

commission du codex alimentarius



ORGANISATION DES NATIONS
UNIES POUR L'ALIMENTATION
ET L'AGRICULTURE

ORGANISATION
MONDIALE
DE LA SANTÉ



F

BUREAU CONJOINT: Viale delle Terme di Caracalla 00153 ROME Tél: +39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Point 6 de l'ordre du jour

CX/CF 10/4/6
Décembre 2009

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES CONTAMINANTS DANS L'ALIMENTATION

Quatrième session
Izmir, Turquie, 26 – 30 avril 2010

AVANT-PROJET DE NIVEAUX MAXIMAUX POUR LES AFLATOXINES TOTALES DANS LES NOIX DU BRÉSIL (N11-2008)

Les membres et observateurs du Codex souhaitant soumettre des observations à l'étape 3 sur la question indiquée ci-dessus (**Annexe I et annexe II à ce document**), y compris les éventuelles implications pour leurs intérêts économiques, devraient le faire conformément à la *procédure uniforme pour l'élaboration des normes Codex et textes affiliés* (Manuel de procédure de la Commission du Codex Alimentarius) avant le **28 février 2010**. Les observations devraient être adressées :

à:

Ms Tanja Åkesson
Codex Contact Point
Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality
P.O. Box 20401
2500 EK The Hague
The Netherlands
Tel.: +31 70 378.4045
Fax.: +31 70 378.6141
E-mail: t.z.j.akesson@minlnv.nl – *de préférence* -

avec une copie à:

Secretary, Codex Alimentarius Commission,
Joint FAO/WHO Food Standards Programme,
Viale delle Terme di Caracalla,
00153 Rome, Italy
Fax: +39 (06) 5705 4593
E-mail: codex@fao.org – *de préférence* -

GÉNÉRALITÉS

1. Lors du 3^{ème} CCCF, la délégation du Brésil a introduit un document de travail qui a examiné l'occurrence des aflatoxines dans les noix du Brésil, en prenant en compte l'évaluation effectuée par le JECFA lors de sa 68^{ème} session sur l'impact de différentes limites hypothétiques des aflatoxines totales (AFT) dans les arbres à fruits à coque, y compris les noix du Brésil, sur l'ingestion diététique, les résultats du projet Conforcast (2005-2009) soumis par le gouvernement du Brésil et les niveaux maximaux proposés, ainsi que le plan d'échantillonnage. En conséquence de ces considérations, il a été proposé d'établir quatre catégories de produits et les niveaux maximaux correspondants: Les noix du Brésil écalées prêtes à consommer; les noix du Brésil destinées à une transformation ultérieure; les noix du Brésil en coque prêtes à consommer; les noix du Brésil en coque destinées à transformation ultérieure.
2. Lors de la 3^{ème} session, il est convenu de renvoyer l'avant-projet de document à l'étape 2 pour reformulation par la délégation du Brésil, pour circulation pour observations à l'étape 3 et examen par la 4^{ème} session du comité¹.
3. Le présent document a été préparé par le Brésil avec les contributions de la Communauté

¹ ALINORM 09/32/41, paragraphes 68 - 78

Européenne, la Suède, le Royaume-Uni et les États-Unis d'Amérique.

4. En vue de la préparation du document, certains ont formulé l'opinion que le niveau maximal devrait être établi sur la base du niveau prévu de noix (prêtes à consommer ou destinées à une transformation ultérieure), sans distinction entre les noix écalées et les noix en coque. Le Brésil aimerait insister sur le fait que les noix du Brésil constituent un cas particulier et continue à proposer un niveau maximal distinct pour les noix du Brésil en coque.

5. En outre, l'emploi des niveaux d'aflatoxine dans les noix pourries dans le calcul du facteur de transformation (PF) a été augmenté. Alors que le Brésil soutient que les consommateurs ne mangeront jamais des noix pourries (à l'aspect noir et au goût détestable), donc ne seront jamais exposés à des niveaux très élevés d'aflatoxines, certains pays sont d'avis que la charge de la sélection des bonnes noix ne devrait pas être confiée aux consommateurs.

6. Il est important de souligner les caractéristiques de la noix du Brésil. De nombreuses initiatives ont été prises pour l'implantation de bonnes pratiques de récolte dans le pays; toutefois, un contrôle complet de la chaîne de production de la récolte est impossible suite aux caractéristiques propres de la forêt amazonienne. En outre, actuellement, il n'existe pas de bonne procédure afin de trier les noix du Brésil en coque saines ou mauvaises.

7. Il a été souligné que seule une partie limitée de toutes les noix du Brésil récoltées est mise sur le marché en tant que noix du Brésil en coque prêtes à consommer. Toutefois, ce marché existe et son élimination aurait un impact économique sur la population amazonienne sans apporter une protection supplémentaire aux consommateurs. En outre, le projet Conforcast a été exécuté à partir de lots de noix du Brésil en coque destinées à être commercialisées.

8. L'avant-projet de niveaux maximaux pour les aflatoxines totales dans les noix du Brésil est présenté dans l'Annexe I, les plans d'échantillonnage combinés dans l'Annexe II et l'historique afin d'appuyer les niveaux proposés dans l'Annexe III à ce document.

ANNEXE I

Les niveaux maximaux suivants des aflatoxines totales dans les produits à base de noix du Brésil sont recommandés afin d'être utilisés dans le commerce international:

Produit noix du Brésil	NM AFT, µg/kg
Ecalées, prêtes à consommer	10
Ecalées, destinées à transformation ultérieure	15
En coque	20

En tenant compte de:

- L'existence du marché international pour à la fois les noix du Brésil écalées et en coque et le besoin d'établir des niveaux maximaux pour les deux produits afin de faciliter le commerce international;
- La phase technologique actuelle de transformation des noix du Brésil en coque qui ne permet pas la séparation complète des noix pourries;
- L'incidence des données des aflatoxines dans les noix du Brésil évaluées dans ce document, y compris les données indiquées par le projet Conforcast pour les noix du Brésil en coque, qui ont montré l'impact des noix pourries dans la contamination des AFT dans les noix du Brésil en coque.

ANNEXE II

PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LES AFLATOXINES TOTALES DANS LES NOIX DU BRÉSIL

Cet appendice constituera une partie DES PLANS D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LA CONTAMINATION PAR LES AFLATOXINES DES FRUITS À COQUE PRÊTS À CONSOMMER ET LES FRUITS À COQUE DESTINÉS À UNE TRANSFORMATION ULTÉRIEURE: AMANDES, NOISETTES ET PISTACHES (CODEX STAN 193-1995, tableau I, Annexe 2). Les aspects relatifs aux noix du Brésil qui sont différents des autres noix seront couverts par cette annexe.

EXAMEN DU CONCEPT DU PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE

Les noix du Brésil peuvent être commercialisées en tant que “noix du Brésil écalées prêtes à consommer”, “noix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure”, et “noix du Brésil en coque”, ainsi que définies ci-dessous. En conséquence les niveaux maximaux et les plans d'échantillonnage sont proposés pour tous les types commerciaux de noix du Brésil.

Les noix du Brésil écalées prêtes à consommer: sont des noix écalées (cerneaux uniquement) qui peuvent être directement commercialisées au consommateur final.

Les noix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure: sont des noix écalées (cerneaux uniquement) qui sont destinées à subir un processus de triage et/ou écalage afin de réduire les niveaux d'aflatoxines avant d'être commercialisées au consommateur final.

Les noix du Brésil en coque: sont des noix en coque qui peuvent être directement commercialisées au consommateur final et qui sont destinées à subir un processus de triage/écalage afin de réduire les niveaux d'aflatoxines avant d'être commercialisées au consommateur final.

Les lots de noix du Brésil en coque comprennent toujours les noix pourries à cause de la caractéristique extractiviste des noix dans la forêt tropicale et les aspects de transformation technologique. Les résultats du projet Conforcast montrent que la ségrégation des noix pourries de l'échantillon global (échantillon analytique) avant analyse pourrait donner une estimation de la contamination par les aflatoxines présente dans les noix saines, ainsi qu'il en a été discuté dans les paragraphes 52-57.

PROCÉDURE D'ESSAI POUR LES AFLATOXINES ET NIVEAUX MAXIMAUXNoix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure

Niveau maximal – 15 ng/g d'aflatoxines totales

Nombre d'échantillons de laboratoire – 1

Taille de l'échantillon de laboratoire- 20 kg

Préparation de l'échantillon – échantillons (CERNEAUX) seront finement broyés et mélangés en utilisant un procédé comme par exemple un broyeur-mélangeur à hachoirs verticaux, qui a démontré fournir la variation de préparation d'échantillonnage la plus basse

Prise d'essai de 100 g (pâte : 50 g cerneaux: 50 g d'eau)

Règle de décision – Si le résultat du test d'aflatoxine est inférieur ou égal à 15 ng/g d'aflatoxines totales, alors le lot doit être accepté. Sinon, il faut rejeter le lot.

La courbe d'efficacité décrivant la performance du plan d'échantillonnage pour les noix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure est indiquée dans l'Appendice II.

Noix du Brésil écalées prêtes à consommer:

Niveau maximal – 10 ng/g d'aflatoxines totales

Nombre d'échantillons de laboratoire – 2

Taille de l'échantillon de laboratoire- 10 kg

Préparation de l'échantillon – échantillons (CERNEAUX) seront finement broyés et mélangés en utilisant un procédé comme par exemple un broyeur-mélangeur à hachoirs verticaux, qui a démontré fournir la variation de préparation d'échantillonnage la plus basse

Prise d'essai de 100 g (pâte : 50 g cerneaux: 50 g d'eau)

Règle de décision – Si le résultat du test d'aflatoxine est inférieur ou égal à 10 ng/g d'aflatoxines totales dans les deux tests d'échantillonnage, alors le lot doit être accepté. Sinon, il faut rejeter le lot.

La courbe d'efficacité décrivant la performance du plan d'échantillonnage pour les noix du Brésil écalées prêtes à consommer est indiquée dans l'Appendice à ces plans d'échantillonnage.

Noix du Brésil en coque prêtes à consommer :

Niveau maximal – 20 ng/g d'aflatoxines totales

Nombre d'échantillons de laboratoire – 1

Taille de l'échantillon de laboratoire- 20 kg (noix du Brésil en coque)

Préparation de l'échantillon – les échantillons seront finement broyés et mélangés en utilisant un procédé comme par exemple un broyeur-mélangeur à hachoirs verticaux, qui a démontré fournir la variation de préparation d'échantillonnage la plus basse

Prise d'essai de 100 g (pâte: 50 g de noix: 50 g d'eau)

Dans le cas des « noix du Brésil en coque » la prise d'essai doit être la noix entière étant donné que le retrait de la partie non comestible (coque) n'est pas praticable. % taux cerneau : coque est de 0.5.

Règle de décision – Si le résultat du test d'aflatoxine est en dessous ou égal à 20 ng/g d'aflatoxines totales, alors le lot doit être accepté. Sinon, il faut rejeter le lot.

La courbe d'efficacité décrivant la performance du plan d'échantillonnage pour les noix du Brésil en coque prêtes à consommer est indiquée dans l'Appendice II.

Annexe

Les courbes d'efficacité décrivant la performance du projet des plans d'échantillonnage d'aflatoxines pour les noix du Brésil

Pour chaque lot, la distribution observée parmi les 40 résultats relatifs aux échantillon d'aflatoxines (aflatoxines totales) pour les noix du Brésil écalées a été comparé à trois distributions positivement asymétriques analytiques, la bionomale négative, le composé gamma, et la distribution log-normale théorique. La méthode de pouvoir divergent a été utilisé pour mesurer le test d'ajustement (GOF) entre les distributions observées et théoriques. La binomiale négative a été choisie pour stimuler la distribution parmi les résultats de test des échantillons pour une concentration donnée d'un lot et le concept d'un échantillon. La binomiale négative a également été choisie pour stimuler la distribution parmi les résultats de test d'échantillon pour les amandes, noisettes et pistaches.

Un ensemble de probabilités d'acceptation versus concentration du lot est appelé une courbe d'efficacité caractéristique (OC). La forme de la courbe OC est uniquement définie par le concept du plan d'échantillonnage. Un plan d'échantillonnage est défini par une limite d'acceptation/rejet et la procédure de testage de l'aflatoxine. Une procédure de testage de l'aflatoxine est définie par le nombre et la taille des échantillons, la méthode de préparation de l'échantillon (type broyeur-mélangeur et la taille de la prise d'essai), ainsi qu'une procédure analytique. La courbe d'efficacité fournit une estimation des bons lots rejetés (risque du vendeur ou de l'exportateur) et des mauvais lots acceptés (risque de l'acheteur ou l'importateur).

Noix du Brésil écalées

L'estimation des variances associée à chaque étape du plan d'échantillonnage pour les noix du Brésil écalées est indiquée dans le tableau 1.

Tableau 1. Variances dans les étapes du plan d'échantillonnage pour les noix du Brésil écalées

Données utilisées pour l'analyse de la variance	Variance de l'échantillon	Variance de la préparation de l'échantillon	Variance de l'analyse	Total de la variance
Noix du Brésil écalées - Issu de l'étude des noix du Brésil écalées - Lots, Aflatoxine totale <0,39 ug/kg omises - Cerneaux uniquement - 15 lots, échantillon de 10 kg, 185 cerneaux/kg	$s_s^2 = 4,8616C^{1,889}$ R = 0,80	$s_{ss}^2 = 0.0306C^{0,632}$ R = 0,24	expérimental $s_a^2 = 0,0164C^{1,117}$ R = 0,43 FAPAS $s_a^2 = 0,0484C^{2,0}$	$s_t^2 = 5,464C^{1,850}$ R = 0,73

Noix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure

La courbe d'efficacité décrivant la performance du plan d'échantillonnage de l'aflatoxine pour les noix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure utilisant un échantillon de laboratoire unique de 20 kg et un niveau maximal de 15 ng/g pour les aflatoxines totales est indiquée dans la figure 1. La courbe d'efficacité reflète l'incertitude associée à un échantillon de laboratoire de 20 kg de noix écalées, broyeur-mélangeur à hachoirs verticaux, prise d'essai de 100 g (pâte: 50 g de cerneau, 50 g d'eau), et quantification de l'aflatoxine dans la prise d'essai par HPLC - FL avec dérivation postcolonne avec Kobra Cell.

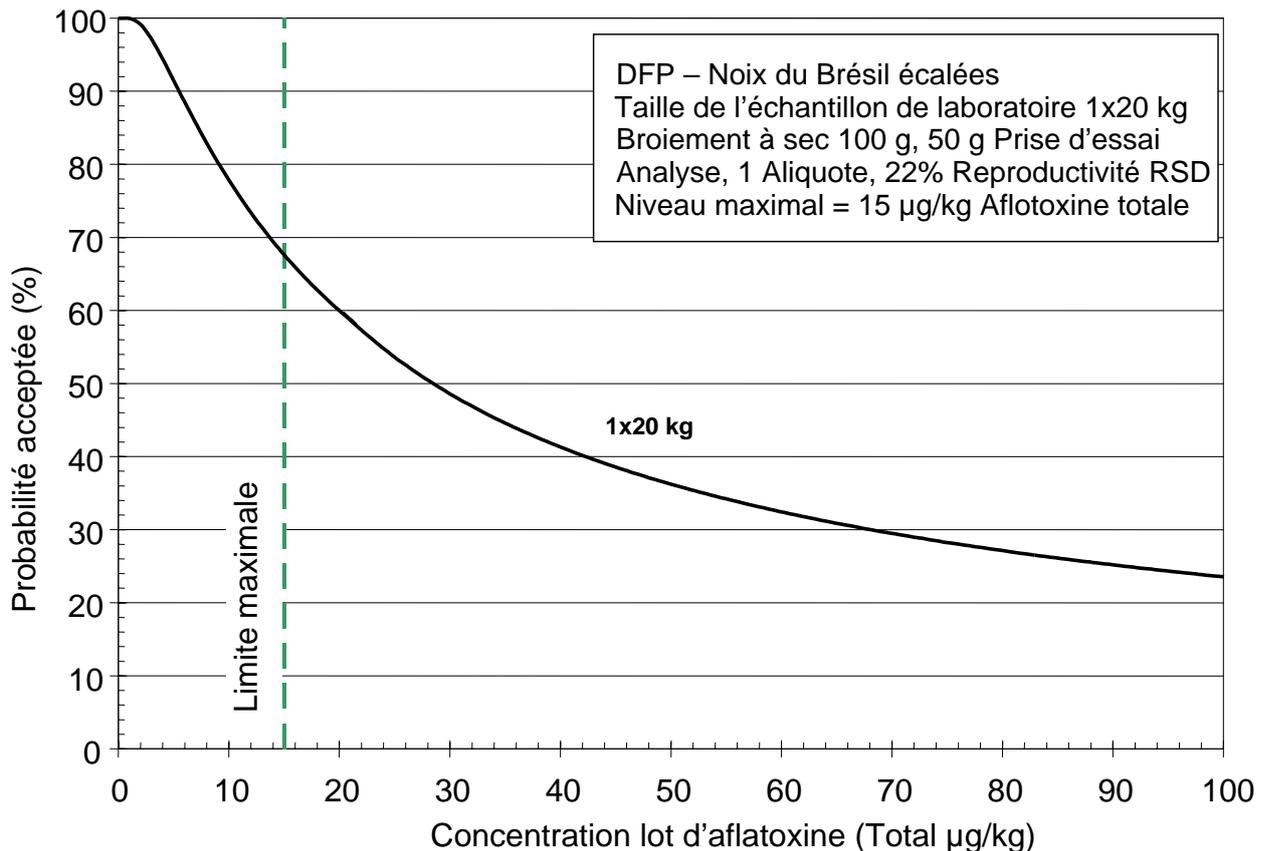


Figure 1 – Les courbes d'efficacité pour les noix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure (DFP) à une limite maximale de 15 µg/kg

La courbe d'efficacité décrivant la performance du plan d'échantillonnage d'aflatoxine pour les noix du Brésil écalées prêtes à consommer utilisant deux échantillons de laboratoire de 10 kg chacun et un niveau maximal de 10 ng/g pour les aflatoxines totales, broyeur-mélangeur à hachoirs verticaux, prise d'essai de 100g (pâte: 50 g de cerneau: 50 g d'eau), et quantification de l'aflatoxine dans la prise d'essai par HPLC - FL avec dérivation postcolonne avec Kobra Cell est indiquée dans la figure 2.

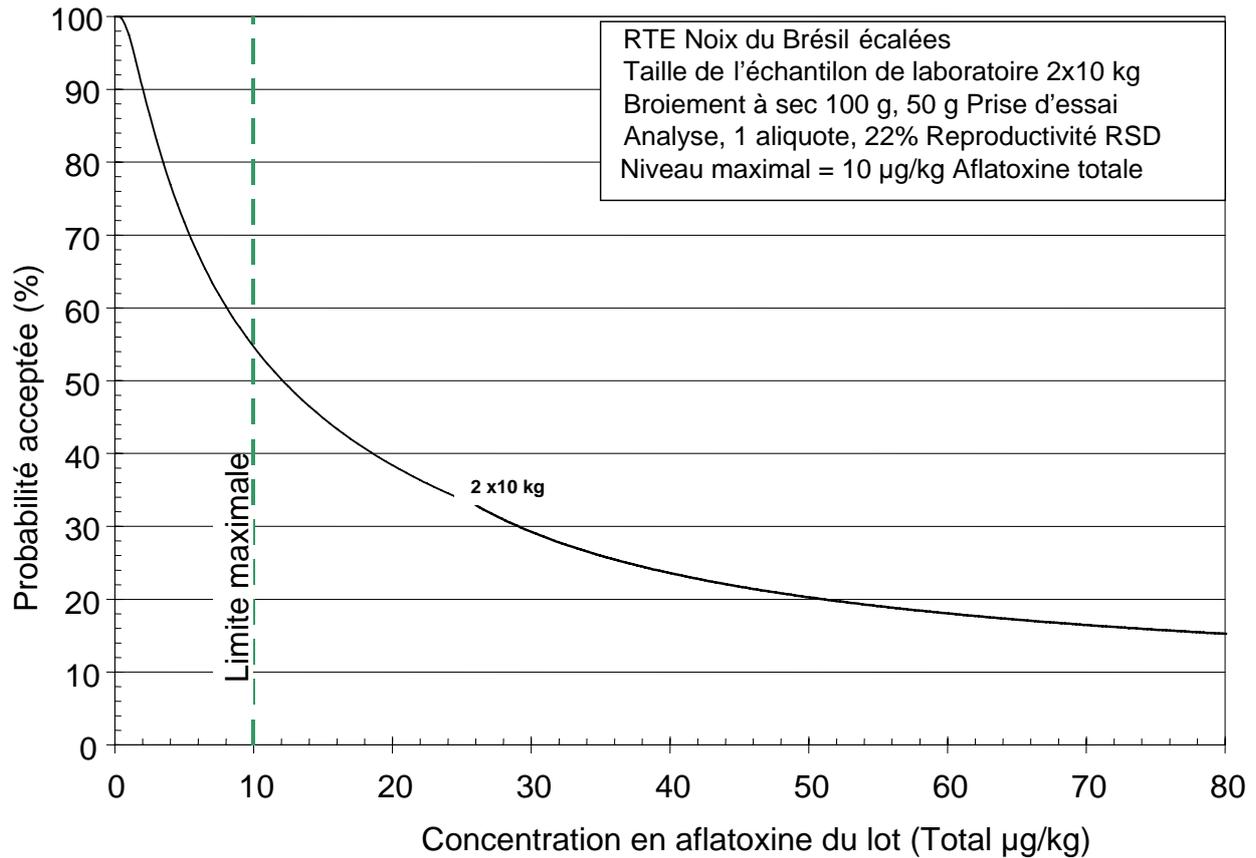


Figure 2 - La courbe d'efficacité pour les noix du Brésil écalées prêtes à consommer (RTE) à une limite maximale de 10 µg/kg

Noix du Brésil en coque

L'estimation des variances associée à chaque étape du plan d'échantillonnage pour les noix du Brésil en coque est indiquée dans le tableau 2.

Tableau 2. Variances dans les étapes du plan d'échantillonnage pour la noix du Brésil en coque

Données utilisées pour l'analyse de la variance	Variance de l'échantillon	Variance de la préparation de l'échantillon	Variance de l'analyse	Total de la variance
Noix du Brésil en coque - Issu de l'étude II en coque (jeu 5) - Aflatoxine totale - Échantillon de 10 kg, 97 noix/kg	$s_s^2 = 0,797C^{1,898}$ * calculé à partir du total	$s_{ss}^2 = 0.0306C^{0,632}$ R = 0,24	expérimental $s_a^2 = 0,0164C^{1,117}$ R = 0,43 FAPAS $s_a^2 = 0,0484C^{2,0}$	$s_t^2 = 0,8219C^{1,8913}$ R = 0,88

Noix du Brésil en coque destinées à une transformation ultérieure

La courbe d'efficacité décrivant la performance du plan d'échantillonnage d'aflatoxine pour les noix du Brésil en coque destinées à une transformation ultérieure utilisant un échantillon de laboratoire unique de 20

kg et un niveau maximal de 20 ng/g pour les aflatoxines totales est indiquée dans la figure 3. Les courbes d'efficacité reflètent l'incertitude liée à un échantillon de laboratoire de 20 kg de noix en coque, broyeur-mélangeur à hachoirs verticaux, prise d'essai de 100 g (pâte: 50 g de cerneau: 50 g d'eau), et quantification de l'aflatoxine dans la prise d'essai par HPLC - FL avec une dérivation post-colonne avec Kobra Cell.

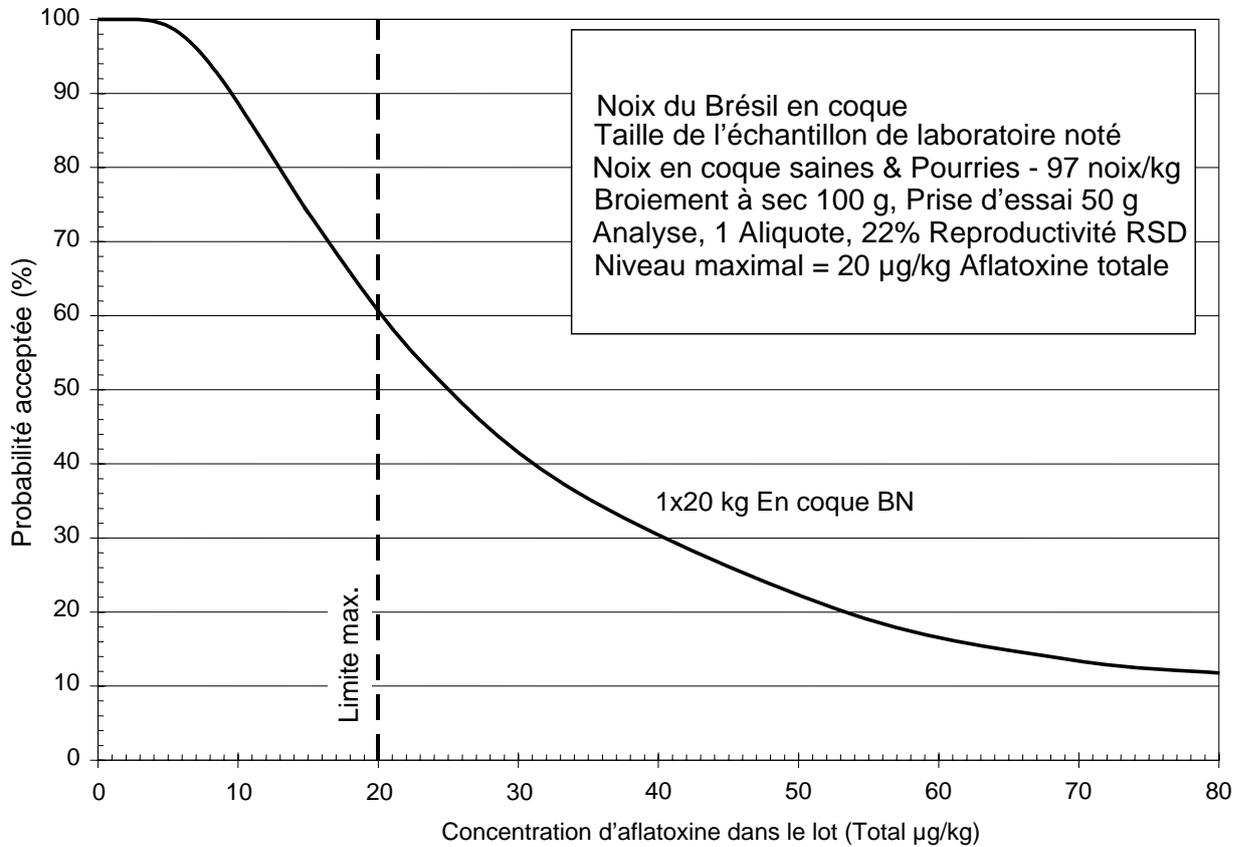


Figure 3. La courbe d'efficacité pour les noix du Brésil en coque à un niveau maximal de 20 µg/kg

ANNEXE III

Informations de base

INTRODUCTION

1. La contamination par les aflatoxines est un problème potentiel dans les fruits à coque et autres produits tels que le maïs, les arachides, les graines oléagineuses, les produits à base de cacao, les fruits secs et les épices. Le présent document de travail ne concerne que les noix du Brésil qui, parmi les principaux fruits à coque commercialisés, sont les seules dont la production est basée sur l'activité extrativiste. L'extrativisme peut être défini comme un procédé de ramassage et manutention primaire des produits de la forêt qui sont destinés au commerce national et international (CAC/RCP 59-2005).

2. Les noix du Brésil sont les graines de l'arbre *Bertholletia excelsa* Humb. & Bompl., qui pousse à l'état sauvage dans la forêt pluviale amazonienne. Ces arbres peuvent atteindre jusqu'à 60 mètres de haut, donner des fruits au bout de 12 années, et vivre jusqu'à 500 ans. Ils forment des bosquets de 50 à 100 arbres, espacés d'un maximum d'1 Km les uns des autres; la pollinisation est pratiquée par des abeilles sauvages de grosse corpulence, notamment les abeilles *Euglossinae* (Wadt *et al.*, 2005).

3. La forêt tropicale amazonienne possède de multiples écosystèmes présentant une vaste biodiversité. Elle joue un rôle important dans l'équilibre météorologique mondial et abrite de nombreuses ethnies indigènes. Le climat équatorial est chaud et humide, la température moyenne est de 26°C et l'humidité relative de 80 à 95 pour cent.

4. L'extrativisme des noix du Brésil constitue une activité importante pour les populations indigènes des pays producteurs, elle stimule l'utilisation durable des ressources naturelles renouvelables tout en conciliant le développement social et la préservation. Elle n'entraîne pas la destruction de la forêt et ne menace pas non plus l'équilibre écologique et l'environnement. Au contraire les arbres *Bertholletia Excelsa* sont essentiels dans la forêt tropicale étant donné qu'ils aident à maintenir l'équilibre dans la relation entre la flore et la faune.

5. Le nombre des cueilleurs et des transformateurs vivant de l'industrie des noix du Brésil est de l'ordre d'1,2 million au Brésil, 600 000 en Bolivie et 200 000 au Pérou. En 2006, la production mondiale totale a atteint 20100 tonnes, dont environ 64 pour cent en provenance de la Bolivie, 24 pour cent du Brésil et 12 pour cent du Pérou (INC, 2007)

6. Un Code d'usages pour la prévention et la réduction de la contamination des fruits à coque par les aflatoxines a été adopté par la Commission à sa 28^{ème} session (CAC, 2001); une annexe spécifique aux noix du Brésil a été adoptée par la Commission à sa 29^{ème} session. Cette annexe a été révisée en prenant en compte les résultats du projet SAFENUT (STDF, 2009). Les informations fournies par la Fondation internationale des noix et fruits secs (INC) a indiqué que les industries et les producteurs ont fait des efforts considérables dans les dernières 15 années afin de minimaliser la croissance fongique et la production d'aflatoxine dans les arbres à fruits à coque. Notamment, concernant les noix du Brésil, les conditions climatiques du milieu amazonien et les caractéristiques de l'extrativisme (ramassage et manutention primaire) ne sont pas contrôlables et agissent directement et indirectement sur la formation des champignons toxigènes et des aflatoxines.

7. La transformation/le traitement qui a prouvé réduire les niveaux d'aflatoxines dans les noix du Brésil comprend l'écalage ou le triage par taille, la gravité spécifique, la couleur ou détérioration visuelle. Les noix du Brésil prêtes à consommer (RTE) sont celles qui ne sont pas destinées à subir une transformation ou un traitement ultérieurs reconnus avant d'atteindre le consommateur final; Celles destinées à un traitement ultérieur (DFP) sont destinées à subir un tel procédé. Les noix du Brésil peuvent être commercialisées écalées ou en coque, pour les deux sortes prêtes à consommer (RTE) et destinées à un traitement ultérieur (DFP). Chacun de ses produits alimentaires est défini comme suit:

Les noix du Brésil écalées prêtes à consommer: sont des noix écalées (cerneaux uniquement) qui peuvent être directement commercialisées au consommateur final.

Les noix du Brésil écalées destinées à une transformation ultérieure: sont des noix écalées (cerneaux

uniquement) qui sont destinées à subir un processus de triage afin de réduire les niveaux d'aflatoxines avant d'être commercialisées au consommateur final.

Les noix du Brésil en coque: sont des noix en coque qui peuvent être directement commercialisées au consommateur final ou qui sont destinées à subir un processus de triage ou un processus d'écalage afin de réduire les niveaux d'aflatoxines avant d'être commercialisées au consommateur final.

8. Les conditions de production des noix du Brésil ne peuvent pas être contrôlées comme cela en est le cas pour les autres noix, et par conséquent les noix écalées et en coque demande davantage de considération.

9. Ce document examine les nombreux aspects rattachés aux aflatoxines dans les noix du Brésil, y compris l'occurrence, l'évaluation de l'ingestion alimentaire et les niveaux maximaux. Outre les informations fournies antérieurement, cette version révisée comprend des informations du projet SAFENUT (STDF, 2009) et des données additionnelles du projet CONFORCAST. Un plan d'échantillonnage pour les aflatoxines totales dans les noix du Brésil est proposé dans les Annexes I et II.

ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE

10. Lors de sa 49^{ème} réunion, le JECFA (FAO/OMS, 1998) a examiné le pouvoir carcinogène des aflatoxines et les risques potentiels associés à leur ingestion. Le JECFA a examiné une vaste série d'études réalisées à la fois sur les animaux et sur les humains fournissant des informations qualitatives et quantitatives sur l'hépatocarcinogénicité des aflatoxines. Aucune dose journalière tolérable n'a été proposée vu que ces composés sont des cancérrogènes génotoxiques. Les estimations du pouvoir carcinogène lié au cancer du foie chez les humains à la suite de l'exposition à l'aflatoxine B₁ provenaient d'études épidémiologiques et toxicologiques

11. Le pouvoir carcinogène de l'aflatoxine B₁ est considérablement plus élevé chez les porteurs du virus de l'hépatite B (environ 0,3 cancers/an/100 000 personnes/ng d'aflatoxine B₁/kg de poids corporel/jour), comme l'indique la présence dans le sérum de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (individus HBsAg⁺), que chez les individus HBsAg⁻ (environ 0,01 cancers/an/100 000 personnes/ng d'aflatoxines B₁/kg de poids corporel/jour). Le JECFA a également observé que suite à la vaccination contre le virus de l'hépatite B, le nombre de porteurs du virus diminue, réduisant ainsi le pouvoir des aflatoxines dans les populations vaccinées, entraînant une réduction des risques de cancer du foie (FAO/OMS 1998).

MÉTHODES ANALYTIQUES

12. Il existe un certain nombre de méthodes analytiques permettant de détecter les aflatoxines dans les fruits à coque, mais la plupart d'entre elles ne sont pas totalement validées pour ce qui est des noix du Brésil. D'une façon générale, ces méthodes comportent une étape de préparation de l'échantillon, d'extraction, de nettoyage et de quantification. Après une homogénéisation effective, une étape d'extraction du solvant est appliquée en utilisant un mélange d'acétonitrile ou de méthanol et d'eau. Le nettoyage de l'échantillon utilise soit une partition liquide-liquide ou une extraction de la phase solide (SPE), avec des sorbants tels que la silice, la florisile, C18, l'oxyde d'aluminium et des immunoabsorbants en tant que colonne d'immunoaffinité (Gilbert et Vargas, 2003). Les méthodes d'identification et de quantification les plus couramment utilisées sont la chromatographie sur couche mince ((TLC or HPTLC) ou la chromatographie liquide à haute performance (CLHP), avec détection par UV ou fluorescence. Deux méthodes pour l'analyse des aflatoxines dans les noix du Brésil ont été validées à travers des études collectives employant une extraction de la phase solide (SPE) (AOAC 994.08) et le nettoyage de colonne d'immunoaffinité (Stroka et al., 2000), suivi par HPLC-FL (Gilbert et Vargas, 2003).

13. Les méthodes de la chromatographie en phase liquide –la spectrométrie de masse en tandem avec ESI ou l'ionisation chimique de la pression atmosphérique (LC-MS/MS) pour détermination et confirmation de la contamination par les aflatoxines dans différentes denrées alimentaires ont été développées (Bacaloni et al., 2008; Spanjer et al., 2008). Une méthode avec injection directe dans un LC-MS/MS après extraction avec de l'acétonitrile à l'eau a été développée par Spanjer et al. (2008) pour 33 mycotoxines, y compris les aflatoxines BG. La limite de détection (LOD) ou de quantification (LOQ) pour chaque aflatoxine dépend de la matrice, de la méthode de nettoyage et de la détection; elle se situe habituellement dans une fourchette allant de 0,1 à 1 µg/kg (Marklinder et al., 2005, Solobev, 2007).

14. Les trousse d'analyse des aflatoxines utilisant les anticorps sont généralement employées pour le

dépistage. Le site Internet international de l'AOAC (AOAC, 2009) répertorie les différents types de trousse de détection de l'aflatoxine B₁ et des aflatoxines totales à l'aide de coupes, de plaques ELISA, de colonnes, de cartes et de tubes enrobés d'anticorps. Toutefois, peu de trousse ont été validées par une étude conjointe inter laboratoire (Gilbert et Vargas, 2003).

15. Le CCFAC a établi les critères de performance relatifs aux méthodes d'analyse des aflatoxines totales dans les aliments (CX/CF 07/1/6). Par ailleurs, les caractéristiques générales de performance des méthodes de détection des aflatoxines ont été fixées par le Comité européen de normalisation (CEN 1999) et de l'Union européenne (EC, 2006) et adoptées dans les derniers documents du Codex pour les arachides et les fruits à coque (amandes, noisettes, pistaches).

16. À sa 36^{ème} session, le CCFAC a indiqué qu'il n'était pas nécessaire de poursuivre le développement des méthodes d'analyse relatives aux aflatoxines contenues dans les fruits à coque. Sur demande, le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage (CCMAS) pourra examiner de nouvelles méthodes dans le futur.

FACTEURS AFFECTANT LA PRÉSENCE DES AFLATOXINES DANS LES NOIX DU BRÉSIL

17. Plusieurs facteurs environnementaux influencent la prolifération fongique et la production d'aflatoxines, mais la température ainsi que l'humidité relative sont considérées comme les plus importants. D'autres facteurs comprennent la composition du substrat, les conditions d'entreposage ainsi que les détériorations dus aux insectes. (Arrus *et al.*, 2005a).

18. La croissance de mycètes toxigéniques et la formation d'aflatoxines peuvent apparaître durant les étapes de l'avant récolte et de la pré récolte (ramassage). Conformément à Johnson *et al.* (2008), l'infection préliminaire des noix du Brésil avec les mycètes produisant de l'aflatoxine a lieu à une étape très précoce étant donné que l'*A. flavus* a été isolé de l'extérieur des cosses aseptiques toujours attachées à l'arbre. La probabilité et le taux de la croissance fongique ainsi que la formation de la toxine était rattachée de façon significative à l'activité de l'eau (a_w), qui est une mesure d'eau libre dans la récolte/alimentation. Baymam *et al.* (2002) ont montré que les effets de la stérilisation de surface dans les noix du Brésil étaient minimaux : seul *A. nidulans* a diminué de façon significative. Contrairement aux autres noix, la plupart des espèces d'infection (y compris la plupart *A. flavus*) dans les noix du Brésil sont internes.

19. *Aspergillus flavus* et *A. niger* ont été isolés dans les noix du Brésil collectées jusqu'à 60 jours après la chute des cosses dans la forêt (Cartaxo *et al.*, 2003) et durant la transformation (Souza *et al.*, 2003). Outre ces espèces, *Aspergillus parasiticus* a également été isolé dans les noix du Brésil défectueuses (Brésil – Ministère de l'Agriculture, 2003 – données non publiées). L'*Aspergillus nomius* a été récemment isolé des lots de noix du Brésil et peut être un des producteurs les plus importants d'aflatoxines dans ces noix (Olsen *et al.*, 2008)

20. Arrus *et al.* (2005b) ont conduit une étude pour mieux comprendre l'origine des aflatoxines dans les noix du Brésil. Cinq cosses de noix du Brésil ont été cueillies aseptiquement des arbres localisés dans chacune des trois concessions de la forêt tropicale amazonienne péruvienne. Les extérieurs des cosses des noix ne contenaient pas de *A. parasiticus*, et seules les cosses d'une concession faisaient ressortir des isolats de *A. flavus*. Tous les isolats testés étaient aflatoxigéniques (630 à 915 µg/kg d'aflatoxine totale). Les noix en coque entières ont été obtenues après ouverture des cosses n'ont pas fait ressortir de *A. flavus* or *A. parasiticus*. Il n'a pas été détecté d'aflatoxines (LOD de 1.75 µg/kg) dans aucune des noix. Les noix en coque et écalées issues de différents processus opérationnels étaient toutes positives pour l'*A. flavus* mais négatives pour *E. coli* et la salmonelle

21. Les effets de l'humidité relative (H. R.) et de la température sur la production d'aflatoxines ont été évalués dans les noix du Brésil en coque et décortiquées (entières et demi-cerneaux de noix) inoculés avec *Aspergillus spp* aflatoxigéniques (Arrus *et al.*, 2005a). La production maximale d'aflatoxines a été trouvée dans les noix entreposées à 25-30 °C et 97% h.r.. Les demi-cerneaux de noix avaient la teneur la plus élevée en aflatoxine B₁ (4483 µg/kg) et aflatoxines totales (6817 µg/kg) tandis que les noix en coque contenaient les teneurs en aflatoxines B₁ et aflatoxines totales les plus basses (respectivement 49 et 93 µg/kg). Il n'y avait pas formation d'aflatoxines à 10 °C (97% h.r.) ni à 30 °C (75% h.r.). Cela laisse entendre que la prolifération fongique après la récolte peut être prévenue par un contrôle adéquat de la température et de l'activité de l'eau, ce qui est une stratégie importante de prévention de la formation des aflatoxines dans les noix du

Brésil.

22. Selon Arrus et al. (2005a), les limites de la teneur en eau et de l'activité de l'eau (a_w) permettant d'assurer le contrôle de la formation des aflatoxines ($<4 \mu\text{g}/\text{kg}$) à 30°C pour un maximum de 60 jours d'entreposage) sont de: 4,57 % (a_w 0,70) pour les noix en coque et de 4,50 % (a_w 0,68) et de 5,05 % (a_w 0,75) pour les noix décortiquées (entières et demi cerneaux de noix respectivement). Au-dessus de ces limites, la formation des aflatoxines augmente de façon significative. La disponibilité de l'eau nécessaire à la prolifération fongique s'exprime le mieux par l'activité de l'eau (a_w).

23. Le projet SAFENUT conduit dans les états du Brésil de Para et Acre, a établi que l'aflatoxine produisant des champignons infectait les noix du Brésil déjà dans la forêt, juste après la chute des cosques de l'arbre (STDF, 2009). Le point de contrôle critique dans la production de la noix est l'étape du séchage entrepris par la communauté extractiviste qui n'est pas toujours efficace apportant aux noix un niveau d'humidité fiable (correspondant à un niveau d'activité de l'eau de moins de 0.70). La teneur en humidité peut atteindre la gamme optimale pour la production d'aflatoxine résultant en une augmentation de la teneur d'aflatoxines durant l'entreposage. Donc, la noix du Brésil arrive dans les usines de transformation contaminée par les aflatoxines et les processus de triage appliqués à cette étape ne sont pas effectifs dans l'extraction des noix en coque. Le triage effectif peut uniquement être appliqué après que les noix ont été écalées.

24. Selon Johnsson et al (2008), la croissance aflatoxigénique fongique et la production d'aflatoxine augmente rapidement entre 40-90 jours après la récolte des noix et avant l'arrivée à l'usine de transformation pour séchage final. En 2009, lorsque le projet SafeNut a été finalisé² et que substantiellement plus de données ont été collectées, il a été démontré que les pratiques couramment implantées dans la chaîne de production de la noix du Brésil qui étaient basées sur les recommandations des directives existantes sur les bonnes pratiques n'étaient pas effectives pour la réduction des aflatoxines. On a conclu que dans les 10 jours après la récolte, les noix du Brésil décortiquées doivent être séchées à un niveau d'humidité fiable (activité de l'eau des noix de moins de 0.7) dans les communautés extractivistes ou transportées et séchées dans les industries de transformation. Après 40 jours, il existe une probabilité de 20 pour cent d'excéder $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ d'aflatoxines totales et 15 pour cent de probabilité d'excéder $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ d'aflatoxines totales et al, 2009).

OCCURRENCE DES AFLATOXINES TOTALES DANS LES NOIX DU BRÉSIL

25. Plusieurs pays ont étudié l'occurrence des aflatoxines dans les noix du Brésil. Parmi les 176 échantillons analysés aux États-Unis, 11 pour cent étaient contaminés par les aflatoxines à des niveaux variant de traces à $20 \mu\text{g}/\text{kg}$, et 6 pour cent des échantillons contenaient des teneurs en aflatoxines supérieures à $20 \mu\text{g}/\text{kg}$. La teneur maximale détectée était de $619 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Pohland, 1993). Au Japon, 70 des 74 échantillons de noix du Brésil analysés n'étaient pas contaminés et seulement deux échantillons contenaient des teneurs en aflatoxines supérieures à $10 \mu\text{g}/\text{kg}$. La teneur maximale détectée était de $123 \mu\text{g}/\text{kg}$ (FAO/OMS, 1998).

26. Une étude a été menée par l'Agence des normes alimentaires du Royaume-Uni (UK Food Standard Agency) entre novembre 2003 et mars 2004 sur les aflatoxines présentes dans une variété de fruits à coque et de produits dérivés. Quatre des 21 échantillons des noix du Brésil analysés contenaient des teneurs supérieures à la limite réglementaire de la Communauté européenne et du Royaume-Uni, qui est de $4 \mu\text{g}/\text{kg}$ pour les aflatoxines totales (Agence pour les normes alimentaires, 2004).

27. Une étude menée au Brésil entre 1998 et 2004 portait sur l'analyse de 500 échantillons de noix du Brésil (302 décortiquées et 198 en coques). Aucune aflatoxine n'a été détectée ($<0.6 \mu\text{g}/\text{kg}$) dans 71,8 pour cent des noix décortiquées et 41,4 pour cent des noix en coque analysées. Les teneurs en aflatoxines B1 étaient respectivement de $<2 \mu\text{g}/\text{kg}$ dans 69,4 pour cent et de $<10 \mu\text{g}/\text{kg}$ dans 80 pour cent des échantillons (décortiqués et en coque). 70 pour cent et 79,8 pour cent des échantillons (décortiqués et en coque) étaient contaminés à des teneurs respectives de $<4 \mu\text{g}/\text{kg}$ et de $<20 \mu\text{g}/\text{kg}$. Les concentrations médianes d'aflatoxines totales étaient respectivement de 1,85 et $0,8 \mu\text{g}/\text{kg}$ dans les noix du Brésil en coque et décortiquées (CCA, 2005a).

28. Des données présentées par le Ministère de l'agriculture brésilien portent sur la présence

² http://www.standardsfacility.org/files/Project_documents/Project_Grants/STDF_114_Final_report_Website.pdf

d'aflatoxines dans les échantillons de noix du Brésil prélevés dans des lots destinés à l'exportation et des lots rejetés par les pays importateurs dans les années 2005 et 2006. Dans chaque cas, seule la partie comestible (les cerneaux) a été analysée. Près de 85 pour cent des 294 échantillons (lots) analysés contenaient des teneurs en aflatoxine B1 non décelables ($< ,6$ ou $1\mu\text{g/kg}$). Les teneurs en aflatoxines totales dans les échantillons positifs (limite inférieure) variaient entre 0,4 et $242\mu\text{g/kg}$ et seuls 13 échantillons (4,4 pour cent) avaient des teneurs $> 20\mu\text{g/kg}$ (Brésil, 2006; données non publiées).

29. Une étude visant à évaluer la capacité du consommateur à identifier les noix du Brésil en coque contaminées par les aflatoxines a été effectuée en Suède (Marklinder et al, 2005). Les teneurs en aflatoxines moyenne et au 95^e centile dans la partie comestible des 132 échantillons prélevés avant le triage étaient respectivement de 1,4 et $557\mu\text{g/kg}$. Après triage, ces teneurs étaient de 0,4 et $56\mu\text{g/kg}$ respectivement. L'étude a conclu que les noix du Brésil sont l'un des rares fruits à coque qui permettent aux consommateurs de séparer visuellement les fruits comestibles de ceux qui sont non comestibles et contaminés pendant le décorticage avant de les consommer, et de se protéger ainsi contre l'exposition à des teneurs élevées d'aflatoxines. .

30. Dans le cadre de son évaluation de l'ingestion alimentaire, à sa 68^{ème} réunion, le JECFA a utilisé les données relatives à la contamination par les aflatoxines des pays producteurs. La concentration moyenne des aflatoxines totales présentes dans les noix du Brésil (décortiquées) était de $20\mu\text{g/kg}$ (FAO/OMS, 2008).

31. De Mello & Scussel (2007) ont étudié les caractéristiques externes des noix du Brésil en coque (dimensions, poids, chromaticité et épaisseur de la coque), la teneur en humidité et la contamination par l'aflatoxine (analysée par LC-MS/MS). Selon métrage, les noix du Brésil étaient répertoriées en trois groupes : grandes tailles, tailles moyennes et petites (200 noix ont été sélectionnées pour chaque groupe d'un lot de 65 kg récoltées dans une usine de noix du Brésil dans l'état d'Amazonie, Brésil). Les échantillons issus du groupe de noix de petite taille ont présenté un niveau moyen AFB1 de $5.62\mu\text{g/kg}$. Aucune aflatoxine n'a été détectée dans les échantillons issus des deux autres groupes. Les auteurs ont conclu que les caractéristiques externes de la noix du Brésil peuvent aider à distinguer les noix saines/fiables et détériorées et pourraient être utiles pour le triage des noix du Brésil et le développement de la machine.

32. Les noix du Brésil écalées et en coque issues des saisons 2006 et 2007 et destinées à l'exportation ont été analysées par LC-MS/MS par Pacheco & Scussel (2009). Les échantillons ont été rassemblés à partir de grands sacs (noix en coque) et des tableaux de triage après la classification selon la taille (noix écalées) immédiatement après traitement dans une usine de Manaus, État de l'Amazonie. Des 171 échantillons analysés, 8,7 pour cent (11 en coque et trois écalées) des noix avaient des niveaux d'aflatoxines $>4\mu\text{g/kg}$; la plupart des noix en coque provenait de la saison 2006 (neuf échantillons). Marklinder et al (2005) ont montré que dans la plupart des cas, les niveaux d'aflatoxines étaient plus bas dans les coques que dans les cerneaux issus du même échantillon.

33. Olsen et al. (2008) ont montré que la relation entre l'aflatoxine B₁ et G₁ dans la plupart des échantillons issus de 199 lots de noix du Brésil en coque importées en Europe était environ de 50/50, indiquant que les mycètes qui sont en grande partie responsables de la production d'aflatoxines ne peuvent pas être l'*Aspergillus flavus*, qui produit uniquement les aflatoxines B. En outre ils ont isolé et identifié *A. nomius* qui est un producteur d'aflatoxines B et G et ont suggéré que ces espèces puissent être un producteur important d'aflatoxines dans les noix du Brésil.

34. Les données collectées durant ces cinq dernières années par des membres de l'industrie de INC (Pino Calcagni, personal communication) montrent que la moyenne pesée de la proportion de B1 aux aflatoxines totales est de 66,3 pour cent variant d'une teneur basse de 25 pour cent jusqu'à un maximum de 96,4 pour cent.

35. Les échantillons de noix du Brésil récoltés par le projet STDF (données non publiées) contenaient un taux similaire de pourcentage de AFB₁/AFT. Lorsqu'on examine uniquement les échantillons positifs (75 pour cent des 569 échantillons analysés), AFB1 représentait plus de 55 pour cent des niveaux de AFT dans environ 52 pour cent des échantillons.

36. Le comité scientifique de l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a évalué les données relatives à l'occurrence des aflatoxines dans les fruits à coque et autres produits entre 2000 et 2006 soumises par 22 États membres de l'Union européenne. Les échantillons ont été prélevés aux fins de contrôle

lié à l'importation, au marché ou aux sociétés et il n'était pas spécifié s'il s'agissait d'échantillons prêts à consommer ou destinés à une transformation ultérieure. Des 622 échantillons de noix du Brésil analysés, 56,47 pour cent contenaient des teneurs inférieures à la limite de détection (0,1 – 0,2 µg/kg), 22 pour cent avaient des teneurs entre la limite de détection et 4 µg/kg, 2,4 pour cent entre 4 et 10 µg/kg et 19,1 pour cent avaient des teneurs supérieures à 10 µg/kg (EFSA, 2007, 2009). Il n'était pas clair dans le rapport si les échantillons analysés étaient des noix du Brésil écalées ou en coque ou comprenaient les deux types d'échantillons.

37. Le gouvernement brésilien – Ministère de l'agriculture – a soumis les résultats du projet CONFORCAST présenté durant une journée d'étude à Belém, Pará, Brésil, du 10 au 12 novembre 2008. Les objectifs principaux de ce projet étaient de concevoir des plans d'échantillonnage pour les noix du Brésil en coque et écalées et d'évaluer quelles catégories de noix du Brésil (cerneaux et coques) pourraient être associées le plus avec la contamination par les aflatoxines des noix du Brésil. Des informations ont aussi été obtenues sur l'incidence des aflatoxines dans les lots des noix du Brésil prêtes à être commercialisées (écalées et en coque). Les échantillons ont été rassemblés durant les années de 2006 et 2008 dans les usines de transformation des états de Pará et Acre. Dans les études d'échantillonnage, 25 lots de noix du Brésil écalées et 13 lots de noix du Brésil en coque (quatre à huit tonnes) ont été échantillonnés conformément aux plans d'échantillonnage non équilibrés.

38. Tous les échantillons du projet CONFORCAST (coques et cerneaux) ont été analysés afin de détecter les aflatoxines B₁, B₂, G₁ et G₂ by HPLC-FL avec une dérivation postcolonne employant une cellule électrochimique, avec des critères de performance conformément à CEE 401/2006.

39. L'Annexe I (Figure 1) indique le concept expérimental déséquilibré pour les noix écalées du Brésil; 25 échantillons de 200 kg ont été pris pour chacun des 25 lots échantillonnés. De chaque échantillon, 20 sous-échantillons de 10 kg ont été pris pour analyse.

40. Le tableau 2 indique le résumé des résultats obtenus dans les 500 sous échantillons de noix du Brésil écalées analysées pour les Aflatoxines totales au sein du projet Conforcast (de la figure 1). Dans la plupart des sous-échantillons (67,8 pour cent), les niveaux des aflatoxines étaient en dessous de 0.39 µg/kg d'aflatoxines totales et 4 pour cent de ceux-ci avaient des niveaux plus élevés que 10µg/kg. Les niveaux moyens et médians étaient de 2.07 et de 0.17 µg/kg, respectivement, avec le niveau le plus haut à 100.9µg/kg.

Tableau 2. Distribution des sous échantillons des échantillons d'agrégats issus des lots des noix du Brésil écalées répertoriées par gamme distincte de contamination, dans % des 500 sous-échantillons analysés

	Éventail de concentration d'aflatoxines totales* (AFT)*, µg/kg									
	≤0.39	> 0.39≤1.0	> 1≤2.0	> 2≤4	>4≤10	>10≤15	>15≤20	>20≤30	>30≤50	>50
% des sous échantillons analysés	67.8	14.0	5.8	3.4	5.0	0.8	1.0	0.4	1.0	0.8
	96					4				

*LOD = 0.11 µg/kg (MAPA, 2008)

41. L'annexe I (Figure 2) indique le diagramme du protocole d'échantillonnage pour les noix du Brésil en coque. Treize (13) lots de noix du Brésil en coque ont été échantillonnés et quatre cent (400) kg ont été extraits de chaque lot. De chacun des 13 lots, 10 sous-échantillons de 40 kg ont été pris, les noix ont été écalées et après une inspection visuelle par le personnel formé, séparées en cerneaux et coques sains respectivement (avec résidu et sans résidu) et en cerneaux et coques pourris respectivement. Les cerneaux pourris et endommagés ont été séparés étant donné qu'ils pouvaient facilement être identifiés par les consommateurs. Pour cinq lots, ce processus a résulté en 20 sous échantillons de cerneaux sains (~10kg), de 10 sous-échantillons de coques respectivement (~20kg), de 10 sous-échantillons de cerneaux pourris et 10 sous échantillons de coques respectifs (trois sous échantillons ont été exclus plus tard à cause de problèmes techniques) de masse variable. Pour chacun des sept lots restants, ce processus a résulté en 20 sous-

échantillons de cerneaux sains (~10 kg) et un sous-échantillon de coque respectivement (~20 kg) (avec résidu et sans résidu), 10 sous-échantillons de cerneaux pourris de masse d'échantillonnage variable et 10 sous-échantillons de coques respectives de masse d'échantillonnage variable (Projet Conforcast).

42. La proportion moyenne de coque: le taux de cerneau (kg/kg) de la noix du Brésil a été évalué par décorticage et pondération de cerneaux et de coques issus de 100 noix obtenus des 13 lots échantillonnés dans le projet Conforcast. Le cerneau et la coquille contribuaient, en moyenne, à 50 pour cent chacun du poids de la noix du Brésil, confirmant les études conduites depuis 1999 par le laboratoire du Ministère de l'Agriculture.

43. Le tableau 3 indique la masse de la noix (kg) et le niveau des aflatoxines totales obtenus dans 54 sous-échantillons, obtenus conformément au concept décrit dans la figure 2. Bien que la masse totale (kg) de bonnes noix (coque et cerneaux sains) était presque 25 fois celle des noix pourries (les coques pourries et les cerneaux), la contribution des aflatoxines totales dans les noix pourries à la masse d'aflatoxines totale (76,6 pour cent) était trois fois plus élevée que celle des bonnes noix (23,4 pour cent). Toutes les catégories de coque et de cerneaux contribuaient chacune approximativement 50 pour cent de la masse totale de noix (kg) (ainsi que cela a été trouvé antérieurement) et la masse d'aflatoxine totale (μg).

44. La concentration moyenne d'aflatoxine totale dans les noix pourries ($302.3\mu\text{g}/\text{kg}$) était 77 fois plus élevée que ce qui a été trouvé dans les bonnes noix ($3.92\mu\text{g}/\text{kg}$) (Tableau 3). Tous les défauts qui comprenaient les cerneaux pourris et toutes les coques (55,3 pour cent de la masse totale, kg), contribuaient à environ 92,2 pour cent de la masse totale d'Aflatoxines totales (μg). Des résultats similaires ont été reportés par Whitaker et al. (1998) qui ont trouvé qu'une petite masse de défauts (18 pour cent) contribuait à 93 pour cent de la masse d'aflatoxine dans les cacahuètes.

45. Les données présentées dans le tableau 3 indiquent clairement que les aflatoxines sont trouvées à la fois dans les parties de la coque et du cerneau de la noix du Brésil. Les niveaux trouvés dans les bons cerneaux représentent environ 57 pour cent de ceux trouvés dans les coques des bonnes noix.

Tableau 3. Masse de l'échantillon (kg), masse de l'aflatoxine (μg), et concentration d'aflatoxine ($\mu\text{g}/\text{kg}$) dans tous les échantillons des noix du Brésil en coque par catégorie – 54 échantillons analysés.

Catégorie Classe	Masse (kg)	Masse (% du total)	Masse aflatoxines totales (μg)	Masse aflatoxines totales (% du total)	Concentration aflatoxines totales ¹ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Noix saines (cerneau & coque)	1,987.15	95.94	7,787.86	23.44	3.92
Cerneaux sains	926.37	44.72	2,582.11	7.77	2.79
Coques issues de noix saines ²	1,060.78	51.21	5,205.75	15.67	4.91
Noix pourries (cerneau & coque)	84.13	4.06	25,433.79	76.56	302.32
Cerneaux pourris	40.35	1.95	14,322.39	43.11	354.95
Coques issues de cerneaux pourris	43.78	2.11	11,111.40	33.45	253.80
Tous défectueux (cerneaux pourris & toutes les coques)	1,144.91	55.28	30,639.55	92.23	26.76
Tous les cerneaux (saines et pourries)	966.72	46.67	16,904.50	50.88	17.49
Toutes les coques (saines et pourries)	1,104.56	53.33	16,317.15	49.12	14.77

Catégorie Classe	Masse (kg)	Masse (% du total)	Masse aflatoxines totales (µg)	Masse aflatoxines totales (% du total)	Concentration aflatoxines totales ¹ (µg/kg)
Toutes les catégories³	2,071.28	100.00	33,221.66	100.00	16.04

¹ échantillons contenant des niveaux d'aflatoxines totales en dessous de LOD (0.11 µg/kg) ont été considérés comme étant à 0 µg/kg;

² la somme de ce qui a été trouvé dans les coques avec ou sans les résidus de cerneaux (Annexe 1. Figure 2); pour la concentration d'aflatoxines totales, la moyenne a été prise ³ de toutes les fractions de noix (coques et cerneaux)

46. Le tableau 4 indique la distribution des niveaux d'aflatoxine totales trouvés dans 54 sous-échantillons des noix du Brésil en coque analysées. Lorsque toutes les noix ont été examinées (les bonnes et les pourries y compris les cerneaux et les coques respectivement), 79, 7 pour cent et 42, 7 pour cent des sous échantillons avaient des aflatoxines totales au-dessus de 10 µg/kg et 15 µg/kg respectivement, signifiant qu'un large pourcentage de noix du Brésil ne serait pas conforme si ces limites sont appliquées aux noix en coque. Si une limite de 20 µg/kg et 30 µg/kg est appliquée, 22,3 pour cent et 5,6 pour cent des échantillons ne seront pas conformes. Le retrait des noix pourries réduit de façon drastique le pourcentage d'échantillons non conforme à 1,9 pour cent, 3,8 pour cent et 5,7 pour cent pour des niveaux de 20µg/kg, 15µg/kg, et 10µg/kg, respectivement. Si seules les noix saines sont examinées (cerneaux et coques respectives), le pourcentage d'échantillons non conformes serait de 5,6 pour cent et 1,9 pour cent respectivement pour des niveaux de 10 et 15 µg/kg. Seul 4 pour cent des sous échantillons de cerneaux sains avait des niveaux d'aflatoxine au dessus de 15µg/kg. La moyenne et la médiane de contaminations par les aflatoxines totales étaient de 15.3µg/kg et de 11.7µg/kg, respectivement avec la contamination la plus haute de 102.6µg/kg. La distribution trouvée pour toutes les noix est plus proche de celle indiquée par l'EFSA (2007, 2009).

Tableau 4. Distribution (%)¹ of 54 sous-échantillons des noix du Brésil en coque * classifiés par rang de contamination distinct

Distribution Aflatoxines totales (%)	Gamme de la concentration des aflatoxines totales**, µg/kg						
	≤5	>5 ≤10	> 10 ≤15	> 15 ≤20	> 20 ≤30	> 30 ≤50	>50
en catégories							
Toutes les noix (%)	1.9	18.5	37.0	20.4	16.7	3.7	1.9
Distribution cumulative (%)	≥ 10	≥ 15	≥ 20	≥ 30			
					79.7	42.7	22.3
							5.6
Uniquement noix saines (%)	85.2	9.3	3.7	0.0	0.0	1.9	0.0
Distribution cumulative (%)	≥ 10	≥ 15	≥ 20	≥ 30			
					5.6	1.9	1.9
Uniquement cerneaux sains (%)	90.7	3.7	1.9	1.9	0.0	0.0	1.9
	≥ 10				5.7		

	≥ 10				5.7		
Distribution cumulative (%)		≥ 15				3.8	
			≥ 20				1.9
				≥ 30			1.9
Tous les cerneaux*** (%)	0.0	20.4	31.5	22.2	13.0	11.1	1.9
	≥ 10				79.7		
Distribution cumulative (%)		≥ 15				48.2	
			≥ 20				26.0
				≥ 30			13.0

¹ Projet Conforcast; *Noix = cerneaux sains et/ou pourris et coques respectives. **LOD = 0.11 µg/kg (MAPA, 2008); *** issues des noix saines et pourries.

47. La possibilité de prévoir la concentration d'aflatoxine dans les noix du Brésil en coque échantillonnée à partir d'un lot a été examinée dans le projet Conforcast. La meilleure corrélation a été trouvée entre la concentration d'aflatoxine dans la noix du Brésil en coque et la concentration d'aflatoxine dans toutes les noix défectueuses ($R^2=0.93$; équation de régression: $C = 0.5188M + 0.9591$ dans laquelle C représente la concentration d'aflatoxines dans la noix du Brésil en coque et M représente la concentration d'aflatoxine dans toutes les noix défectueuses). La corrélation entre la concentration d'aflatoxines totales et la masses d'aflatoxine a été trouvée dans toutes les noix endommagées et pourries était aussi élevée ($R^2=0.90$ et 0.88 , respectivement) (Tableau 5). Ces corrélations indiquent que les niveaux d'aflatoxines totales dans les noix du Brésil sont fortement rattachés à la présence de cerneaux et de coques pourris.

Table 5. Corrélation issue d'une régression linéaire entre la concentration d'aflatoxine totale dans l'échantillon des noix du Brésil en coque dans un lot (µg/kg) et différents paramètres, où C est la concentration en aflatoxine dans les noix du Brésil en coque et M est le paramètre répertorié ci-dessous (x axis).

Paramètre	Régression équation	R^2	R
Masse d'aflatoxine, noix pourries (µg)	$C = 0.0287M + 2.9245$	0.88	0.94
Concentration d'aflatoxine, tous les défauts (µg/kg)	$C = 0.5188M + 0.9591$	0.93	0.96
Masse d'aflatoxine, tous les défauts (µg)	$C = 0.0296M - 0.3059$	0.90	0.95
Masse d'aflatoxine, cerneaux pourris (µg)	$C = 0.0314M + 6.6494$	0.51	0.7
Concentration d'aflatoxine, noix pourries (µg/kg)	$C = 0.024M + 7.9767$	0.35	0.59
Concentration d'aflatoxine, cerneaux pourris (µg/kg)	$C = 0.0227M + 6.8246$	0.32	0.57
Masse de noix pourries (% de la masse totale)	$C = 1.4754M + 8.5754$	0.17	0.41
Masse de cerneaux pourris (% de la masse totale)	$C = 3.0948M + 8.5362$	0.17	0.41
Masse de tous les défauts (% de la masse totale)	$C = -0.3648M + 24.753$	0.01	0.12
Masse des noix pourries (% de la masse totale)	$C = -0.0523M + 3.7695$	0.002	0.04

48. Dans beaucoup de pays, lorsque un lot de noix du Brésil en coque pénètre sur le marché, les noix sont échantillonnées et analysées en tant que telles, sans aucun type de transformation. Les résultats du projet CONFORCAST montrent que les niveaux trouvés dans les noix en coque ne peuvent pas être utilisés pour évaluer l'exposition humaine aux aflatoxines à partir de la consommation des noix du Brésil, étant donné que

les cerneaux et les noix pourris, qui ne sont pas mangés, peuvent être hautement contaminés. Dans le laboratoire, les noix du Brésil saines en coque peuvent être séparés des noix pourries par inspection visuelle après avoir découpé la noix en deux. Cette procédure est généralement exécutée par les exportateurs lors de l'évaluation des noix provenant des producteurs et lors de l'assortiment d'un lot qui doit être exporté en tant que prêt à consommer.

49. Une approche afin d'estimer le niveau d'une substance, comme un contaminant, présente dans la portion comestible de l'aliment (pertinente pour l'évaluation de l'exposition) issue des résultats obtenus à partir des aliments non transformés (qui contiennent la portion comestible) est d'estimer le facteur de transformation (PF). Lorsqu'un ensemble de données est disponible, le PF peut être estimé en divisant la concentration du contaminant trouvé dans l'aliment transformé par le niveau trouvé dans l'aliment non transformé (également appelé produit alimentaire brut) (CX/PR/07/39/8;ftp.fao.org/codex/ccpr39/pr39_08e.pdf). Dans le cas de la noix du Brésil, les procédures de transformation qui représentent un intérêt sont l'écalage et le triage. Pour un contaminant unique /aliment/procédure de transformation, les PF peuvent varier largement, et la recommandation est d'utiliser la meilleure valeur estimée issue des données disponibles. Cette variabilité est particulièrement correcte dans le cas des aflatoxines dans les noix du Brésil, étant donné que les conditions environnementales de la récolte au marché peuvent influencer les niveaux de la contamination fongique et de l'aflatoxine dans le cerneau et la coque. Pour la noix du Brésil, les procédures de transformation en question sont le décorticage et le triage. Le triage visuel après l'écalage peut être effectué dans l'usine de transformation ou par les consommateurs.

50. Un facteur de transformation des aflatoxines dans les noix du Brésil peut être évalué en divisant la concentration de l'aflatoxine trouvée dans les cerneaux sains (fraction comestible étant donné que le consommateur ne mange pas les coques ou les cerneaux pourris) par le niveau trouvé dans la noix du Brésil en coque. En utilisant les données indiquées dans le tableau 3, le PF évalué était de 0.17 ($2.79\mu\text{g}/\text{kg}/16.04\mu\text{g}/\text{kg}$). Les résultats individuels issus des 54 sous échantillons des noix du Brésil en coque ont donné des PF allant de 0.0 à 0.62, avec une médiane de 0.03. Ce facteur de transformation peut être utilisé pour évaluer la sécurité des niveaux réglementaires d'aflatoxine dans la noix du Brésil en coque. Il est reconnu que le PF évalué reflète la situation existante dans le projet Conforcast, dans lequel les lots de noix du Brésil contenaient en moyenne, 4 pour cent des noix pourries en masse. Dans les lots avec un pourcentage plus élevé ou plus bas de noix pourries, le PF sera plus bas ou plus haut respectivement.

51. La figure 1 montre l'impact de PF sur les niveaux d'aflatoxines totales dans chacun des 54 sous-échantillons analysés dans le projet Conforcast.

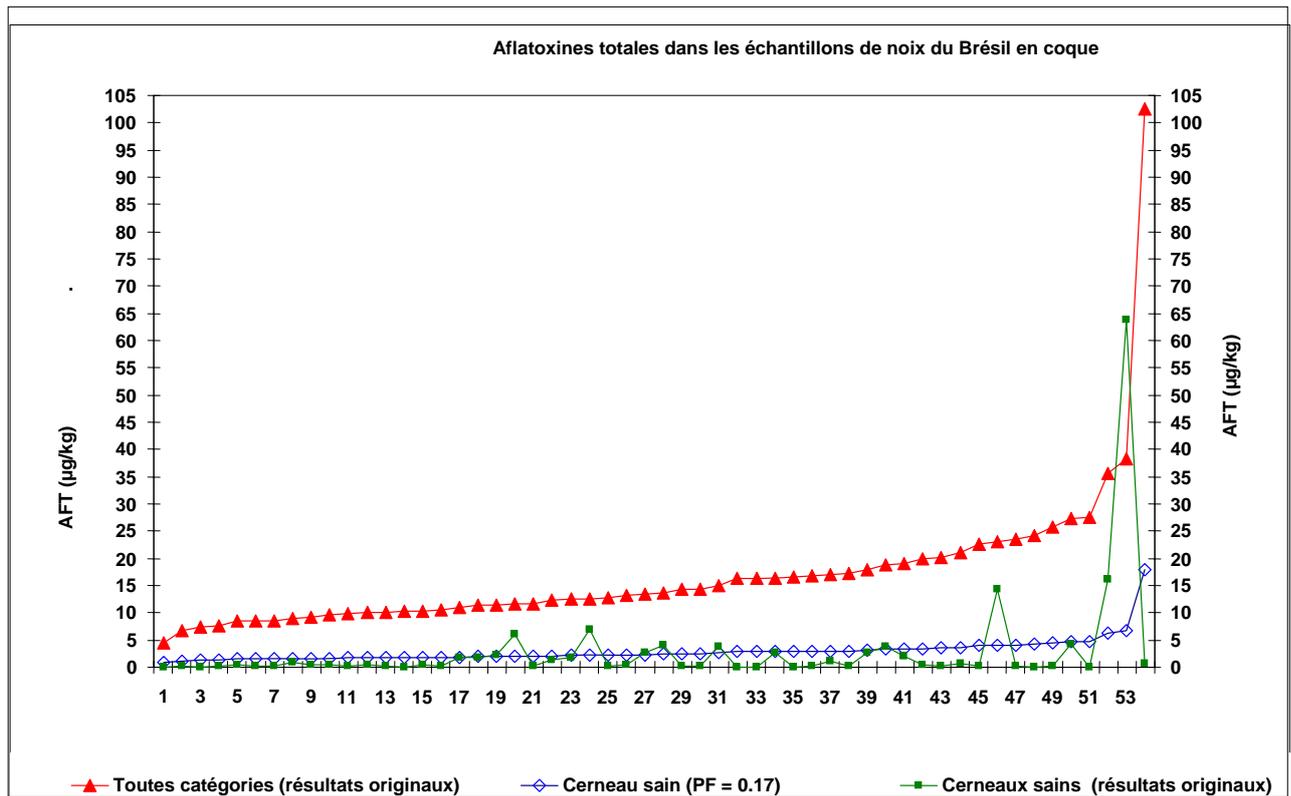


Figure 1. Impact de l'emploi du facteur de transformation PF dans la contamination d'aflatoxines dans les échantillons de noix du Brésil en coque.

52. Le concept du Codex Alimentarius concernant l'objectif relatif à la sécurité alimentaire (FSO) est la fréquence maximale et /ou la concentration d'un risque au moment de la consommation qui fournit ou contribue au niveau approprié de protection (ALOP). Ce concept soutient l'approche du PF afin d'évaluer la concentration d'aflatoxines dans les noix du Brésil au moment de la consommation. Par conséquent le consommateur peut accomplir le niveau approprié de protection (ALOP) lors de l'écalage et du triage de la noix du Brésil.

INGESTION ALIMENTAIRE

53. Les céréales (notamment le maïs), les arachides, les graines oléagineuses, les fruits à coque, les figes sèches, les épices et le copra constituent les principaux produits contaminés par les aflatoxines. Les sources alimentaires d'aflatoxines les plus importantes sont le maïs, les arachides et leurs dérivés, qui occupent une place essentielle dans le régime alimentaire de certains pays (CAC, 2005b).

54. À sa 49^{ème} réunion, le JECFA a évalué l'impact potentiel de deux normes hypothétiques relatives à la contamination des arachides par les aflatoxines (10 ou 20 µg/kg) sur deux échantillons de population et le risque global couru par celles-ci. On a conclu que la réduction du niveau maximal (NM) autorisé pour les aflatoxines totales dans les arachides de 20 µg/kg à 10 µg/kg n'entraînerait aucune différence observable dans les taux de cancer du foie (JFAO/OMS, 1998).

55. L'ingestion alimentaire d'aflatoxines par la population suédoise a été estimée à 0,6 et 0,7 ng/kg de poids corporel pour les consommateurs moyens et gros (95^{ème} centile) respectivement (Thuvander, 2001). L'estimation de la consommation de noix du Brésil était de 0,3 g/jour pour aussi bien les consommateurs moyens que ceux situés au 95^e centile. Les poids corporels des deux catégories de population ne sont pas indiqués. Dans une autre étude suédoise, sur la base d'un consommateur de 70 kg de poids corporel dont la consommation de noix du Brésil est de 0,3 kg pendant la période de Noël, l'ingestion médiane d'aflatoxines était de 0,73 ng/kg de poids corporel et le 95^e centile de 1,10 ng/kg de poids corporel. En étalant la consommation sur toute l'année, ces chiffres deviennent 0,002 et 0,3 ng/kg de poids corporel (Marklinder et

al., 2005).

56. À sa 68^{ème} réunion, le JECFA a évalué l'impact sur la santé humaine de l'exposition alimentaire aux aflatoxines liée à la consommation des parties comestibles des fruits à coque (prêts à consommer) et des figes sèches (OMS, 2007). Sur la base des 13 régimes alimentaires par module de consommation GEMS/Aliments (OMS, 2006) et d'un poids corporel de 60 kg, le Comité a évalué l'impact sur l'exposition alimentaire aux aflatoxines des niveaux maximaux (NM) hypothétiques de 4, 8, 10, 15 ou 20 µg/kg pour les aflatoxines totales présentes dans les amandes, les noix du Brésil, les noisettes, les pistaches et les figes sèches.

57. Conformément aux données GEMS/ base de données alimentaire, la consommation de noix du Brésil est différente de zéro uniquement dans les groupes de régimes E, K, et M (0.1 g/personne/jour), qui incluent respectivement l'Europe, les pays de l'Amérique latine et de l'Amérique du Nord. La consommation d'autres noix est beaucoup plus élevée et peut atteindre environ 2 g/personne/jour de noisettes ou d'amandes dans le groupe de régime B, qui inclut les pays méditerranéens. Les données issues de INC indiquent que la consommation moyenne de noix du Brésil des pays les plus gros consommateurs est de 0.082 g/personne/jour ce qui correspond à 2,2 pour cent de tous les quatre fruits à coque rassemblés

58. Le JECFA a décidé de fonder son évaluation sur les données fournies par les pays producteurs, en signalant que celles-ci constituent à une image plus représentative des produits commercialisés et constituent une estimation fiable de l'exposition alimentaire aux aflatoxines totales provenant des fruits à coque. Le Comité a indiqué que la majorité des données incluses dans l'estimation de l'exposition alimentaire aux aflatoxines totales liée aux aliments autres que les fruits à coque et les figes sèches provient de la Communauté européenne et que ces données ne reflètent pas les valeurs réelles moyennes des autres régions du monde. Elles correspondent probablement à une sous-estimation de l'exposition alimentaire aux aflatoxines totales et elles surestiment la contribution relative de l'exposition alimentaire aux aflatoxines liée aux fruits à coque

59. Dans le pire scénario, en l'absence de niveau maximal (NM), l'ingestion des aflatoxines totales liée à la consommation des fruits à coque et des figes sèches contribue à plus de 5 pour cent de l'exposition alimentaire totale aux aflatoxines totales uniquement dans les régimes alimentaires par module de consommation GEMS/Aliments B, C, D, E et M (24,6, 20, 45, 16,8 et 9,3 pour cent, respectivement).

60. L'application totale du niveau maximal de 20 µg/kg dans les amandes, les noix du Brésil, les noisettes, les pistaches et les figes sèches aurait un impact sur la contribution relative à l'exposition alimentaire aux aflatoxines totales uniquement dans ces modules de consommation, y compris pour les gros consommateurs de fruits à coque. Cela est essentiellement dû à la teneur élevée en aflatoxines totales présente dans les pistaches. Pour ce qui est des fruits à coque autres que les pistaches, l'existence d'un niveau maximal est sans effet sur l'exposition alimentaire totale aux aflatoxines totales.

61. Le JECFA a estimé que l'application d'un niveau maximal de 20, 15, 10, 8 ou 4 µg/kg entraîne des expositions alimentaires aux aflatoxines allant de 0,12, 0,10, 0,08, 0,07 et 0,06 ng/kg de poids corporel par jour dans le module avec l'exposition la plus élevée (D) à 0.03, 0.02, 0.02, 0.02 et 0.01 ng/kg pc par jour dans le module où l'exposition est la plus faible (M).

62. Le JECFA a indiqué que les estimations relatives aux modules européens B, E et F, avec des niveaux maximaux de 4 à 20 µg/kg pour les fruits à coque étaient du même ordre que celles constatées dans la note de l'EFSA avec des niveaux maximaux de 4 à 10 µg/kg pour les fruits à coque, y compris les gros consommateurs.

63. Le JECFA a conclu que d'imposer un niveau maximal de 15, 10, 8 ou 4 µg/kg aurait un impact supplémentaire minimal sur l'exposition alimentaire globale aux aflatoxines totales dans l'ensemble des cinq groupes de populations les plus exposés, par rapport au niveau maximal de 20 µg/kg. Quand on a évalué l'impact de l'application totale théorique des différents scénarios de niveaux maximaux pour les aflatoxines totales, la proportion des échantillons rejetés en appliquant le niveau maximal de 20 µg/kg pour les noix du Brésil était de 11 pour cent. Ce pourcentage est passé à 17 pour cent pour un niveau maximal de 4 µg/kg. Toutefois, conformément au projet Conforcast, la confirmation d'un NM à 20µg/kg pour les noix du Brésil en coque impliquerait de retirer 22,3 pour cent de la production brésilienne du marché international.

64. Il a été demandé au comité scientifique sur les contaminants dans la chaîne alimentaire (CONTAM) de l'Autorité européenne de la sécurité alimentaire de fournir des conseils sur l'augmentation potentielle de risques pour la santé du consommateur associée à une augmentation dans les niveaux maximaux actuels de l'Union européenne pour les amandes, les pistaches et les noisettes en prenant en compte les modèles de consommation de ces noix au sein de l'Union européenne. Le comité N° EFSA-Q-2006-174 a conclu que la modification des niveaux maximaux pour les aflatoxines totales de 4 à 8 ou 10 µg/kg AFT n'aurait qu'un effet mineur sur les estimations de l'exposition diététique et le risque de cancer. Dans un document plus récent, le Conseil scientifique a conclu que la santé publique ne serait pas affectée de façon négative par l'augmentation des niveaux pour les aflatoxines totales issus de 4 µg/kg à 10 µg/kg pour tous les arbres à fruits à coque (EFSA-Q-2009-00675)

CONCLUSIONS & RECOMMANDATIONS:

65. Le présent document de travail sur les aflatoxines contenues dans les noix du Brésil mène aux conclusions et recommandations suivantes, pour examen à la 4^{ème} session du CCCF:

I) La production de noix du Brésil représente une activité économique importante pour la population amazonienne, contribuant à la préservation de la forêt pluviale.

II) La consommation de noix du Brésil dans le monde est plus basse que celle d'autres arbres à coque. Contrairement aux autres arbres à coque, la caractéristique extrativiste de la noix du Brésil limite une augmentation élevée dans la consommation, même s'il y a une augmentation de la demande par le marché.

III) Lors de sa dernière réunion, le JECFA a conclu que d'imposer un niveau maximal de 15, 10, 8 ou 4 µg/kg produirait un faible impact sur l'exposition alimentaire globale aux aflatoxines totales lié à la consommation des amandes, des noix du Brésil, des noisettes et des pistaches dans l'ensemble des cinq groupes de population les plus exposés, par rapport à un niveau maximal de 20 µg/kg. Par ailleurs, pour les fruits à coque autres que les pistaches, l'existence d'un niveau maximal est sans effet sur l'exposition alimentaire aux aflatoxines totales

IV) Les niveaux d'aflatoxines dans les noix du Brésil écalées saines (comestibles) dans des lots qui doivent être exportés d'usines brésiliennes en tant que "prêtes à consommer" sont généralement très bas, avec 96 pour cent des échantillons contenant jusqu'à 10 µg/kg.

V) Les résultats issus du projet CONFORCAST ont montré que les niveaux d'aflatoxines totales dans les noix du Brésil en coque non triées prêtes à être exportées étaient plus élevés que 20, 15 et 10 µg/kg dans 22,3, 42,7 et 79,7 pour cent respectivement des sous-échantillons analysés. Cela signifie qu'un pourcentage élevé de noix du Brésil en coque ne seraient pas commercialisables si une de ces limites était appliquée aux noix du Brésil en coque et que cela aurait un fort impact économique et social sur la population amazonienne qui survit grâce aux activités extravivistes de la noix du Brésil.

VI) Le projet CONFORCAST a montré que le retrait des noix pourries réduit de façon drastique le pourcentage d'échantillon non commercialisable de 1,9 pour cent, 3,8 pour cent et 5,7 pour cent pour des niveaux de 20 µg/kg, 15 µg/kg, et 10 µg/kg, respectivement.

VII) Le facteur de transformation de 0.17 déterminé dans ce document (paragraphe 63) peut être utilisé pour évaluer l'impact du niveau maximal recommandé pour les noix du Brésil en coque sur l'ingestion alimentaire d'aflatoxines. Issu de la consommation de la partie comestible de la noix du Brésil en coque. A un niveau maximal de 20µg/kg et 30µg/kg, les consommateurs seraient exposés à un niveau d'aflatoxines totales de 3.5µg/kg et 5.2µg/kg dans les cerneaux sains respectivement. Selon l'évaluation du JECFA il est improbable qu'à ces niveaux maximaux (en particulier en examinant le niveau d'aflatoxines de la partie comestible) l'exposition diététique aux aflatoxines totales sera affectée.

VIII) Les études ont montré que les consommateurs peuvent séparer visuellement les cerneaux de noix du Brésil comestibles de ceux qui ne sont pas comestibles (hautement contaminés) après le processus d'écalage et donc se protègent eux-mêmes de l'exposition à des niveaux élevés d'aflatoxines. Les cerneaux pourris (non comestibles, hautement contaminés) ont une couleur jaunâtre jusqu'à noirâtre.

IX) Les pratiques pour la prévention et la réduction de l'aflatoxine dans les noix du Brésil sont essentielles pour mener le niveau d'aflatoxine à un taux le plus bas possible. A ce dessein, le code d'usages pour les noix du Brésil a été mis à jour dans le point 7 de l'ordre du jour (CX/CF 10/4/4).

X) Des plans d'échantillonnages afin de soutenir les limites recommandées sont comprises dans l'annexe II ci-dessus.

RÉFÉRENCES

1. AOAC International. Available in: <http://www.aoac.org/testkits/testedmethods.html>. Access at: February 2009.
2. AOAC Official methods 994.08. Aflatoxins in corn, almonds, Brazil nuts, peanuts and pistachio nuts. AOAC – Official Methods of Analysis (2000), 17th Ed., Vol. II, AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Chapter 49, 26-27.
3. Arrus, K.; Blank, G.; Clear, R.; Holley, R.A.; Abramson, D. Microbiological and aflatoxin evaluation of Brazil nut pods and the effects of unit processing operations. *Journal of Food Protection* 68, 1060-65, 2005b.
4. Arrus, K.; Blank, G.; Abramson, D.; Clear, R.; Holley, R.A. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in Brazil nuts. *Journal of Stored Products Research*, 41: 513-527. 2005a.
5. Bacaloni, A., Cavaliere, C., Cucci, F. Foglia, P. Samperi, R., Laganà, A., Determination of aflatoxins in hazelnuts by various sample preparation methods and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1179 182–189, 2008.
6. Bayman, P.; James, L.; Mahoney, N. E. *Aspergillus* on tree nuts: incidence and associations. *Mycopathologia*, 155:161-169. 2002.
7. BRAZIL. Ministry of Agriculture, Data on Brazil nuts. 2006 (unpublished data).
8. CAC - Codex Alimentarius Commission. 24th Session of Codex Commission. ALINORM 01/41, paragraph 138. 2001.
9. CAC - Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 37th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants CRD 17, Data on the occurrence of aflatoxins in Brazil nuts, in Brazil, from 1998-2004, 2005a.
10. CAC - Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 37th Session. Discussion Paper on aflatoxins in Brazil nuts. CX/FAC 05/37/24, December 2004, The Hague, the Netherlands, 25-29, April, 2005b.
11. CAC - Codex Alimentarius Commission, Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 37th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, ALINORM 05/28/12, 2005c.
12. Cartaxo, C. B. C.; Souza, J. M. L.; Corrêa, T. B.; Costa, P.; Freitas-Silva, O. Occurrence of aflatoxin and filamentous fungi contamination in brazil-nuts left inside the forest. In: IV Congresso Latinoamericano de Micotoxicología. Anais eletrônicos. Havana, Centro Nacional de Sanidad Agropecuária, 2003.
13. CONFORCAST. Ferramentas Analíticas para Capacitação do Brasil na Garantia da Conformidade da Castanha-Do-Brasil (*Bertholletia Excelsa*) quanto ao Perigo aflatoxina. Projeto nº 1.265/05, Aprovado pela FINEP na Chamada Pública, “Ação Transversal - TIB - 06/2005 - Linha 1”. MAPA. Ministério da Agricultura, pecuária e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária - DAS, Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Vegetal – DIPOV. Coordenação-Geral de Apoio Laboratorial – CGAL, Laboratório Nacional Agropecuário – LANAGRO/MG, United States Department of Agriculture (Thomas Whitaker and Andy Slate).
14. EC. European Commission. European Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006. Methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union*, 2006.

15. EFSA- The European Food safety Authority. Statement of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on the effects on public health of an increase of the levels for aflatoxin total from 4µg/kg to 10µg/kg for tree nuts other than almonds, hazelnuts and pistachios. *The EFSA Journal* (2009) 1168, 1-11.
16. EFSA, Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a Request from the Commission Related to the Potential Increase Of Consumer Health Risk By A Possible Increase of the Existing Maximum Levels for Aflatoxins in Almonds, Hazelnuts and Pistachios and Derived Products - Question N° EFSA-Q-2006-174. *The EFSA Journal* 446, 1 – 127. 2007
17. FAO/WHO. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additive Series, No. 40, 1998.
18. FAO/WHO. Safety evaluation of certain food additives and contaminants (Sixty-eighth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additives Series: 59, p.305. 2008. Available at http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241660594_eng.pdf. Accessed on January 2009.
19. Food Standard Agency, 2004. Analysis of Aflatoxin B₁ and total aflatoxins in edible nuts and nut products. Summary available at: <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/summarynuts.pdf>
20. Frisvad, J. C., Thrane, U., Samson, R. A. and Pitt, J.I. (2006) Important mycotoxins and the fungi which produce them. In: Hocking. A. C., Pitt, J.I., Samson, R. A. and Thrane, U. (Eds) *Advances in Food Mycology*. Springer, New York, pp.3-31.
21. Gilbert, J. and Vargas, E.A. Advances in Sampling and Analysis for Aflatoxins in Food and Animal Feed. *Toxin Reviews* (formerly *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*), 22(2&3): 381-422. 2003.
22. INC. International Nut and Dried Fruit Council Foundation. Document prepared for the Electronic Working Group "Discussion Paper on Maximum Levels for Total Aflatoxins in Ready-to-eat Almonds, Hazelnuts and Pistachios" led by the European Community, 2007.
23. Ioannou-Kakouri E, Aletrari M, Christou E, Hadjioannou-Ralli A, Koliou A, Akkelidou D. Surveillance and Control of Aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂ and M₁ in Foodstuffs in the Republic of Cyprus: 1992-1996. *J. of AOAC International*, 82(4): 883 – 892. 1999.
24. Ito, Y.; Peterson, S.; Wicklow, D.T.; Goto, T. *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section flav. *Mycological Research*, 105(2): 233-239. 2001.
25. Johnsson, P, Lindblad, M., Thim, A.M., Jonsson, N., Vargas, E.A., Medeiros, N.L., Brabet, C., Quaresma de Araújo, M., and Olsen, M. Growth of aflatoxigenic moulds and Aflatoxin formation in Brazil nuts. *World Mycotoxin Journal*, 1(2):127-137, 2008.
26. MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária, Abastecimento. LACQSA/LANAGRO-MG. POP 055, Determinação de aflatoxinas por cromatografia líquida de alta eficiência e em camada delgada, revisão 02, 25 de fevereiro de 2008.
27. Marklinder, I.; Lindblad, M.; Gidlund, A.; Olsen, M. Consumers' ability to discriminate aflatoxincontaminated Brazil nuts. *Food Add. Cont.* 22 (1): 56-64. 2005.
28. Mello F. R. and Scussel V. M. 2007. Characteristic of in-shell Brazil nuts and their relationship to aflatoxin contamination: criteria for sorting. *J. of Agric. and Food Chemistry*, 55, 9305-9310.
29. Olsen M, Johnsson P, Möller T, Paladino R and Lindblad M. *Aspergillus nomius*, an important aflatoxin producer in Brazil nuts? *World Mycotoxin Journal* 1 (2), 123-126, 2008.
30. Olsen M., Jonsson P., Brabet C, Vargas E., Nogueira Leite F. M., Leite de Souza J. M., Quaresma de Araujo M. , Limeira Medeiros N., Thim A.-M. and Lindblad M.: Development of a predictive model for aflatoxin production and fungal growth in the Brazil nut production chain. *ISM conference 2009, Tulln, Austria, 9-11 September 2009* (<http://www.ism2009.at/>)
31. Ozay, G., Seyhan, F., Yilmaz, A., Whitaker, T. B., Slate, A. B., Giesbrecht, F. G. Sampling Hazelnuts for Aflatoxin: Effect of Sample Size and Accept/Reject Limit on Reducing the Risk of Misclassifying

- Lots: Food Chemical Contaminants Journal of AOAC International, 90, 1028-1035, 2007
32. Ozay, G., Seyhan, F., Yilmaz, A., Whitaker, T. B., Slate, A. B., Giesbrecht, F. G. Sampling Hazelnuts for Aflatoxin: Uncertainty Associated with Sampling, Sample Preparation, and Analysis : Food chemical contaminants - Journal of AOAC international vol. 89 No. 4, 2006.
 33. Pacheco A., Robert F.; Scussel V. Detecção de aflatoxinas em castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa* H.B.K) na safra de 2005. *Analytica*, 22: 64-65. 2006.
 34. Pacheco A; Scussel V. Selenium and aflatoxin levels in raw Brazil nuts from the Amazon basin. *J. Agric. Food Chem.* 55:11087-92, 2007.
 35. Pacheco, A.M.; Scussel. V.M. Aflatoxins Evaluation on *In-shell* and *Shelled* Dry Brazil Nuts for Export Analyzed by LC MS/MS - 2006 and 2007 Harvests. *World Mycotoxin Journal.* 2: 295-304, 2009.
 36. Pohland A. E. Mycotoxins in review. *Food Add. Cont.*, 10: 17-28. 1993.
 37. Salunkhe D. K.; Adsule R. N.; Padule D. N. Aflatoxins in foods and feeds, Metropolitan, Book Co.Pvt. Ltd., New Delhi, India, p. 18. 1987.
 38. Sobolev VS. Simple, rapid, and inexpensive cleanup method for quantitation of aflatoxins in important agricultural products by HPLC. *J Agric Food Chem.* 55:2136-41, 2007
 39. Souza, J. M. L.; Cartaxo, C. B. C.; Leite, F. M. N.; Reis, F. S. Avaliação microbiológica de castanha do brasil em usinas de beneficiamento no Acre. In: XLIX Reunião Anual da Sociedade Interamericana de Horticultura Tropical. Anais. Fortaleza, p. 201 (Embrapa Agroindústria Tropical. Documentos, 67). 2003.
 40. Spanjer M, C., Rensen, P., M.; Scholten, J.M., LC-MS/MS multi-method for mycotoxins after single extraction, with validation data for peanut, pistachio, wheat, maize cornflakes, raisins and figs. *Food additives and contaminants*, 25(4): 472-489, April 2008.
 41. STDF Project 114 - "Validation and transfer to the key stakeholders of a sustainable and effective aflatoxin management system in the Brazil nut production chain for recovering and consolidating export markets, particularly in Europe. FINAL REPORT Covering Period from 1 June 2006 to 30 November 2008. Project coordinators: Catherine BRABET, CIRAD, France - General Coordinator, Monica OLSEN, NFA, Sweden - Scientific Coordinator. Last version: May 2009
 42. Stroka, J., Anklam, E., Jorissen, U., Gilbert, J. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste and paprika powder: collaborative study. *J. AOAC*, 83, 2, 320-340, 2000.
 43. Thuvander, A.; Möller, T.; Enghardt Barbieri, H.; Jansson, A.; Salomonsson, A.-C.; Olsen, M. Dietary intake of some important mycotoxins by the Swedish population. *Food Add. Cont.* 18 (8): 696-706. 2001.
 44. Wadt., L. H. O.; Kainer, K. A.; Gomes-Silva, D. A. P. Population structure and nut yield of a *Bertholletia excelsa* stand in southwestern Amazonia. *Forest Ecology and Management.* 211: 371-384. 2005.
 45. Whitaker, T.B., Hagler, W.M., Giesbrecht, F.G., Dorner, J.W., Dowell, F.E., and Cole, R.J. Estimating aflatoxins in farmers' stock peanut lots by measuring aflatoxins in various peanut-grade components. *Journal of AOAC International* Vol 81(1):61-67, 1998.
 46. Whitaker, T.B., Slate, A.B., Hurley, J.M., Giesbrecht, F. G. Sampling Almonds for Aflatoxin, Part II: estimating Risks Associated with various Sampling Plan Designs: Food chemical contaminants - Journal of AOAC International 90, 778-785, 2007.
 47. WHO – World Health Organization. GEMS/Food Custers Diet (Global Environment Monitoring System/ Food Contamination Monitoring and Assessment Program). 2006. Available at <http://www.who.int/foodsafety/chem/gems/en/index1.htm>.

ANNEXE
Procédures

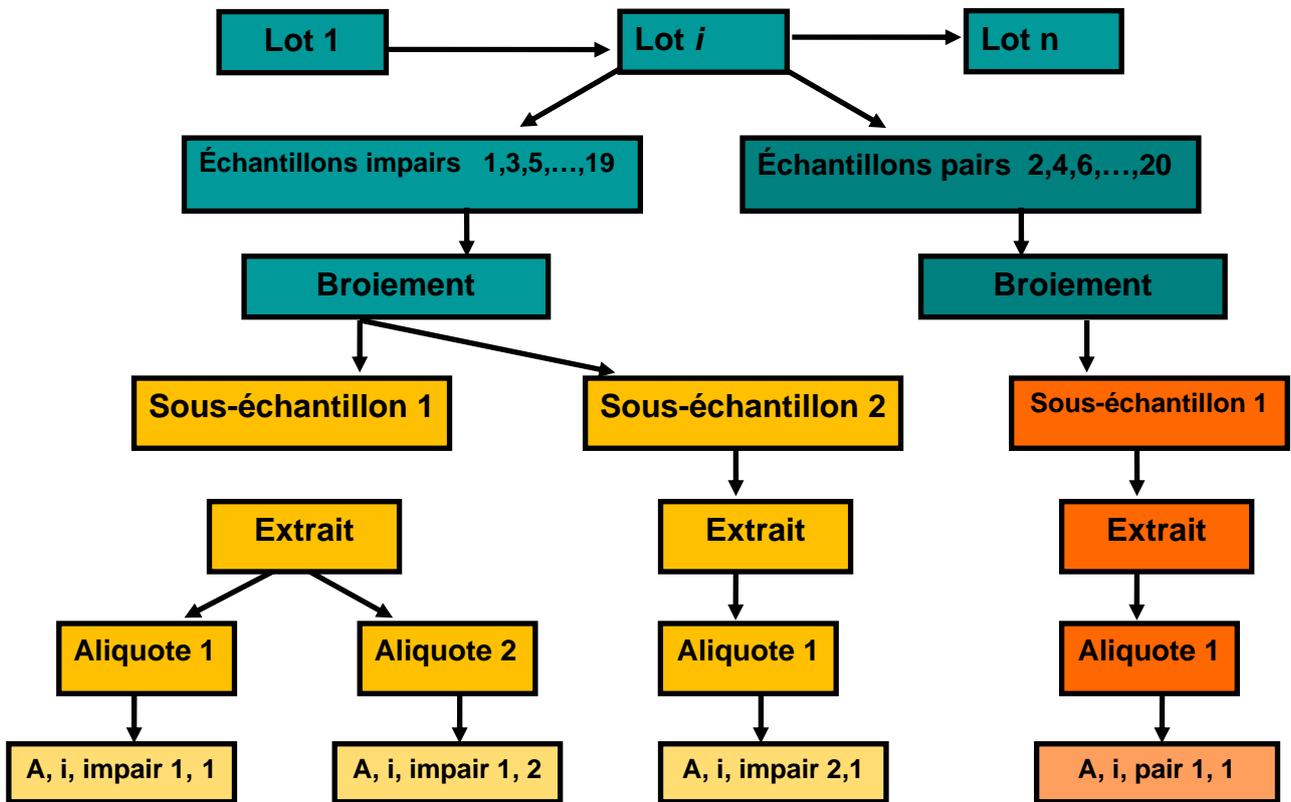
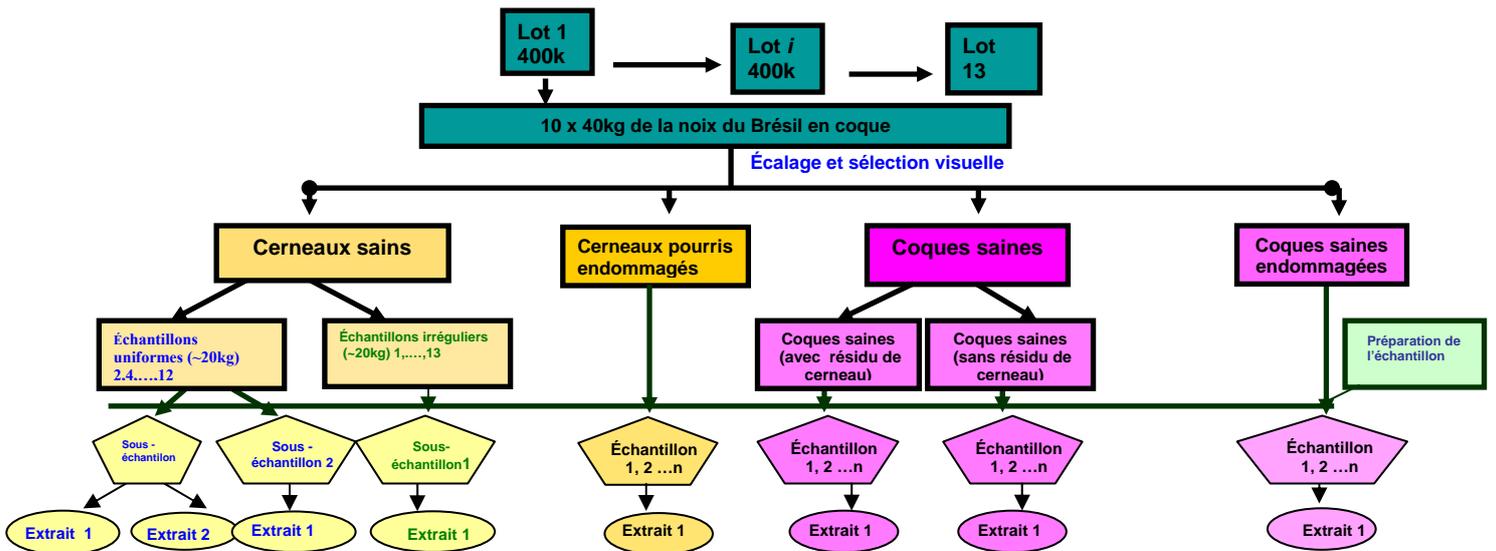


Figure 1: Concept niché expérimental déséquilibré pour les noix du Brésil écalées; i = numéro du lot = 1, 2, 3, ...25; j = nombre échantillon = 1, 2, 3, ...20; k = nombre sous échantillon = 1 ou 2; l = nombre aliquote = 1 ou 2; $A_{i,j,k,l}$ = concentration d'aflatoxine pour le lot i , l'échantillon j , le sous-échantillon k , et l aliquote.

Figure 2. Procédures pour la préparation des noix du Brésil en coque



Filename: cf04_06f.doc
Directory: C:\Documents and Settings\sciotti\Desktop\CODEx
Template: C:\Documents and Settings\sciotti\Application
Data\Microsoft\Templates\Normal.dot
Title: ANEXO IV
Subject:
Author: Eloisa
Keywords:
Comments:
Creation Date: 08 February 2010 6:05 PM
Change Number: 6
Last Saved On: 09 February 2010 5:22 PM
Last Saved By: Sciotti, Roberto (AGNC)
Total Editing Time: 22 Minutes
Last Printed On: 09 February 2010 5:23 PM
As of Last Complete Printing
Number of Pages: 25
Number of Words: 12,557 (approx.)
Number of Characters: 67,435 (approx.)