barley and barley products. *J Environ Sci Health B.* 2007 Feb;42(2):229-36.
71. Malone, B.M.; Richard, J.L.; Romer, T.; Johansson, A.S. and Whitaker, T. Fumonisin reduction in maize by cleaning during storage discharge. IN: *Proceedings of the 48th Australian Cereal Chemistry Conference*. L. O'Brian, A.B. Blakeney, A.S. Ross and C.W. Wrigley eds. Cairns, Australia, pp372-379, August 1998.
72. Magkos, F.; Arvaniti, F.; Zampelas, A. Organic Food: Buying More Safety or Just Peace of Mind? A Critical Review of the Literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46:23–56,2006.
73. Månsson M, Klejnstrup ML, Phipps RK, Nielsen KF, Frisvad JC, Gotfredsen CH, Larsen TO. Isolation and NMR characterization of fumonisin B2 and a new fumonisin B6 from *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem.* 2010 Jan 27;58(2):949-53.
74. Maragos, C.M.; Jolley, R.D.; Plattner, M.S. Fluorescence Polarization as a Means for Determination of Fumonisin in Maize. *J. Agric. Food Chem.*, 49 (2), 596 -602, 2001.
75. Marasas, W.F.O. Fumonisin: history, world-wide occurrence and impact. IN: *Fumonisin in Food*. L.S. Jackson, J.W. DeVries, and L.B. Bullerman, eds. Plenum Press, New York , pp 1-18, 1996.
76. Marasas, W.F.O. Discovery and Occurrence of the Fumonisin: A Historical Perspective. *Environmental health perspectives supplements* 109(2): 239-243, 2001.
77. Marasas, W.F.; Riley, R.T.; Hendricks, K.A.; Stevens, V.L.; Sadler, T.W.; Gelineau-van Waes J.; Missmer, S.A.; Cabrera J.; Torres, O.; Gelderblom, W.C.; Allegood, J.; Martínez, C.; Maddox, J.; Miller, J.D.; Starr, L.; Sullards, M.C.; Roman, A.V.; Voss, K.A.; Wang, E.; Merrill, A.H. Jr. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin-contaminated maize. *J Nutr.* 2004 134(4):711-6, 2004.
78. Miller, J.D. Epidemiology of Fusarium ear diseases of cereals. IN: *Mycotoxins in Grain-Compounds Other Than Aflatoxin*. J.D. Miller and H.L.Trenholm eds. Eagan Press, St. Paul, MN, pp 19-36, 1994.
79. Miller, M.A.; Honstead, J.P., and Lovell, R.A. Regulatory aspects of fumonisins with respect to animal feed. IN: *Fumonisin in Food*. L.S. Jackson; J.W. DeVries and L.B. Bullerman eds. Plenum Press, New York, pp 363-368, 1996.
80. Miller, J.D. Factors affecting the occurrence of fumonisin in maize. *Abstracts of Papers (p.21)-International Conference on the Toxicology of Fumonisin*. June 28-30, Arlington, VA, 1999.
81. Missmer ,S.A.; Suarez, L.; Felkner, M.; Wang, E.; Merrill, A.H. Jr.; Rothman, K.J.; Hendricks, K.A. Exposure to fumonisins and the occurrence of neural tube defects along the Texas-Mexico border. *Environ Health Perspect.* 114(2):237-41, 2006.

82. Mogensen JM, Frisvad JC, Thrane U, Nielsen KF, Production of Fumonisin B2 and B4 by *Aspergillus niger* on grapes and raisins, *J Agric Food Chem*, 2010 Jan 27;58(2):954-8,
83. Munkvold, G.P.; Desjardins, A.E. Fumonisin in maize - Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*. 81(6):556-565, 1997.
84. Nelson, P.E., Desjardins, A.E.; Plattner, R.D. Fumonisin, mycotoxins produced by *Fusarium* species: Biology, chemistry, and significance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31:233–252, 1993.
85. Noonim P, Mahakarnchanakul W, Nielsen KF, Frisvad JC, Samson RA. Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger* in Thai coffee beans. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2009 Jan;26(1):94-100.
86. NTP (National Toxicology Program). NTP Technical Report on the Toxicology and carcinogenesis studies of fumonisin B1 in F344/N rats and B6C3F1 mice (Feed Studies). NTP TR 496. NIH Publication No. 99-3955. U.S. Department of Health and Human Services, NIEHS, P.O. Box 12233, MD E1-02, Research Triangle, NC 27709, May 1999.
87. Park, D.L.; Lopez-Garcia, R.; Trujillo-Preciado, S.; and Price, R.L. Reduction of risks associated with fumonisin contamination in maize. IN: *Fumonisin in Food*. L.S.Jackson, J.W. DeVries and L.B. Bullerman eds. Plenum Press, New York, pp. 335-344, 1996.
88. Park, J.W.; Scott, P.M.; Lau, B.P.; Lewis, D.A.; Analysis of heat-processed maize foods for fumonisin and bound fumonisin. *Food Addit. Contam.* 21(12):1168-78, 2004.
89. Park JW, Choi SY, Hwang HJ, Kim YB. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans. *Int J Food Microbiol.* 2005 Sep 15;103(3):305-14.
90. Petersen A., Thorup I. preliminary evaluation of fumonisin by the Nordic countries and occurrence of fumonisin (FB1 and FB2) in corn-based food on the danish market. *Food Addit.Contam.*, 18, 221-226, 2001.
91. Plattner, R.D.; Weisleder, D.; Poling, S.M. Analytical determination of fumonisin and other metabolites produced by *Fusarium moniliforme* and related species on maize. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 392, 57–64, 1996.
92. Prelusky, D.B.; Trenholm, H.L.; Rotter, B.A.; Miller, J.D.; Savard, M.E.; Yeung, J.M.; and Scott, P.M. Biological fate of fumonisin B1 in food-producing animals. IN: *Fumonisin in Food*. L.S. Jackson, J.W. DeVries, and L.B. Bullerman, eds. Plenum Press, New York, pp 265-278, 1996.
93. Qiu, M.; Liu, X.; Wang, Y.; Zhang, C. Survey on the fumonisin intake and the urinary Sa/So ratio of people suffered from a high incidence of esophageal cancer. *Wei Sheng Yan Jiu.* 30(6):365-7, 2001.
94. Resnik, S.L. Food processing to reduce the entry of mycotoxins to the food and feed chains. Conference on “Advances in research on toxigenic fungi and mycotoxins in South America ensuring food and feed safety in a mycoglobe context” Carlos Paz, Cordoba, Argentina, March 2006.
95. Rheeder, J.P.; Marasas, W. F.O.; Vismer, H.F. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2101-2105, 2002.
96. Rocha LO, Nakai VK, Braghini R, Reis TA, Kobashigawa E, Corrêa B, Mycoflora and co-occurrence of fumonisin and aflatoxins in freshly harvested corn in different regions of Brazil, *Int J Mol Sci*, 2009 Nov 24;10(11):5090-103
97. Ross, P.F.; Rice, L.G.; Osweiler, G.D.; Nelson, P.E.; Richard, J.L.; Wilson, T.M. A review and up-date of animal toxicoses associated with fumonisin-contaminated feeds and production of fumonisin by *Fusarium* isolates. *Mycopathologia* 117: 109-114, 1992.
98. Scott, P.M.; Lawrence, G.A. Analysis of beer for fumonisin. *J. Food Prot.*, 58, 1379–1382, 1995.
99. Seefelder, W.; Knecht, A.; Humpf, H.U. Bound fumonisin B1: analysis of fumonisin-B1 glyco and amino acid conjugates by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5567-73, 2003.
100. Seyed Amir Ghiasian, Amir Hossein Maghsood, Hassan Yazdanpanah, Gordon S, Shephard, Liana Van Der Westhuizen, Hester F, Vismer, John P, Rheeder, And Walter F, O, Marasas, Incidence of *Fusarium verticillioides* and Levels of Fumonisin in Corn/maize from Main Production Areas in Iran, *J, Agric, Food Chem*, 2006, 54, 6118-6122

101. Shelby, R.A.; White, D.G.; Bauske, E.M. Differential fumonisin production in maize hybrids. *Plant Disease* 78: 582-584, 1994.
102. Shephard, G.S. Chromatographic determination of fumonisin mycotoxins. *J. Chromatogr. A.* 815, 31–39, 1998.
103. Shephard, G.S.; Van der Westhuizen, L.; Gatyeni, P.M.; Somdyala, N.I.M. ; Burger, H.M.; Marasas, W.F.O. Fumonisin Mycotoxins in Traditional Xhosa Maize Beer in South Africa. *J. Agric. Food Chem.*, 53, 9634-9637, 2005.
104. Shephard, G.S.; Marasas, W. F. O.; Burger, H. M.; Somdyala, N. I. M.; Rheeder, J. P.; Van der Westhuizen, L.; Gatyeni, P.; Van Schalkwyk, D. J. Exposure assessment for fumonisins in the former transkei region of South Africa. *Food additives and contaminants: part A*, 24 (6) 621-629, 2007.
105. Shetty, P.H.; Bhat, R.V. Physical method for segregation of fumonisin-contaminated maize. *Food Chem.*, 66, 371–374, 1999.
106. Silva, L.; Fernández-Franzón, M.; Font, G.; Pena,A.; Silveira, I.; Lino,C.; Mañes, J. Analysis of fumonisins in corn-based food by liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometry detectors. *Food Chemistry* 112,1031–1037, 2009.
107. Solfrizzo, M.; De Girolamo A.; Visconti, A. Determination of fumonisins B1 and B2 in maizeflakes by high performance liquid chromatography and immunoaffinity clean-up. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 18(3):227-235, 2001.
108. Solfrizzo, M.; Chulze, S.N.; Mallmann, C.; Visconti, A.; De Girolamo, A.; Rojo, F.; Torres, A.; Comparison of urinary sphingolipids in human populations with high and low maize consumption as a possible biomarker of fumonisin dietary exposure. *Food Addit Contam.* 21(11):1090-5, 2004.
109. Sun, G.; Wang, S.; Hu, X.; Su, J.; Huang, T.; Yu, J.; Tang, L.; Gao, W. and Wang,J.-S. Fumonisin B1 contamination of home-grown corn in high-risk areas for esophageal and liver cancer in China. *Food Addit. Contam.* 24(2): 181-185, 2007.
110. Sewram, V.; Mshicileli, N.; Shephard, G.S.; Vismer, H.F.; Rheeder, J.P.; Lee, Y.W.; Leslie, J.F.; Marasas, W.F.O. Production of fumonisin B and C analogs by several *Fusarium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 53: 4861-4866, 2005
111. Sydenham, E.W.; Shephard, G.S.; Thiel, P.G.; Marasas, W.F.O.; Stockenstrom, S. Fumonisin contamination of commercial maize-based human foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 39: 2014-2018, 1991.
112. Sydenham, E.W.; Marasas, W.F.O.; Shephard, G.S.; Thiel, P.G.; Hirooka, E.Y., Fumonisin concentrations in Brazilian feeds associated with field outbreaks of confirmed and suspected animal mycotoxicoses. *Journal of Agric. And Food Chemistry*, 40, 994-997, 1992.
113. Sydenham, E.W.; Shephard, G.S.; Thiel, P.G. Liquid chromatography determination of fumonisins B1, B2 and B3 in foods and feeds. *J Assoc. Off. Anal. Chem.* 75: 313-318, 1992.
114. Sydenham, E.W.; Shephard, G.S.; Thiel, P.G.; Stockenström, S.; Snijman, P.W.; Van Schalkwyk, D.J. Liquid chromatographic determination of fumonisins B1, B2, and B3 in maize: AOAC–IUPAC collaborative study. *J. AOAC Int.*, 79, 688–696, 1996.
115. Theumer, M. G.; López, A. G.; Maíz, D. T.; Chulze, S. N.; Rubinstein, H. R. Immunobiological effects of fumonisin B₁ in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 9(1):149-55, 2002.
116. Theumer, M. G.; López, A. G.; Maíz, D.T.; Chulze, S. N.; Rubinstein, H. R. Immunobiological effects of AFB1 and AFB1+FB1 mixture in experimental subchronic mycotoxicoses in rats. *Toxicology* 15;186(1-2):159-70, 2003.
117. Theumer, M.G.; López, A.G.; Aoki, M. P.; Cánepa, M. C; Rubinstein, H. R. Subchronic mycotoxicoses in rats. Histopathological changes and modulation of the sphinganine to sphingosine (Sa/So) ratio imbalance induced by *Fusarium verticillioides* culture material, due to the coexistence of aflatoxin B1 in the diet. *Food Chemical Toxicology*, 2008 46(3):967-77.
118. Thiel, P.G.; Marasas, W.F.O.; Sydenham, E.W.; Shephard, G.S.; Gelderblom, W.C.A. The implications of naturally occurring levels of fumonisins in maize for human and animal health. *Mycopathologia* 117: 3-9, 1992.

119. Torres OA, Palencia E, Lopez de Pratdesaba L, Grajeda R, Fuentes M, Speer MC, Merrill AH Jr, O'Donnell K, Bacon CW, Glenn AE, Riley RT. Estimated fumonisin exposure in Guatemala is greatest in consumers of lowland maize. *J Nutr.* 2007, 137(12):2723-9
120. USFDA. Fumonisin Levels in Human Foods and Animal Feeds. Guidance for Industry Final guidance. US Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. November, 2001. Available at:<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fumongu2.html>
121. Visconti, A.; Solfrizzo, M.; Doko, M.B.; Boenke, A. ; Pascale, M. Stability of fumonisins at different storage periods and temperatures in gamma-irradiated maize. *Food Addit. Contam.* 13(8): 929- 938, 1996.
122. Voss, K.A.; Riley, R.T. Differential sensitivity of rat kidney and liver to fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and sphingoid base metabolism. *Toxicol. Sci.* 92: 335-345, 2006.
123. Wang, J.; Zhou, Y.; Liu, W.; Zhu, X.; Du, L.; Wang, Q. Fumonisin level in corn-based food and feed from Linxian County, a high-risk area for esophageal cancer in China. *Food Chemistry* 106:241–246, 2008.a
124. Wang, J.; Zhou, Y.; Wang, Q. Analysis of mycotoxin fumonisins in corn products by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *Food Chemistry* 107(2): 970-976, 2008.b
125. Warfield, C.Y. and Gilchrist, D.G. Influence of kernel age on fumonisin B₁ production in maize by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(7): 2853-2856, 1999.
126. Westhuizen, L.; Shephard, G.S.; Scussel, V.M.; Costa, L.L.F.; Vismer, H.F.; Rheeder, J.P.; Marasas, W. F. O. Fumonisin Contamination and *Fusarium* Incidence in Corn from Santa Catarina, Brazil. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 5574-5578
127. Whitaker, T.B.; Trucksess, M.W.; Johansson, A.S.; Giesbrecht, F.G.; Hagler, W.M.; and Bowman, D.T. Variability associated with testing shelled maize for fumonisin. *J AOAC Intl.* 81(6): 1162-1168, 1998.
128. Whitaker, T.B.; Doko, M.B.; Maestroni, B.M.; Slate, A.B.; Ogunbanwo, B.F.; Evaluating the Performance of Sampling Plans to Detect Fumonisin B₁ in Maize Lots Marketed in Nigeria. *J AOAC Intl.* 90(4): 1050-1059, 2007.
129. World Health Organization (WHO), Food Safety Unit, Programme of Food Safety and Food Aid. GEMS/FOOD Regional Diets. Geneva: WHO, 1998.
130. 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.html>
131. Yates, I.E., Widstrom, N.W., Bacon, C.W., Glenn, A., Hinton, D.M., Sparks, D., Jaworski, A.J. Field performance of maize grown from *Fusarium verticillioides*-inoculated seed. *Mycopathologia* 159: 65–73, 2005.
132. Yates, I.E.; Sparks, D. *Fusarium verticillioides* dissemination among maize ears of field-grown plants. *Crop Protection Journal.* 27:606-613, 2008.
133. Yazdanpanah, H.; Shephard, G. S.; Marasas, W. F. O.; van der Westhuizen, L.; Rahimian, H.; Safavi, S. N.; Eskandari S.; Ghiasian, S. A. Human Dietary Exposure to Fumonisin B₁ from Iranian Maize Harvested During 1998–2000. *Mycopathologia*, 161(6): 395-401, 2006

PLANES DE MUESTREO PARA LAS FUMONISINAS EN EL MAÍZ Y PRODUCTOS DE MAÍZ

DEFINICIÓN

Lote: una cantidad identificable de un producto alimentario entregada en un momento determinado, respecto a la cual el oficial estableció que tiene características comunes, tales como el origen, la variedad, el tipo de embalaje, el embalador, el expedidor o los marcados.

Sublote: la parte designada de un lote más grande para aplicar en ella el método de muestreo. Cada sublote debe estar separado materialmente y ser identificable.

Plan de muestreo: se define por un procedimiento de análisis de las fumonisinas y un nivel de aceptación o rechazo. El procedimiento de análisis de las fumonisinas consiste en tres pasos: selección de la muestra, preparación de la muestra y análisis o cuantificación de las fumonisinas. El nivel de aceptación o rechazo es una tolerancia por lo general igual al nivel máximo del Codex (NM).

Muestra incremental: la cantidad de material tomado de un lugar elegido al azar del lote o sublote.

Muestra agregada: el total conjunto de todas las muestras incrementales tomadas del lote o sublote. La muestra agregada tiene que ser por lo menos del mismo tamaño que la muestra de laboratorio o combinación de las muestras.

Muestra de laboratorio: la cantidad más pequeña de maíz con cáscara triturado en un molino. La muestra de laboratorio puede ser una parte del total de la muestra agregada. Si ésta es más grande que la muestra o muestras de laboratorio, esta última deberá retirarse al azar de la muestra agregada.

Porción de análisis: porción de la muestra de laboratorio triturada. El total de la muestra de laboratorio se triturará en un molino. Una porción de la muestra de laboratorio triturada se retira al azar para la extracción de las fumonisinas para el análisis químico.

Curva característica de operación (CO): trazado de la probabilidad de aceptación de un lote respecto a la concentración del lote para una estructura específica de plan de muestreo. La CO presenta una estimación de las oportunidades de que una estructura de plan de muestreo específico para las fumonisinas rechace un lote bueno (riesgo del exportador) y las posibilidades de que acepte un lote malo (riesgo del importador). Un lote bueno se define como aquél que presenta una concentración de fumonisinas inferior al NM; un lote malo es aquel cuya concentración de fumonisinas es superior al NM.

CONSIDERACIONES SOBRE LA ESTRUCTURA DEL PLAN DE MUESTREO

1. Las estadísticas de muestreo, que aparecen en las ecuaciones de la 1 a la 4, se basan en la variabilidad y distribución de las fumonisinas entre las muestras de laboratorio de maíz con cáscara (Whitaker *et al.*, 1998; Whitaker *et al.*, 2007). El tamaño de la muestra de laboratorio se expresa con el número de granos de maíz, por razones estadísticas. El recuento de los granos de maíz con cáscara se hipotizó en 3 000 granos por kg. El recuento de granos por kg se puede utilizar para convertir el tamaño de la muestra de laboratorio del número de granos a la masa y viceversa.
2. Estimaciones de la variabilidad asociadas al muestreo, la preparación de muestras y el análisis que se muestran en las ecuaciones de la 1 a la 4, y la distribución binomial negativa (Whitaker *et al.*, 2007) se utilizan para calcular las curvas características de operación (CO) que describen el desempeño de los planes propuestos de muestreo para las fumonisinas.
3. La varianza analítica (Ecuación 3<) refleja la variabilidad analítica en un sólo laboratorio, que es inferior a la variabilidad analítica entre laboratorios.
4. En este anexo no se trata la cuestión de corregir el resultado del análisis para la recuperación. Sin embargo, se puede utilizar el Reglamento CE No 401/2006 (Cuadro 1) como norma posible para diversos criterios de desempeño para los métodos de análisis, que incluye la gama de tasas aceptables de recuperación.
5. Es necesario definir los niveles máximos antes de tomar una decisión final sobre una estructura de plan de muestreo.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS DE LAS FUMONISINAS Y NIVELES MÁXIMOS

6. Los planes de muestreo para las fumonisinas se definen por el procedimiento de análisis y los niveles máximos para las fumonisinas. Dado que los miembros del CCCF no han establecido los niveles máximos para las fumonisinas, en este anexo se evalúan planes de muestreo para diversos niveles máximos.

7. Los niveles máximos para las fumonisinas en el maíz con cáscara evaluados en este anexo son 1, 2, 5 y 10 mg/kg.
8. La elección del número y el tamaño de la muestra de laboratorio es una transacción entre minimizar los riesgos (falsos positivos y falsos negativos) y los costos relacionados con el muestreo y la limitación del comercio. Se evalúa una variedad de tamaños de muestras (1, 2 y 5 kg) utilizando una o dos muestras de laboratorio para aceptar o rechazar el lote.
9. Preparación de la muestra: se muele en seco con un molino adecuado y una porción de análisis de 25 g.
10. Método analítico: se basa en el desempeño (Reglamento CE No 401/2006).
11. Regla para las decisiones: si el resultado del análisis de la muestra para las fumonisinas es inferior al nivel máximo establecido, se acepta el lote. De otra manera, se rechaza el lote.
12. Con el fin de ayudar a los países a aplicar un plan de muestreo, se presentan en las siguientes secciones métodos de selección de muestras, métodos para la preparación de las muestras y métodos analíticos necesarios para cuantificar las fumonisinas presentes en las muestras de laboratorio de maíz sin cáscara tomadas de lotes a granel.

SELECCIÓN DE MUESTRAS

Material del que se van a tomar las muestras

13. Deberán prepararse por separado las muestras de cada lote que se vaya a examinar para conocer su contenido de fumonisinas. Los lotes de más de 50 toneladas deberán subdividirse en sublotes de los cuales se tomarán submuestras por separado. Si un lote tiene más de 50 toneladas, el número de sublotes es igual al peso del lote en toneladas dividido por 50 toneladas. Se recomienda que los lotes y sublotes no sean de más de 50 toneladas. El peso mínimo de los lotes deberá ser de 500 kg.
14. Teniendo en cuenta que el peso del lote no siempre es un múltiplo exacto de sublotes de 50 toneladas, el peso del sub lote puede superar el peso mencionado por un máximo de un 25%.
15. Las muestras se tomarán del mismo lote, es decir, tendrán el mismo código de lote o por lo menos la misma fecha de caducidad. Se evitará todo cambio que pudiera repercutir en el contenido de micotoxinas en la determinación analítica o hacer que no fueran representativas las muestras agregadas. Por ejemplo, no se abran los embalajes en condiciones desfavorables del clima ni se expongan las muestras a una humedad o luz del sol excesivas. Evítese la contaminación cruzada desde otros lotes cercanos que pudieran estar contaminados.
16. Casi en todos los casos, deberá descargarse todo el camión o contenedor para permitir que se lleve a cabo una toma de muestras representativa.

Selección de muestras incrementales

17. Son de importancia extrema los procedimientos que se utilizan para tomar las muestras incrementales de los lotes de maíz sin cáscara. Cada grano del lote deberá tener las mismas posibilidades de resultar seleccionado. Los métodos de selección introducirán sesgos si el equipo y los procedimientos usados para escoger las muestras incrementales prohíben o reducen las posibilidades de que se elija cualquier grano del lote.
18. Dado que no hay forma de saber si los granos de maíz contaminados están distribuidos uniformemente en el lote, es indispensable que la muestra agregada sea el conjunto de muchas muestras incrementales pequeñas del producto tomadas de distintos puntos de todo el lote. Si la muestra agregada es más grande de lo conveniente, deberá mezclarse y subdividirse hasta obtener el tamaño deseado de muestra de laboratorio.

Número de muestras incrementales para los lotes de peso variable

19. El número de muestras incrementales que se tomarán de cada lote (sublote) depende del peso del lote y del tamaño de la muestra agregada. Una vez definidos por el CCCF el número y tamaño de las muestras de laboratorio, se pueden hacer recomendaciones específicas para los diversos tamaños de lotes.

Peso de la muestra incremental

20. El peso mínimo recomendado de la muestra incremental será de 100 gr aproximadamente para los lotes de 50 toneladas (50 000 kg).

Lotes estáticos

21. Los lotes estáticos se pueden definir como una gran cantidad de maíz sin cáscara reunido en un contenedor único, como un vagón, un camión o un remolque, o en muchos contenedores pequeños como costales o cajas y con el maíz estacionario al momento de tomar la muestra. Puede ser difícil escoger una muestra de veras aleatoria de un lote estático porque podría no haber acceso a todos los contenedores del lote o sublote.
22. La toma de muestras incrementales de un lote estático por lo general requiere el uso de sondas para tomar el producto del lote. Las sondas estarán diseñadas específicamente para el producto y tipo de contenedor, y (1) serán suficientemente largas para alcanzar todo el producto, (2) no impedirán la selección de ningún elemento del lote, y (3) no modificarán los elementos del lote. Como se mencionó antes, la muestra agregada será una suma de muchas muestras incrementales pequeñas del producto tomadas de muchos lugares distintos de todo el lote.
23. En los lotes comercializados en envases individuales, la frecuencia de muestreo (SF), o el número de envases de los que se toman las muestras incrementales, son una función del peso del lote (LT), del peso de la muestra incremental (IS), del peso de la muestra agregada (AS) y del peso del envase individual (IP), conforme a la ecuación siguiente:

$$SF = (LT \times IS) / (AS \times IP).$$

24. La frecuencia de muestreo (SF) es el número de envases de los que se tomaron muestras. Todos los pesos se indicarán con la misma unidad de medida, por ejemplo: kg.

Lotes dinámicos

25. Es más fácil producir muestras agregadas representativas seleccionando las muestras incrementales de un volumen de maíz descascarado en movimiento, durante el traslado de un lote de un lugar a otro. Al tomar muestras de un volumen en movimiento, tómense muestras incrementales pequeñas del producto todo a lo largo del volumen en circulación; súmense las muestras incrementales para obtener una muestra agregada; si ésta es más grande que las muestras de laboratorio necesarias, entonces mézclese y subdivídase la muestra agregada para obtener las muestras de laboratorio del tamaño deseado.
26. Existe en el comercio equipo automático para la toma de muestras, como los muestreadores de tomas transversales con cronómetro, que pasan automáticamente un recipiente de desviación a través del producto en movimiento a intervalos periódicos, para tomar las muestras incrementales. Con métodos automáticos o manuales, las muestras incrementales se recogerán y sumarán a intervalos frecuentes y uniformes durante todo el tiempo que circule el maíz por el punto donde se toman las muestras.
27. Los muestreadores de tomas transversales se deberán instalar de la siguiente manera: (1) el plano de la abertura del recipiente de desviación deberá ser perpendicular a la dirección en que circula el producto; (2) el recipiente de desviación deberá atravesar todo el volumen en circulación; y (3) la abertura del recipiente de desviación deberá ser suficientemente amplia para recoger todos los elementos de interés del lote. En general, lo ancho de la abertura del recipiente de desviación deberá ser dos o tres veces del tamaño más grande de los elementos del lote.
28. El tamaño de la muestra agregada (S) en kg, tomada de un lote por un muestreador de tomas transversales, es:

$$S = (D \times LT) / (T \times V),$$

donde D es el ancho de la abertura del recipiente de desviación (cm), LT es el tamaño del lote (kg), T es el intervalo o tiempo entre movimientos del recipiente a través del producto en circulación (segundos) y V es la velocidad del recipiente de desviación (cm/sec).

29. Si se conoce la velocidad de circulación de la masa en movimiento, MR (kg/sec), entonces la frecuencia del muestreo (SF) o el número de cortes que realiza el recipiente del muestreador automático se puede computar como función de S, V, D y MR.

$$SF = (S \times V) / (D \times MR).$$

Envasado y transporte de las muestras

30. Todas las muestras de laboratorio se depositarán en un contenedor limpio e inerte que ofrezca la protección adecuada contra la contaminación, la luz del sol y la posibilidad de sufrir daños durante el tránsito. Se tomarán todas las precauciones necesarias para evitar cualquier cambio en la composición de la muestra de laboratorio, que podría producirse durante el transporte o el almacenamiento. Las muestras se almacenarán en un lugar oscuro y fresco.

Sellado y etiquetado de las muestras

31. Todas las muestras de laboratorio tomadas para uso oficial se sellarán en el lugar donde se tomó la muestra y se marcarán. Se mantendrá un registro de todas las toma de muestras que permita identificar cada lote de modo inequívoco, con fecha y lugar del muestreo y toda otra información adicional que pueda ser de utilidad para el analista.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**Precauciones**

32. Deberá evitarse la luz del sol todo lo posible durante la preparación de las muestras ya que las fumonisinas pueden descomponerse gradualmente por influencia de la luz ultravioleta. Además, la temperatura del medio ambiente y la humedad relativa se controlarán para que no favorezcan la formación de mohos y de fumonisinas.

Homogenización: trituración

33. Dado que la distribución de las fumonisinas es en extremo heterogénea, las muestras de laboratorio se homogenizarán triturando toda la muestra que se entregue al laboratorio. La homogeneización es un procedimiento que reduce el tamaño de las partículas y dispersa las partículas contaminadas en forma uniforme en toda la muestra triturada de laboratorio.
34. La muestra de laboratorio se molerá finamente y se mezclará bien con un procedimiento que consiga la máxima homogeneización posible, lo que significa que el tamaño de las partículas es muy pequeño y la variabilidad asociada a la preparación de la muestra se aproxima a cero. Una vez molido el producto se limpiará el molino para evitar la contaminación cruzada de fumonisinas.

Porción de análisis

35. El peso recomendado para la porción de análisis que se toma de la muestra triturada de laboratorio será aproximadamente de 25 gramos.
36. La selección de la porción de análisis de 25 g de la muestra triturada de laboratorio será un procedimiento aleatorio. Si se mezcló el producto durante o después del triturado, la porción de análisis de 25 g se puede tomar de cualquier parte de toda la muestra triturada de laboratorio. De otra manera, la porción de análisis de 25 g será la acumulación de varias porciones pequeñas tomadas de toda la muestra del laboratorio.
37. Se recomienda seleccionar tres porciones de análisis de cada muestra triturada de laboratorio. Las tres porciones se utilizarán para aplicación, apelación y confirmación, si fuera necesario.

MÉTODOS DE ANÁLISIS**Información general**

38. Conviene aplicar un enfoque basado en criterios, por el cual se establece una serie de criterios de acción a los que deberá ajustarse el método de análisis utilizado. Este tipo de enfoque tiene la ventaja de que como no se establecen detalles específicos del método utilizado se pueden aprovechar las novedades metodológicas sin tener que volver a examinar o modificar el método especificado. Los criterios de procedimiento establecidos para los métodos incluirán todos los parámetros que tenga que tratar el laboratorio, como el límite de detección, el coeficiente de repetibilidad o de variación (en el laboratorio), el coeficiente de reproducibilidad o variación (entre laboratorios) y el porcentaje de recuperación necesario para diversos límites reglamentarios. Se pueden utilizar métodos de análisis aceptados internacionalmente por los químicos (como la AOAC). Estos métodos son objeto de seguimiento y mejoramiento con regularidad, de acuerdo a la tecnología.

Criterios de funcionamiento para los métodos de análisis

39. Con el Reglamento CE No 401/2006, en el Cuadro 1 se presenta una lista de posibles criterios y niveles de funcionamiento. Este enfoque permite a los laboratorios utilizar el método de análisis más adecuado para sus instalaciones.

Cuadro 1. Criterios de funcionamiento para las fumonisinas B₁ y B₂.

| Nivel | | Precisión | | Recuperación (%) |
|---------|----------|-----------|--|------------------|
| (mg/kg) | RSDr (%) | RSDR (%) | | |
| ≤500 | ≤30 | ≤60 | | 60 a 120 |
| > 500 | ≤20 | ≤30 | | 70 a 110 |

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS PARA LAS FUMONISINAS Y NIVELES MÁXIMOS

40. El plan de muestreo para las fumonisinas se define por un procedimiento de análisis y un nivel máximo para esta toxina. Dado que los miembros del CCCF no han establecido un nivel máximo para las fumonisinas, en este anexo se evalúa una variedad de NM.
41. Los niveles máximos para las fumonisinas en maíz sin cáscara evaluados en este anexo son 1, 2, 3 y 10 mg/kg.
42. La elección del número y el tamaño de la muestra de laboratorio es una transacción entre minimizar los riesgos (falsos positivos y falsos negativos) y los costos relacionados con el muestreo y la limitación del comercio. Se evalúa una variedad de tamaños de muestras (1, 2 y 5 kg) utilizando una o dos muestras de laboratorio para aceptar o rechazar el lote.
43. Preparación de la muestra: triturar en seco con un molino adecuado y una porción de análisis de 25 g.
44. Método de análisis: basado en el funcionamiento (véase el Cuadro 1).
45. Regla para las decisiones: si el resultado del análisis de la muestra para las fumonisinas es inferior al nivel máximo establecido, se acepta el lote. De otra manera, se rechaza el lote.

FUNCIONAMIENTO DE VARIOS PLANES DE MUESTREO PARA LAS FUMONISINAS PARA EL MAÍZ SIN CÁSCARA

46. En los gráficos del 1 al 8 se muestra el desempeño de diversos planes de muestreo para las fumonisinas en maíz sin cáscara con muestras de laboratorio de 1, 2 y 5 kg y niveles máximos de 1, 2, 5 y 10 mg/kg (véase un debate sobre los límites en: Cuadro 6, Documento de debate sobre las fumonisinas, 3ª reunión del CCCF, Tema 9(a) del programa, CX/CF/09/3/09, febrero de 2009). El funcionamiento de cada modelo de plan de muestreo se describe mediante una curva característica de operación (CO). Todas las CO se determinaron utilizando relaciones de variabilidad para la toma de muestras, la preparación de las muestras y el análisis (ecuaciones 1, 2, 3 y 4) y la distribución binomial negativa (Whitaker *et al.*, 1998 y Whitaker *et al.* 2007). Las ecuaciones 1, 2 y 3 representan, respectivamente, la varianza del muestreo (S_s^2) para cualquier tamaño de muestra n_s en número de granos, la varianza de la preparación de la muestra (S_{sp}^2) para el molino Romer y cualquier tamaño de porción de análisis n_{ss} en g, así como la varianza analítica (S_a^2) para LC utilizando cualquier número de alícuotas n_a , como función de la concentración de fumonisinas C en mg/kg.

$$\text{Muestreo} \quad S_s^2 = (3,300/n_s) 0.033 C^{1.75} \quad (1)$$

$$\text{Prep. de la muestra} \quad S_{sp}^2 = (25/n_{ss}) 0.033 C^{1.59} \quad (2)$$

$$\text{Analítica} \quad S_a^2 = (1/n_a) 0.033 C^{1.44} \quad (3)$$

$$\text{Total de la varianza} \quad S_t^2 = S_s^2 + S_{sp}^2 + S_a^2 \quad (4)$$

Efecto del incremento del tamaño de la muestra de laboratorio

47. En los gráficos 1, 2, 3 y 4 se muestran las curvas características operativas que describen el funcionamiento del plan de muestreo para las fumonisinas en maíz sin cáscara, con muestras de laboratorio de 1, 2 y 5 kg y niveles máximos de 1, 2, 5 y 10 mg/kg, respectivamente. La curva característica operativa refleja la incertidumbre asociada a utilizar muestras de laboratorio de 1, 2 y 5 kg, la trituration de la muestra en un molino Romer, una porción de análisis de 25 g y la cuantificación de las fumonisinas en la porción de análisis con LC.

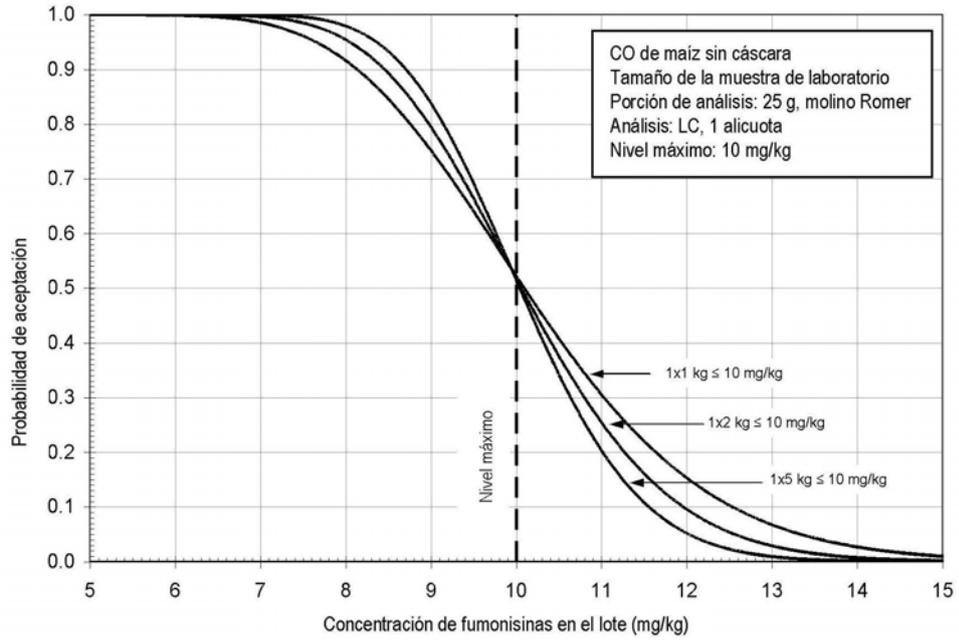


Gráfico 1. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 1, 2 y 5 kg para detectar las fumonisinas in lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 10 mg/kg.

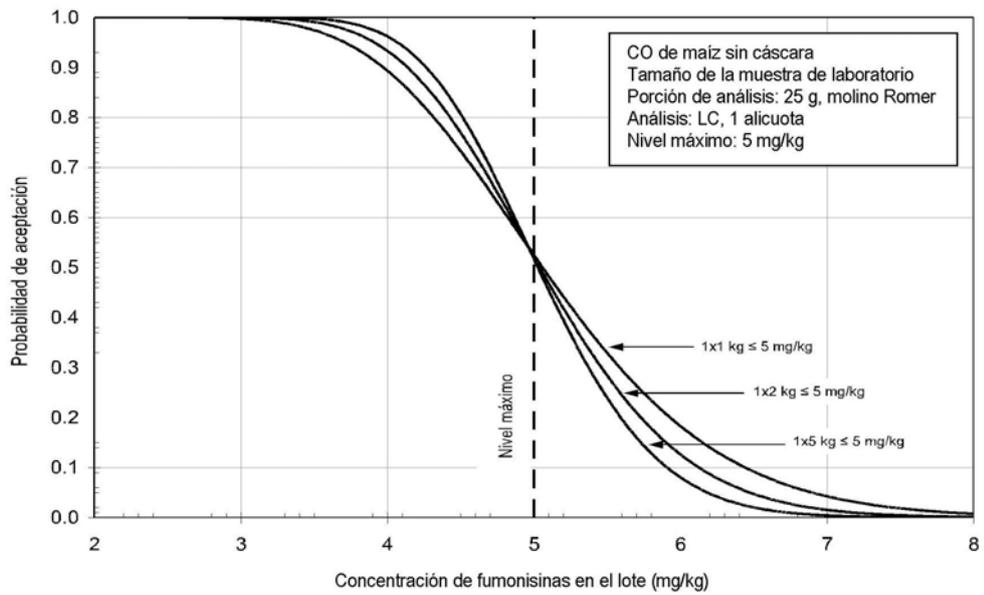


Gráfico 2. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 1, 2 y 5 kg para detectar las fumonisinas in lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 5 mg/kg.

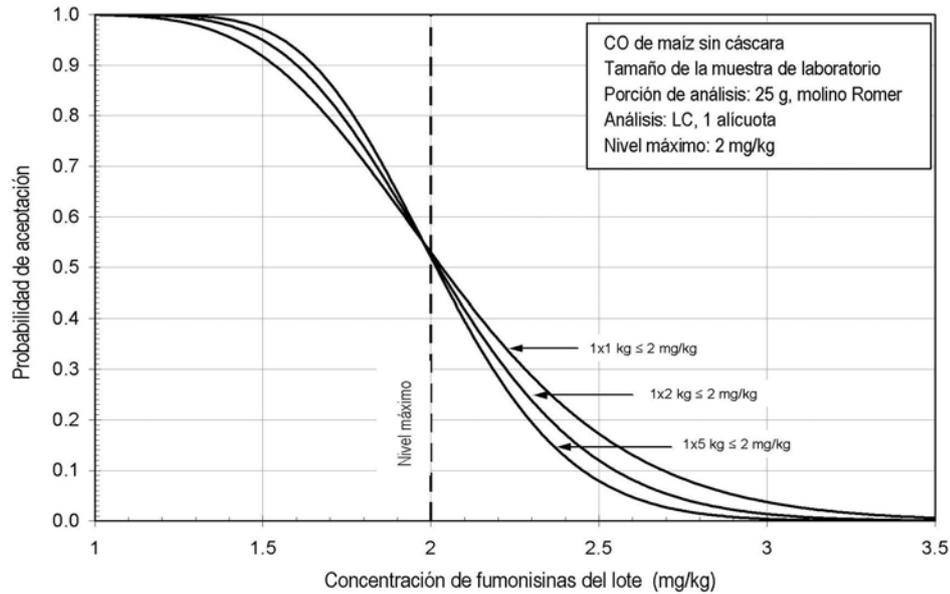


Gráfico 3. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 1, 2 y 5 kg para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 2 mg/kg.

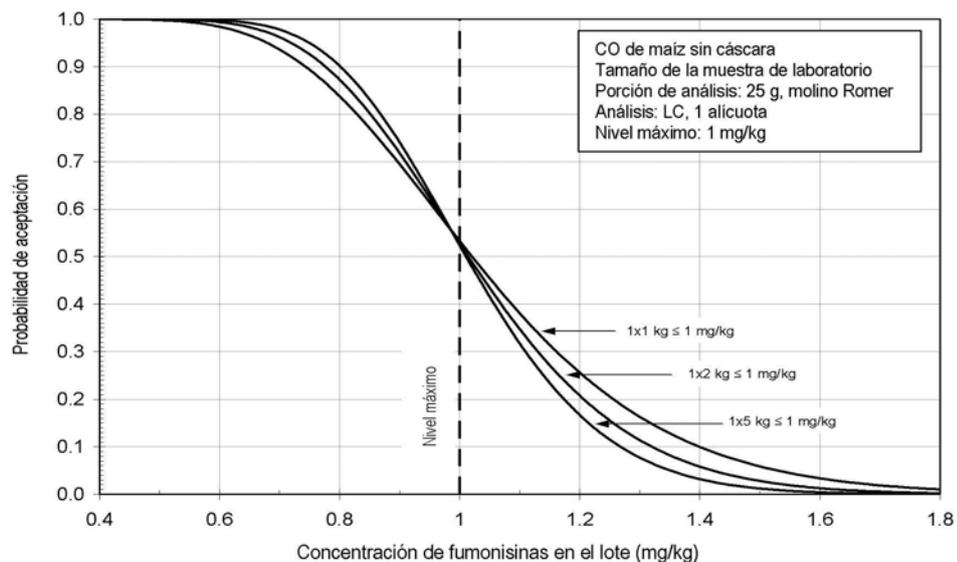


Gráfico 4. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 1, 2 y 5 kg para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 1 mg/kg.

48. Los distintos planes de muestreo de los gráficos 1, 2, 3 y 4 muestran los efectos de incrementar el tamaño de una sola muestra de laboratorio en las posibilidades de que se acepten o rechacen los lotes, con una gran variedad de concentraciones de fumonisinas en los lotes. Para cada nivel máximo, conforme aumenta el tamaño de la muestra, las posibilidades de que se rechacen los lotes (posibilidades de rechazo del lote = $1,0 -$ posibilidades de aceptación del lote) con concentraciones inferiores al NM disminuyen (se reducen los positivos falsos) y las posibilidades de que se acepten los lotes con concentraciones por encima del NM disminuyen (se reducen los negativos falsos). Incrementar el tamaño de la muestra produce el efecto conveniente de reducir tanto los positivos falsos como los negativos falsos al mismo tiempo.

Efecto de incrementar el número de muestras de laboratorio analizadas por lote

49. En los gráficos 5, 6, 7 y 8 se muestran, respectivamente, las curvas características de operación que describen el funcionamiento del plan de muestreo para las fumonisinas en maíz sin cáscara, donde el número de

muestras de laboratorio de 1,0 kg aumenta de 1 a 2 muestras y los niveles máximos varían de 1, 2, 5 y 10 mg/kg. La curva característica de operación refleja la incertidumbre asociada a la utilización de 1 o 2 muestras de laboratorio de 1,0 kg, la trituración de la muestra con un molino Romer, la porción de análisis de 25 g y la cuantificación de las fumonisinas en la porción de análisis mediante HPLC.

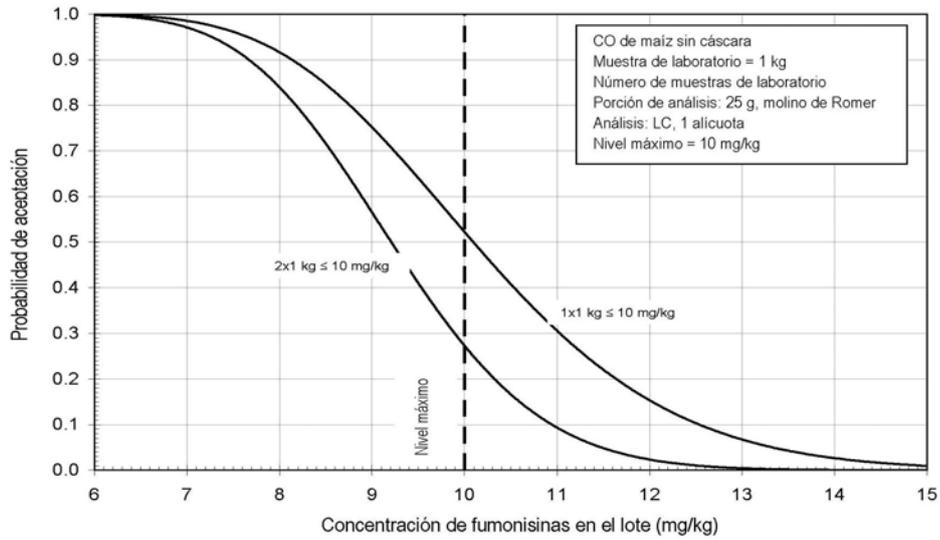


Gráfico 5. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 1,0 kg cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 10 mg/kg.

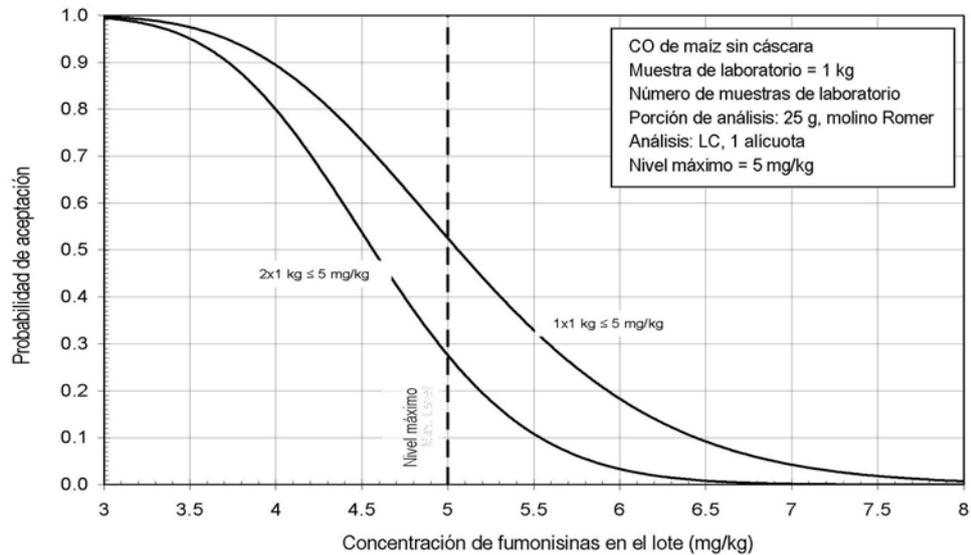


Gráfico 6. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 1,0 kg cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 5 mg/kg.

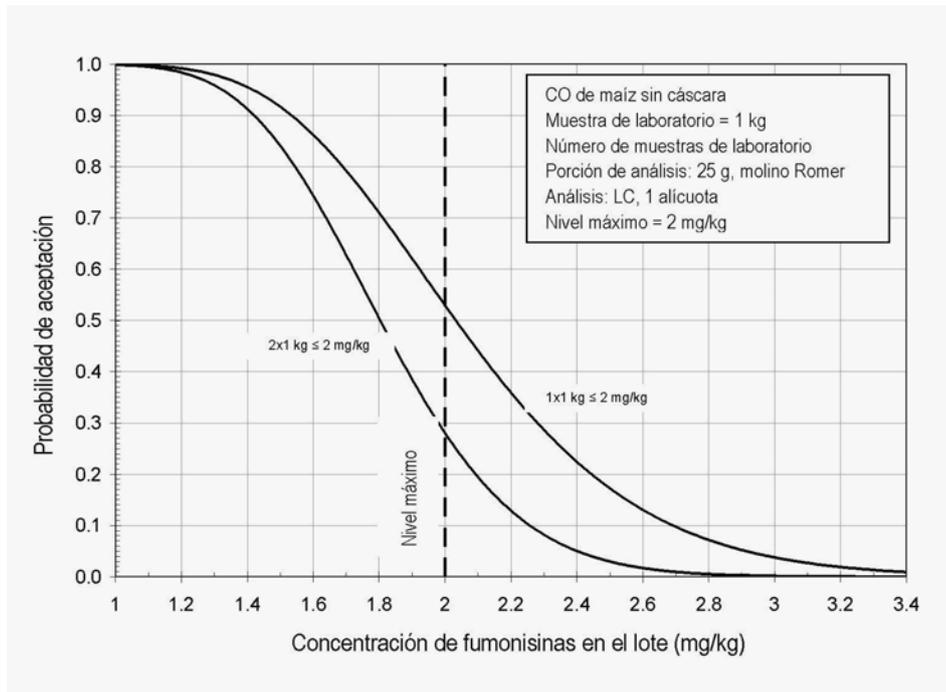


Gráfico 7. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 1,0 kg cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 2 mg/kg.

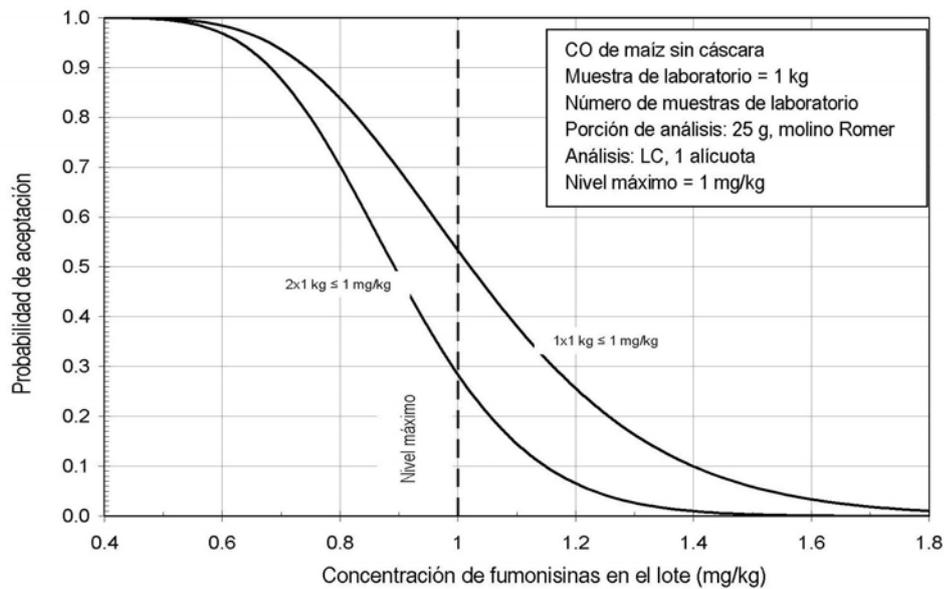


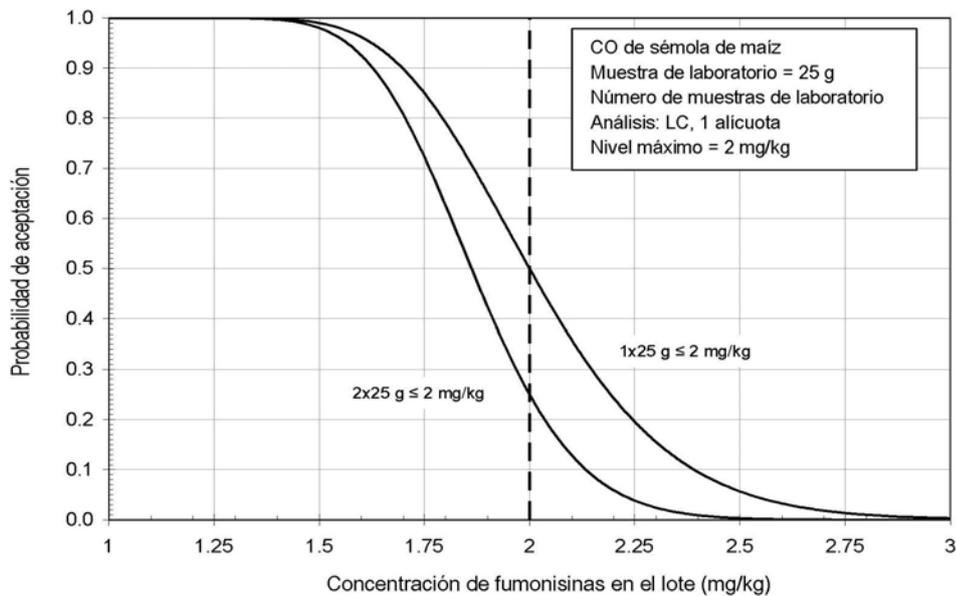
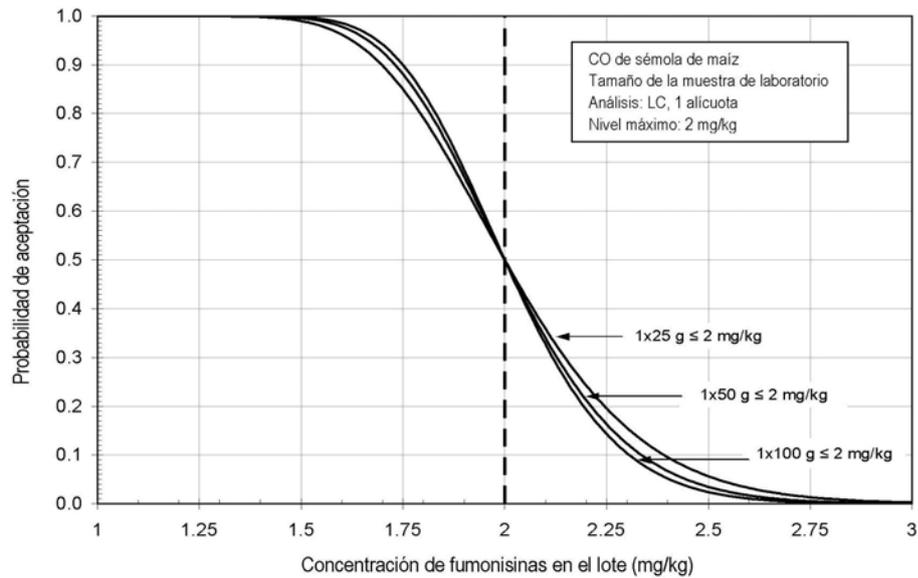
Gráfico 8. Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 1,0 kg cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 1 mg/kg.

50. Los gráficos 5, 6, 7 y 8 muestran el efecto de incrementar el número de muestras de laboratorio todas las cuales tienen que producir resultados por debajo del NM respecto a las posibilidades de que se acepten o rechacen lotes de una gran cantidad de concentraciones de fumonisinas. Para cada nivel máximo, conforme aumenta el número de muestras de 1 a 2 (cada una de 1,0 kg), aumentan las posibilidades de que se rechacen los lotes con concentraciones inferiores al NM (aumentan los positivos falsos) y disminuyen las posibilidades de que se acepten lotes con concentraciones por encima del NM (se reducen los negativos falsos). Aumentar el número de muestras analizadas por lote es un método eficaz para reducir las posibilidades de obtener negativos falsos, pero tiene un costo elevado para el exportador porque incrementa las posibilidades de

obtener positivos falsos.

51. Como lo muestran las CO de los gráficos 1 al 8, la interacción entre el nivel máximo, el tamaño de la muestra de laboratorio y el número de muestras de laboratorio se puede utilizar para reducir al mínimo las posibilidades de aceptar lotes con concentraciones de fumonisinas por encima de un determinado nivel. Por ejemplo, si el CCCF no quisiera que un plan de muestreo aceptara más del 10% de los lotes a 6 mg/g o más, entonces $1 \times 5 \text{ kg} \leq 5 \text{ mg/kg}$ (Gráfico 2) o $2 \times 1 \text{ kg} \leq 5 \text{ mg/kg}$ (Gráfico 6) satisfaría ese criterio.

Muestreo de maíz sin cáscara triturado (harina de maíz) para detectar las fumonisinas



Se calcularon las curvas características de operación elaboradas para tomar muestras de maíz sin cáscara triturado (sémola de maíz) con tamaños específicos de las muestras y métodos analíticos utilizando la medición de las varianzas de Whitaker *et al.*, 1998. Las varianzas del muestreo y el análisis son:

Varianza del muestreo = $(25/ns) 0.011 C^{1.59}$ (1)

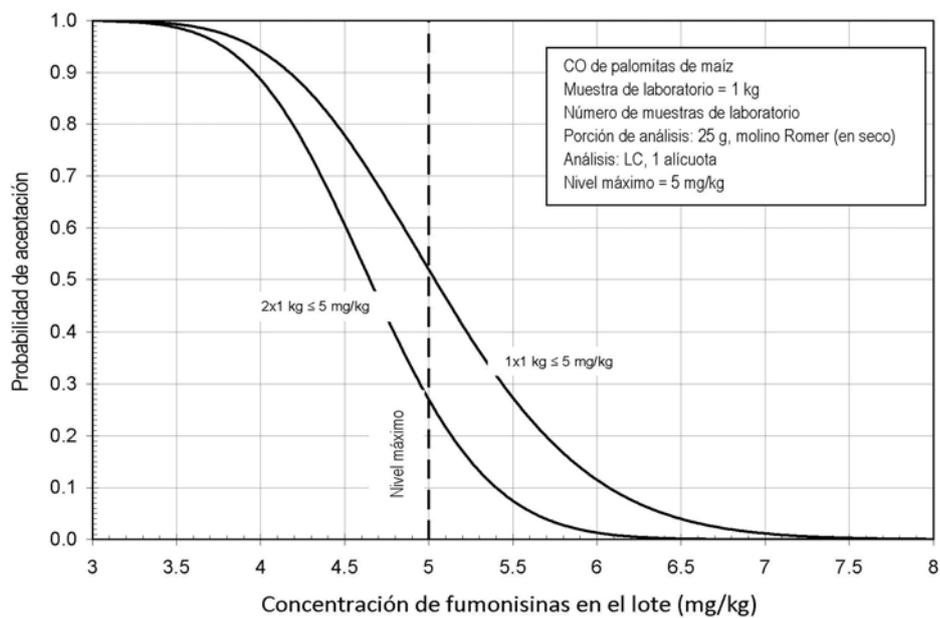
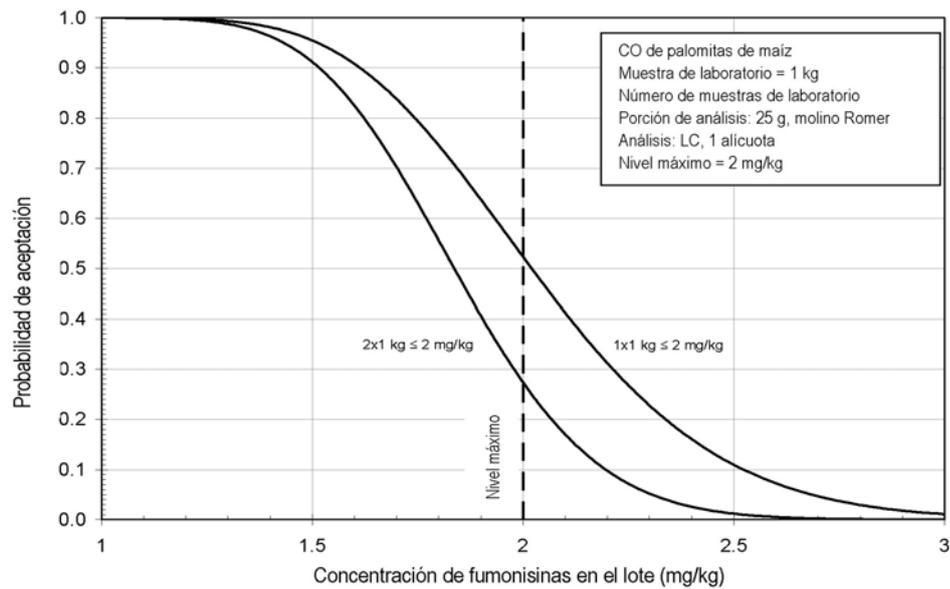
Varianza del análisis = $(1/na) 0.014 C^{1.44}$ (2)

Donde ns es el tamaño de la muestra en gramos y na es el número de alícuotas cuantificadas por LC.

La varianza del muestreo (ecuación 1) refleja una distribución del tamaño de las partículas congruente con triturar el maíz sin cáscara con el molino Romer.

La varianza analítica (ecuación 2) refleja la cuantificación de las fumonisinas en una alícuota con métodos de LC.

Toma de muestras de palomitas de maíz para detectar las fumonisinas



Las curvas características de operación elaboradas para tomar muestras de palomitas de maíz con tamaños específicos de las muestras, y los métodos analíticos se calcularon utilizando la medición de las varianzas de Whitaker *et al.*, 1998. La toma de muestras, la preparación de las muestras y las varianzas analíticas son:

$$\text{Varianza del muestreo} = (3300/ns) 0.033 C^{1.75} \quad (1)$$

$$\text{Varianza de la preparación del muestreo} = (25/nss) 0.011 C^{1.59} \quad (2)$$

$$\text{Varianza del análisis} = (1/na) 0.014 C^{1.44} \quad (3)$$

La varianza del muestreo (ecuación 1) refleja un conteo de granos de 73 granos de maíz para palomitas por 10 g. Este conteo por gramos fue un promedio de conteos por gramo que varió de 59 a 94 granos por 10 g (Iowa State University <http://www.ag.iastate.edu/centers/cad/popcorn.html>). El número de granos, nx, en una muestra de laboratorio de 1 kg es 8030.

La varianza de la preparación de las muestras refleja la trituración de la muestra de laboratorio con un molino Romer y una porción de análisis de 25 g tomada de la muestra de laboratorio para extracción mediante LC.

La varianza analítica (ecuación 2) refleja la cuantificación de las fumonisinas en una alícuota mediante métodos de LC.