



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD
DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



COFINANCIADO POR:



MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN



**NUESTRO AGRADECIMIENTO
AL EQUIPO REDACTOR DE ESTA GUÍA:**

Ana Hurtado y Marta Busquet
CESFAC

Odón Sobrino
MAPA

Mariano Gorrachategui
IBÉRICA DE NUTRICIÓN

José Damián Rodríguez
CARGILL

Félix Gil
HIBRAMER

Félix de Paz
SAPROGAL

Jesús Lizaso y Almudena Antón
NANTA

Juan Carlos Segura
SAT ALIA

Enrique Hernández
FOSS ESPAÑA

Ana García Alvarado
PREMIX IBÉRICA

Tamara Delgado y Alberto Aburto
BUNGE IBÉRICA

Carmen Romero
LABOCOR



MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN

LA EDICIÓN DE ESTA PUBLICACIÓN HA SIDO POSIBLE GRACIAS A LA COLABORACIÓN DE LA FUNDACIÓN CESFAC
Y AL APOYO ECONÓMICO DEL MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACIÓN (Orden APA/1198/2006)

CESFAC FUNDACIÓN CESFAC Diego de León, 54 28006 Madrid T. +34 91 563 34 13 F. +34 91 561 59 92 cesfac@cesfac.es



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD
DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



LA ENTRADA EN VIGOR DEL

Reglamento (CE) Nº 1831/2005, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de enero de 2005, por el que se fijan requisitos en materia de higiene de los piensos, ha supuesto la necesidad de que se garantice la seguridad de los piensos a lo largo de toda la cadena alimentaria desde la producción primaria hasta la alimentación de los animales destinados a la producción de alimentos. Esto unido a que la producción animal ocupa un lugar muy importante en el sector agrícola de la Comunidad Europea, y que la obtención de resultados satisfactorios en esta actividad depende en gran medida de la utilización de piensos inocuos y de buena calidad, hace indispensable que se elaboren herramientas útiles y prácticas que ayuden a que los piensos sean productos de calidad más elevada.

Desde la Confederación Española de Fabricantes de Alimentos Compuestos para Animales (CESFAC) somos conscientes de estas necesidades, ya en el año 2005 elaboramos la "Guía de Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en la Industria de Fabricación de Piensos". Esta Guía contemplaba ejemplos prácticos para la implantación del sistema APPCC en la Industria de Piensos Compuestos tal y como indicaba la normativa. El sistema APPCC contribuye a mejorar la fabricación de nuestros productos, incrementando la inocuidad de los mismos y aumentando los rendimientos de nuestra industria.

Este año 2006, lanzamos una nueva guía que redundará en la mejora de la seguridad alimentaria de nuestros piensos, en este caso nos hemos centrado en las materias primas que entran dentro de las fábricas y que son la base de nuestros piensos. Esta nueva **"Guía de procedimientos de control para la determinación de la seguridad de las materias primas destinadas a la alimentación animal"** es otra herramienta útil para el sector que ayuda a identificar las sustancias indeseables que se pueden encontrar en las materias primas mejorando la calidad y la higiene de los piensos que se elaboran.

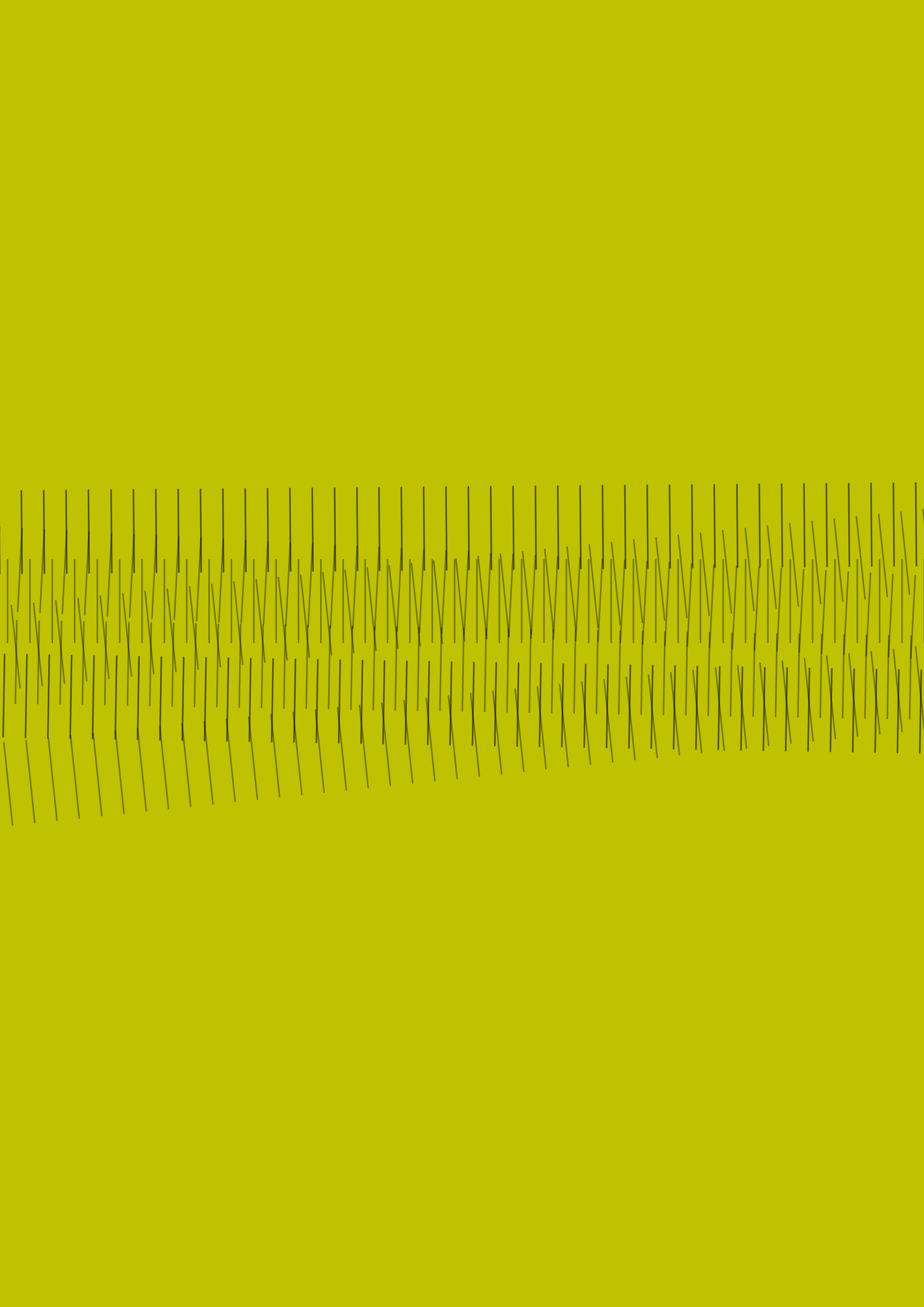
En la elaboración de esta Guía, CESFAC ha creado un grupo de expertos multisectorial con presencia de técnicos prestigiosos de la fabricación, de la Administración, de la importación y comercialización de materias primas para la alimentación animal, de laboratorios y de empresas de tecnologías de control.

Desde estas líneas me gustaría, como Presidente de CESFAC, agradecer la valiosa aportación a esta Guía a todos los expertos que han participado y animar a que iniciativas de este tipo se sigan llevando a cabo, con el fin de que se contribuya a la seguridad alimentaria de nuestro sector y por tanto de toda la cadena alimentaria.



CARTA DEL
PRESIDENTE
CESFAC

ENRIQUE ULLOA CANALEJO



1

7 INTRODUCCIÓN
9 OBJETIVOS PERSEGUIDOS
10 MARCO LEGISLATIVO

2

**13 RECEPCIÓN DE MATERIAS PRIMAS
EN LA FÁBRICA**
15 PAUTAS DE ACTUACIÓN

3

17 MÉTODOS DE MUESTREO
20 DIRECTRICES GENERALES



ÍNDICE

4

**33 CLASIFICACIÓN
DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES**
GRUPOS PRINCIPALES
DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES.
ESQUEMA DE LAS FICHAS
DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES:
– Evaluación del riesgo
– Marco legislativo
– Método de muestreo específico
– Método de análisis
– Bibliografía

5

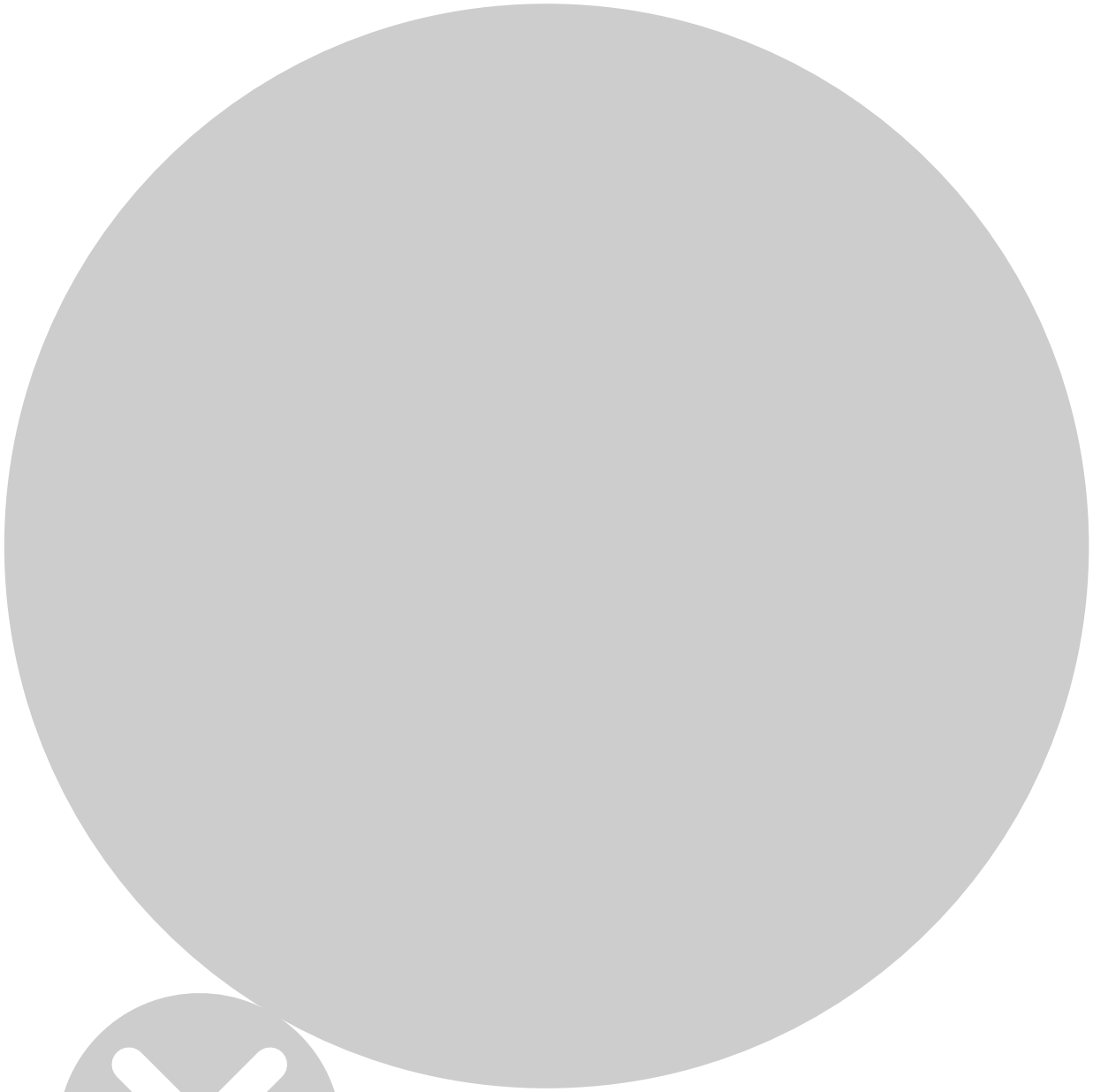
**139 PAUTAS DE INTERPRETACIÓN
Y ACTUACIÓN**

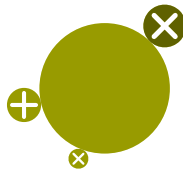
6

143 CUADRO RESUMEN

1

INTRODUCCIÓN





GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



OBJETIVOS PERSEGUIDOS

Uno de los puntos clave en los sistemas de producción animal en Europa es la mejora de la eficiencia de los animales y en consecuencia, la competitividad relativa del sector ganadero español. En este sentido, entre los factores más importantes a tener en cuenta para conseguir esta mejora destaca la correcta nutrición de los animales junto con el requisito de que dichos alimentos cumplan con unos estándares adecuados de calidad e higiene. Asimismo, el consumidor europeo ha experimentado un cambio importante en estos últimos años respecto a sus preferencias alimentarias, exigiendo cada vez mayor estandarización y garantías sanitarias de los productos ganaderos para el consumo humano.

La demanda creciente de productos de buena calidad higiénica y sanitaria en todos los eslabones de la cadena alimentaria han llevado a las autoridades europeas a desarrollar estrictas normativas con el objeto de **controlar tanto la presencia de contaminantes** (principalmente químicos y biológicos), así como la calidad nutricional de los piensos y las materias primas. Entre estas normativas destacan el **Reglamento (CE) nº 183/2005**, por el que se fijan los requisitos en materia de higiene de los piensos y el **Real Decreto nº 465/2003**, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal.

De esta forma, la industria de pienso para animales debe garantizar un control fiable y eficaz del proceso de producción en todos los eslabones. En este sentido, la **recepción de materias primas en la fábrica** es el primer paso de la cadena de fabricación, por lo que asegurar una buena calidad de las mismas es esencial para el mantenimiento de la calidad en las etapas posteriores.

Por todos estos motivos, la **Confederación Española de Fabricantes de Alimentos Compuestos para Animales (CESFAC)** ha elaborado la presente “**Guía de procedimientos de control para la determinación de la seguridad de las materias primas destinadas a la alimentación animal**”.

El objetivo de esta Guía de procedimientos de control no es otro que el de intentar recopilar en un documento único de fácil manejo todos los procedimientos que se deben seguir para la realización de un control adecuado de las materias primas recepcionadas en la industrias de fabricación de piensos compuestos en cuestiones de **seguridad alimentaria**.

Con esta filosofía la Guía pretende por un lado, informar acerca de los riesgos que tienen las diferentes materias primas respecto al contenido de sustancias indeseables y su posible con-

+ INTRODUCCIÓN

taminación, así como informar sobre el método de muestreo más eficaz que se puede llevar a cabo para su control y los métodos de análisis más habituales que se utilizan actualmente. Asimismo, se recopilan los diversos límites máximos que la legislación establece y las posibles actuaciones a llevar a cabo en el caso de que se detectasen límites altos en las materias primas.

MARCO LEGISLATIVO

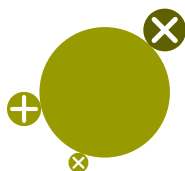
Las sustancias indeseables están reguladas por una normativa principal (Directiva 2002/32, del Parlamento Europeo y del Consejo, 7 de mayo de 2002, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal), que lleva evolucionando desde el momento de su elaboración y que debido a los nuevos conocimientos científicos durante estos últimos años ha introducido cambios muy significativos. Uno de los cambios importantes es fijar los límites umbrales, se trata de límites que si son superados por las materias primas deben comunicarse a las autoridades competentes, sin que se trate de una alerta sanitaria. Estos límites de actuación se encuentran recogidos en una normativa de reciente publicación la Recomendación 2006/576/CE, publicada en agosto de 2006.

Estos límites umbrales de las micotoxinas que se han establecido en los cereales y sus productos, van a servir para poder hacer una evaluación del sector y así poder conocer, antes de fijar los límites máximos, cuál es la situación de las materias primas, principalmente su contaminación de base o de origen, con el fin de fijar los límites máximos con mayores datos y más información previa, ajustándose más fielmente a la realidad existente.

Por tanto, nos encontramos con dos normativas que están en vigor y que regulan la situación de las sustancias indeseables actualmente, son las siguientes:

Real Decreto nº 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal.

El Real Decreto es la transposición de la Directiva 2002/32/CE, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 7 de mayo de 2002, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal, que ha ido modificándose y que continua cambiando periódicamente. Es importante por tanto, conocer todas las modificaciones e ir actualizando los diferentes límites que se establecen en las nuevas normativas y que van cambiando este Real Decreto. En esta Guía de controles se introducen nuevos cambios que en breve van a estar en vigor; si bien, actualmente no se han transpuesto.



Recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal.

Esta Recomendación fija los límites umbrales de las principales micotoxinas que se encuentran en alimentación animal, su objetivo es reducir los problemas sanitarios derivados de la presencia de estas sustancias en las materias primas que se utilizan para la alimentación de los animales de producción. Se trata de una iniciativa nueva que pretende que los límites máximos que se establezcan se ajusten mejor a la realidad del sector, recabando toda la información a nivel de campo para conocer los contenidos en micotoxinas de las materias primas reales y no teóricos.

En el caso de los métodos de muestreo contamos con la siguiente normativa:

Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios.

Orden SCO/3427/2005, de 25 de octubre, por la que se modifican los anexos del Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios.

Real Decreto 90/2001, de 2 de febrero, por el que se establecen los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de aflatoxinas en cacahuets, frutos de cáscara, frutos desecados, cereales, leche y los productos derivados de su transformación.

Orden SCO/388/2003, de 25 de febrero, por la que se modifican los anexos I y II del Real Decreto 90/2001, de 2 de febrero, por el que se establecen los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de aflatoxinas en cacahuets, frutos de cáscara, frutos desecados, cereales, leche y los productos derivados de su transformación.

Reglamento (CE) N° 401/2006 de la Comisión de 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios.



INTRODUCCIÓN



Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Real Decreto 604/2003, de 23 de mayo, por el que se establecen los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial de las dioxinas y la determinación de policlorobifenilos (PCB) similares a las dioxinas en los productos alimenticios.

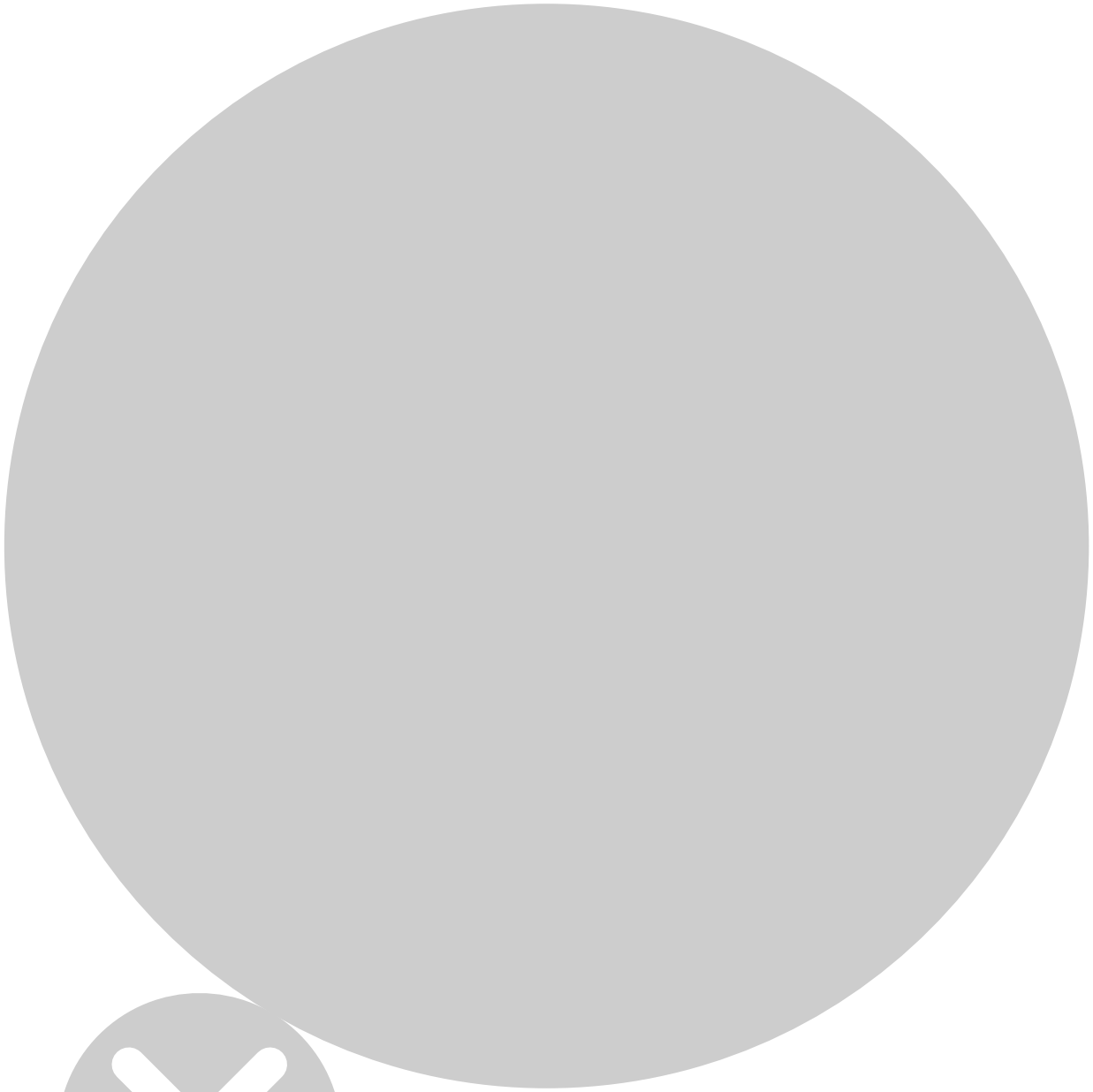
En el caso de los métodos oficiales de análisis contamos con la siguiente normativa

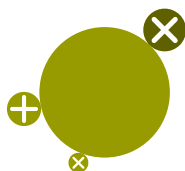
Reglamento (CE) N° 1883/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, por el que se establecen métodos de muestreo y de análisis para el control oficial de los niveles de dioxinas y PCB similares a las dioxinas en determinados productos alimenticios.

Real Decreto n° 2257/1994, de 25 de noviembre, por el que se aprueban los métodos oficiales de análisis de piensos o alimentos para animales y sus primeras materias.

2

**RECEPCIÓN
DE MATERIAS PRIMAS
EN LA FÁBRICA**





GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



La fase de recepción de materias primas en una fábrica de piensos es de crucial importancia. En dicha fase se realiza un control exhaustivo de la materia prima, comprobando el estado del producto que llega y aplicando el plan de control de calidad, el cual debe recoger el plan de muestreo. En esta fase es necesario realizar una toma de muestras de la mercancía, la cual dependerá de la naturaleza de la materia prima.

Además, es importante que la persona que lleve a cabo este control de las materias primas, también recopile toda la información disponible de esa mercancía con el fin de que la toma de muestras que se va a realizar a continuación sea lo más efectiva y adecuada posible.

Aunque, cada control de calidad y toma de muestras es diferente para cada fábrica, a continuación se enumeran una pautas generales de actuación:

LLEGADA DEL CAMIÓN QUE TRANSPORTA LA MATERIA PRIMA

- Recepción de certificados de limpieza del camión e información de las cargas anteriores. Es importante que el camión que transporta la mercancía cuente con un sistema de APPCC y con una planificación de cargas que limite la contaminación entre distintas mercancías.
- Recepción de certificados analíticos del proveedor y según el caso, recepción de la muestra suministrada por el proveedor.
- Chequeo visual del camión con el fin de comprobar las condiciones higiénicas del mismo.

TOMA DE MUESTRAS DE LA MATERIA PRIMA

- Recogida de los datos de la mercancía tales como: número de lote, datos del proveedor, matrícula del camión que los transporta, cantidad de mercancía que se entrega, datos analíticos de la materia prima, origen de la mercancía, etc.
- Toma de muestras de la mercancía, con sondas o bien con elementos adecuados dependiendo de la naturaleza de la muestra. Se debe de aplicar el plan de muestreo establecido en la fábrica. Para elaborar este plan de muestreo se puede consultar el apartado siguiente de esta Guía: *Método de muestreo*. Es importante recordar que el método de muestreo se establecerá en función de la materia prima de que se trate, la cantidad, el número de envases y su acondicionamiento.

RECEPCIÓN DE MATERIAS PRIMAS EN LA FÁBRICA



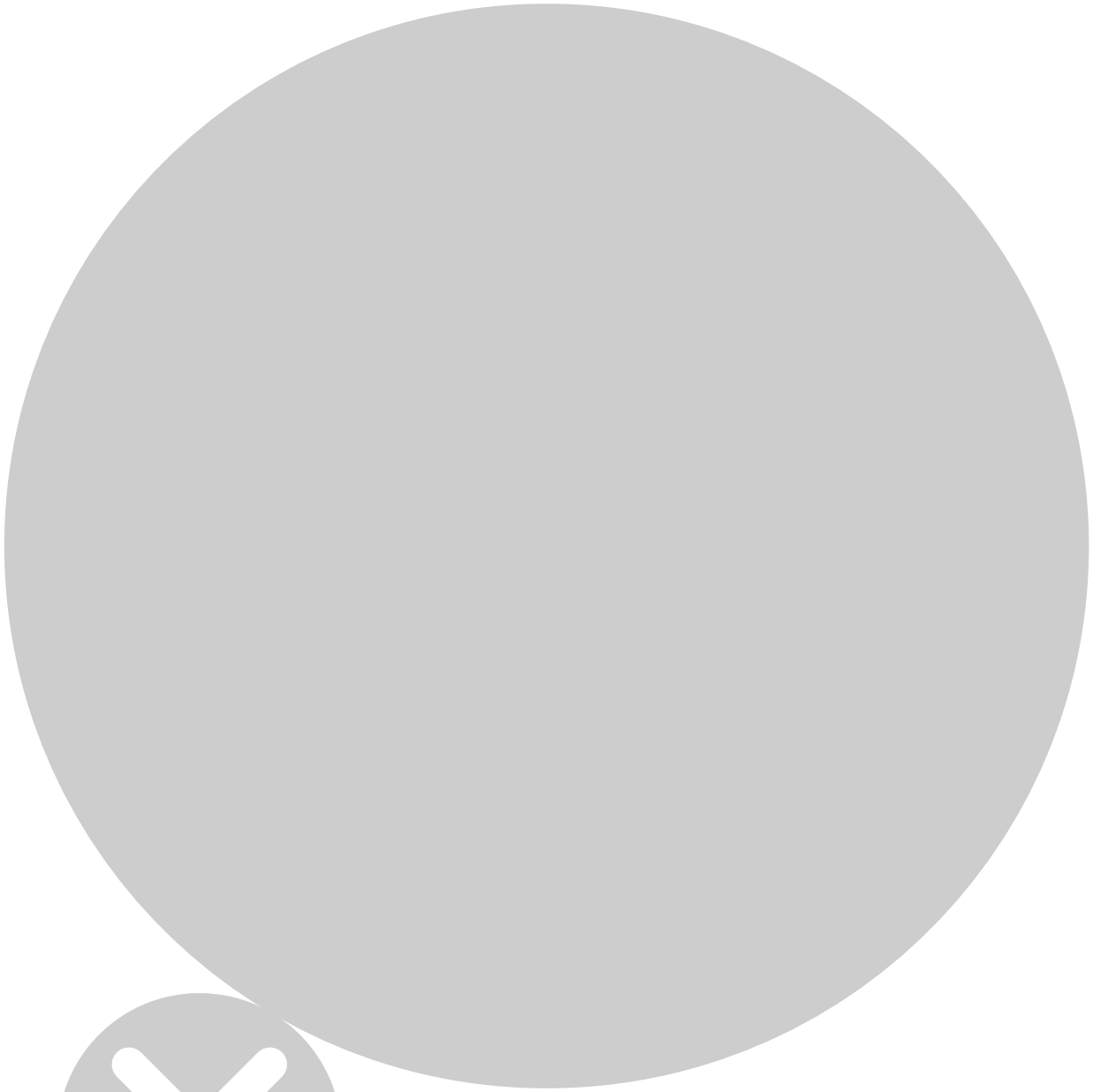
- Inspección visual de la muestra, corroborando que se ajustan a las especificaciones elaboradas por la fábrica de pienso, por ejemplo comparando color, olor, etc.
- Control rápido de la muestra chequeando la humedad, temperatura, peso específico, acidez, índice de peróxidos, densidad, prueba de urea. Para llevar a cabo este control se puede utilizar un aparato de infrarrojos cercano (NIRS), lámparas fluorescentes, kit rápido de detección, etc.
- Todos los datos obtenidos se contrastan con las especificaciones de la materia prima elaboradas por la fábrica y también con las establecidas en el contrato con el proveedor.

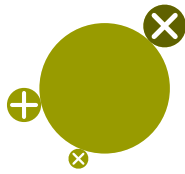
FASES POSTERIORES A LA TOMA DE MUESTRA Y LA ENTRADA DE LA MATERIA PRIMA

- La muestra que se ha tomado siguiendo en plan de muestreo establecido se cuartea y se obtienen dos submuestras, una de ellas se almacena en la fábrica y la otra submuestra se utiliza para obtener la muestra que se destina al laboratorio (ver punto de métodos de muestreo).
- La materia prima se destina a un silo de la fábrica, y justo a la entrada del almacén se podrían aplicar los tratamientos preventivos correspondientes con el fin de mantener sus condiciones higiénico-sanitarias.

3

**MÉTODOS
DE MUESTREO**





INTRODUCCIÓN

Existen una infinidad de procedimientos de muestreo que dependen de la naturaleza de la materia prima que se va a analizar; o bien de la sustancia que se pretenden determinar. Lo más recomendable es que el procedimiento de muestreo que se aplique esté conforme con las normas ISO relativas al producto que se trate, si bien no todos los productos tienen normas apropiadas.

En este apartado se recogen líneas generales de muestreo que ayudan a los fabricantes de piensos a la hora de elaborar un procedimiento de muestreo o diseñar un plan de muestreo adecuado a sus necesidades.

DEFINICIONES

Característica. Por característica se entiende una propiedad que permite identificar los elementos de un determinado lote o diferenciarlos entre sí. La característica puede ser cuantitativa (una cantidad medida) o cualitativa (satisface o no una especificación). Un ejemplo de característica cuantitativa sería el contenido en sustancias indeseables de un cereal, mientras que un ejemplo de característica cualitativa sería un test de ELISA que indican la presencia de salmonela en un cereal.

Error total de estimación. En la estimación de un parámetro, el error total de estimación es la diferencia entre el valor calculado del estimador y el valor auténtico de este parámetro. El error total de estimación puede deberse a las causas siguientes:

- error de muestreo,
- error de medición,

- redondeo de valores o subdivisión en clases,
- sesgo del estimador.

Error de muestreo. El error de muestreo puede deberse en parte a uno o varios de los parámetros siguientes:

- la heterogeneidad de las características inspeccionadas,
- el carácter aleatorio del muestreo,
- las características conocidas y aceptables de los planes de muestreo.

Heterogéneo. Un lote es heterogéneo con respecto a una determinada característica si ésta última no está distribuida de manera uniforme en todo el lote.

Homogéneo. Un lote es homogéneo con respecto a una determinada característica si ésta última está distribuida de manera unifor-

+

MÉTODOS DE MUESTREO

me en todo el lote con arreglo a una ley de probabilidad dada. El hecho de que un lote sea homogéneo con respecto a una determinada característica no indica que el valor de la característica sea el mismo en todo el lote.

Los elementos de un lote pueden ser homogéneos con respecto a una característica y heterogéneos con respecto a otra.

Lote. Cantidad de producto identificable, suministrada en una vez, de la que el agente responsable establece que presenta características comunes como el origen, la variedad, el tipo de envase, el envasador, el expedidor o el marcado.

Muestra elemental. Cantidad de materia tomada en un único punto del lote o del sublote. En la medida de lo posible, éstas deben tomarse en distintos puntos del lote o sublote.

Muestra representativa. Se entiende una muestra en la que se mantienen las características del lote de que procede. En concreto, es

el caso de una muestra aleatoria simple, en la que todos los elementos o porciones del lote tienen la misma probabilidad de integrar la muestra.

Muestra global. Reunión de todas las muestras elementales tomadas del lote o sublote.

Muestra de laboratorio. Muestra destinada al laboratorio (submuestra).

Muestreo. Procedimiento empleado para extraer y constituir una muestra.

Porción. Cantidad de material tomada de una sola vez de una cantidad mayor de producto para formar una muestra.

Remesa. Cantidad de producto entregada en un momento determinado. Puede ser una parte de un lote o también una serie de lotes.

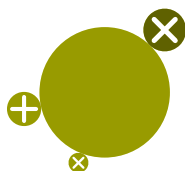
Sublote. Parte designada de un gran lote con el fin de aplicar el método de toma de muestras a esta parte designada. Cada sublote debe estar separada físicamente y ser identificable.

PROCEDIMIENTO DE MUESTREO

GENERALIDADES

La mayoría de los procedimientos de muestreo comprenden la selección de una o varias muestras de un lote, la inspección o el análisis de las muestras y la clasificación del lote (como “aceptable” o “no aceptable”) a partir del resultado de la inspección o el análisis de la muestra.

El procedimiento de muestreo debe contemplar las instrucciones necesarias para la aplicación del *plan de muestreo*, subrayando los aspectos siguientes:



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



- Las medidas necesarias para asegurar que la muestra seleccionada sea *representativa* de la remesa o el lote (si una remesa consta de varios lotes, deberán recogerse muestras representativas de los distintos lotes).
- **Los procedimientos que han de seguirse para la recogida, la manipulación y el registro de la muestra o las muestras.**
- **Las indicaciones específicas para que la muestra se tome de forma aleatoria.**
- El *tamaño y el número de elementos individuales* que constituyen la muestra tomada del lote o la remesa.

Un procedimiento de muestreo correcto es fundamental a la hora de valorar los resultados analíticos obtenidos de la muestra. Por ello, a la hora de seleccionar un **procedimiento de muestreo**, además de los aspectos anteriores, deberán abordarse los siguientes:

- La distribución de las características en la población objeto de muestreo.
- El costo del plan de muestreo.
- La evaluación de riesgos, es decir que dependiendo del riesgo que presente una materia prima a estar más o menos contaminada de micotoxinas, así se deberá elaborar el procedimiento de muestreo. Si el riesgo es alto, el número de muestras será mayor.

Además, todos los procedimientos de muestreo deben validarse con el fin de asegurar que la muestra final que se toma sea lo más representativa posible.

Con todo lo anteriormente expuesto podemos resumir que la definición precisa de un **procedimiento de muestreo** requerirá el establecimiento o la selección de los puntos siguientes:

- **La característica que debe medirse.**
- **El tamaño del lote.**
- **El nivel de inspección.**
- **El tamaño de la muestra.**
- **Los criterios para la aceptación o el rechazo del lote.**
- **Los procedimientos que han de seguirse en caso de controversia.**

DISEÑO DE UN PLAN DE MUESTREO

Un *plan de muestreo* es un procedimiento planificado con arreglo al cual se inspecciona y clasifica un lote. El plan estipulará el número de elementos, que habrán de ser seleccionados de forma aleatoria en el lote objeto de inspección, que constituirán la muestra y el número de

elementos no conformes que se requieren en una muestra para evaluar el grado de cumplimiento de las normas en un lote.

Tal y como se ha indicado anteriormente dentro de los procedimientos de muestreo, el *plan de muestreo* debe asegurar que la muestra a analizar sea **representativa** de la población de todo el lote.

El grado de representatividad de una muestra puede estar limitado por razones de coste o por conveniencia. Los principales aspectos que influyen en la representatividad de la muestra son:

- Estado físico del lote, muestra líquida, gaseosa o sólida.
- Heterogeneidad del lugar de la toma de muestras.
- Número y tamaño de las porciones tomadas.
- Desconocimiento de la estructura de la población objeto de estudio.
- Conocimiento y control de factores potencialmente distorsionadores en el momento de la toma de muestras.

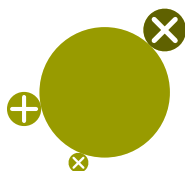
Todos estos factores que influyen en la representatividad de la muestra pueden reducirse a través del correcto diseño de un *plan de muestreo*, que incluya un examen previo, criterios estadísticos y el sentido común del analista.

Para conseguir esta representatividad, es importante también, como ya se ha indicado que el muestreo sea **aleatorio**. Un muestreo aleatorio se puede definir como la recogida de n elementos de un lote de N elementos, de forma que todas las combinaciones posibles de n elementos tengan la misma probabilidad de ser seleccionadas. La aleatoriedad se puede conseguir utilizando una tabla de números aleatorios que puede elaborarse mediante programas informáticos.

Por todo ello, nos encontramos con que la muestra seleccionada debe ser representativa y también aleatoria. Ambos factores van a depender de que los lotes sean homogéneos o heterogéneos.

Cuando los lotes son **homogéneos** una pequeña muestra es considerada como una muestra representativa, ya que el analito que vamos a medir se encuentra distribuido uniformemente en toda la muestra a analizar.

Por el contrario, en los **lotes heterogéneos** una muestra aleatoria no tiene por que ser representativa del lote, debido a que la distribución del analito a determinar es irregular y la



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



concentración del mismo varía respecto el lugar donde se tome la muestra y dentro de unos rangos bastantes amplios.

En el caso de lotes heterogéneos el muestreo estratificado puede constituir una solución a la hora de obtener una muestra representativa. El muestreo estratificado consiste en dividir el lote en distintos estratos o zonas, cada uno de los cuales será más homogéneo que el lote original en cuanto a propiedades de la muestra. Dentro de cada estrato se puede seguir cualquier criterio en la consiguiente selección de muestras, aunque en la mayoría de los casos suelen aplicarse criterios probabilísticos en general y estrategias de toma de muestras aleatoria, en particular:

Una vez establecidos los grupos y el número de muestras total a tomar del lote completo, las porciones de muestras se toman dentro de cada estrato proporcionalmente a su peso o volumen relativo respecto al total.

También se puede aplicar una estrategia de toma de muestras estratificada en situaciones en las que dispone de mucha información previa del lote de muestra, en especial de sus características generales.

Cuando no se puede realizar el muestreo de forma aleatoria, p. ej., en el caso de un almacén muy grande en el que las mercancías están desordenadas o cuando el proceso de producción conlleva un fenómeno periódico (p. ej. un contaminante localizado de forma específica en una zona concreta del silo), resulta indispensable:

- Evitar en lo posible la selección de elementos de acceso más fácil o que pueden diferenciarse por una característica visible.
- En el caso de fenómenos periódicos, evitar la toma de muestras cada k segundos, o del k° envase o cada k centímetros, y tomar una unidad de cada n paletas, preenvases, etc.

Finalmente, es importante que en el proceso de tomas de muestras se utilice un equipo adecuado que puede constar de lo siguiente:

- Bastones toma-muestras (largo y corto).
- Cuarteador de muestras.
- Recipientes de varias capacidades para la toma de muestras.
- Paleta toma muestras.
- Frascos de cierre hermético para muestras líquidas.
- Frascos estériles para envíos a microbiología.

MÉTODOS DE MUESTREO

- Bolsas de plástico porta muestras con aros metálicos.
- Etiquetas adhesivas para referenciar envíos y cajas de cartón.
- Material estéril desechable (guantes, cucharas, etc).

En el siguiente cuadro se puede ver los diferentes pasos que hay que seguir para diseñar un plan de muestreo:



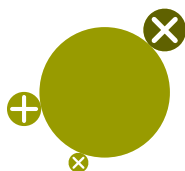
Aspectos estadísticos del plan de muestreo

En el diseño de toma de muestra el investigador tiene que decidir el nivel de error tolerable, el nivel de confianza aceptado, así como estimar el mínimo número de porciones a tomar.

Los errores asociados a la toma de muestra así como la estimación inicial del tamaño de cada porción y el número de porciones que se tienen que tomar, dependerá del tipo de muestra.

Fuentes de error en la etapa del plan de muestreo

La etapa de toma de muestras, al igual que otras etapas del proceso analítico, conlleva la posibilidad de introducir errores y por tanto los resultados cuantitativos que se obtengan de



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



los análisis efectuados a las muestras correspondientes, tienen sólo un valor limitado si no se acompañan de una estimación de los errores *aleatorios* (imprevisibles) y *sistemáticos* (previsibles) asociados a dichos resultados. (Los errores *aleatorios* afectan a la precisión del resultado, mientras que los *sistemáticos* afectan a la exactitud).

Los errores sistemáticos deberían evitarse con una correcta planificación y ejecución de la toma de muestras, mientras que los errores aleatorios, inherentes a muestras heterogéneas y básicamente asociados a falta de representatividad, deben minimizarse con una correcta estimación del tamaño y número de porciones tomadas del lote de muestra inicial.

Además, los resultados de la aplicación de los planes de muestreo están expuestos a dos tipos de errores:

- *error de muestreo* (debido a que la muestra no representa con exactitud la población de la que se ha tomado); y
- *error de medición* (debido a que el valor medido de la característica no representa con exactitud el valor auténtico de la característica en la muestra).

Es conveniente que se cuantifiquen y reduzcan al mínimo los errores de muestreo relacionados con cualquier plan de muestreo, así como los errores de medición propios del análisis.

Tamaño de la muestra

El tamaño de la porción a coleccionar del lote de muestra inicial dependerá tanto de la matriz de la muestra como de la distribución del analito en la muestra problema. De tal manera, el grado de heterogeneidad del material (por ej., tamaño, forma, composición y distribución de las partículas en muestras sólidas), la heterogeneidad respecto al analito a determinar, la concentración media del analito en la muestra y la magnitud de error exigido en el resultado final serán factores determinantes en la elección del tamaño de muestra a coleccionar. Otros factores serán el material disponible y el coste de la muestra.

Muestras homogéneas. El tamaño de la muestra deberá asegurar que en la determinación del analito, la concentración resultante de éste supere el límite de cuantificación analítico del método analítico elegido.

Muestras heterogéneas. Necesita de la aplicación de la teoría estadística, así como de un conocimiento previo aproximado de la muestra y de la concentración del analito de interés en ésta. En muchas situaciones no se dispone de información previa, o la complejidad de la



MÉTODOS DE MUESTREO

aproximación estadística es desproporcionada respecto a los objetivos de la toma de muestras, con lo que la decisión final sobre el tamaño vendrá determinado por la experiencia y criterios del analista.

Número de muestras

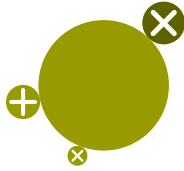
Varios son los conceptos básicos asociados con la estimación del número necesario de muestras: el grado de homogeneidad/heterogeneidad de la muestra inicial, el coste intrínseco de la toma de muestras y la variabilidad aceptada en el resultado final. Al ser imposible analizar toda la población inicial, los aspectos estadísticos podrán ser necesarios para elegir el número de muestras a tomar; siempre y cuando se disponga de una cierta información previa del lote de muestra, en especial de la variabilidad en su contenido del analito, tanto en el tiempo como en el espacio.

Aplicando criterios estadísticos el número de muestras que resulta de estos cálculos supera a menudo las posibilidades de la toma de muestras debido al alto coste asociado a los análisis. En determinadas situaciones no es posible aplicar únicamente criterios estadísticos, sino que es necesario aplicar conjuntamente criterios personales del analista, basados en su experiencia previa, así como aproximaciones empíricas para decidir el número de muestras a tomar. *Cabe recordar que aumentar el número de muestras no reduce la variabilidad natural de la muestra, sino el error en la estimación de la media, lo que puede conducir a valores mayores al aumentar el número de muestras. Por el contrario, si el número de muestras se reduce, aumentará el error aceptado en la predicción de la media, considerando que la varianza de la muestra permanece constante. De hecho, una opción válida acaba siendo elegir un número de muestras aceptable bajo el punto de vista económico, en el que la variabilidad se estabiliza.*

Preparación de muestras

Muestras primarias

Una **muestra primaria** es la 'porción de producto' extraída de un lote durante la primera fase del proceso de muestreo, que constituirá normalmente un elemento (si se ha tomado de un lote de productos preenvasados) o una porción de muestreo (si se ha extraído de un lote a granel) (no obstante, una 'porción de muestreo' puede considerarse un 'elemento' si las mediciones se realizan en porciones de muestreo individuales). En la medida que sea factible, las muestras primarias deberían tomarse en todo el lote y deberían anotarse las excepciones a este requisito. Con el fin de facilitar el análisis en el laboratorio, debería tomarse una cantidad



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



suficiente de muestras primarias de tamaño parecido. Durante la toma de muestras primarias (elementos o porciones de muestreo) y en todos los procedimientos subsiguientes habrán de tomarse precauciones a fin de mantener la integridad de la muestra (p. ej. para evitar la contaminación de las muestras o cualquier otro cambio que pueda repercutir de forma negativa en la cantidad de residuos o los resultados analíticos, o que tengan como resultado que la muestra de laboratorio no sea representativa de la muestra compuesta del lote).

Muestra compuesta

Cuando el plan de muestreo lo requiera, se obtendrá una **muestra compuesta** combinando con cautela las muestras primarias (los elementos) de un lote de productos *preenvasados*, o las muestras primarias (las porciones de muestreo) de un lote *a granel* (no preenvasado).

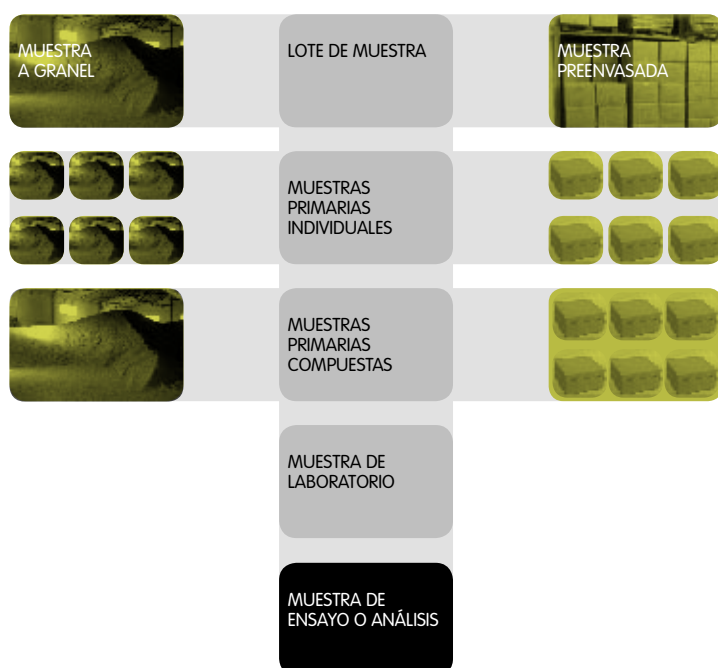
Salvo por razones económicas, no se recomienda esta técnica de muestreo, debido a la pérdida de información sobre los cambios de muestra a muestra debido a la combinación de muestras primarias.

Muestra final

La *muestra global* debe constituir, en la medida de lo posible, la **muestra final** y ha de entregarse al laboratorio para su análisis. Si la muestra global es demasiado grande, la muestra final podrá prepararse a partir de ella mediante un *método de reducción* adecuado. En ese proceso, sin embargo, no se deben cortar o dividir los elementos individuales.

MÉTODOS DE MUESTREO

CADENA DE TRANSFORMACIÓN DEL LOTE DE MUESTRA EN LA MUESTRA DE ENSAYO O ANÁLISIS

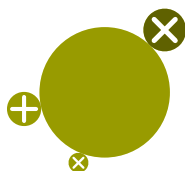


Estrategias generales en la toma de muestras

Estrategia basada en criterios no probabilísticos

Esta estrategia está basada en el juicio previo de la persona que lleva a cabo el plan de toma de muestras, por eso en ocasiones recibe también el nombre de toma de muestras selectiva o dirigida. Este tipo de estrategia de toma de muestras contempla un diseño dirigido a minimizar el efecto de los factores secundarios que pueden aportar variabilidad. Para conseguir este objetivo se utiliza toda la información de que se dispone al planificar la toma de muestras con el fin de potenciar dicha toma de muestras en puntos que pueden ser representativos de la población.

Con el fin de aplicar con éxito este tipo de estrategia es necesario disponer de mucha información previa de la zona de toma de muestras y del lote de muestra en sí. No obstante, aplicar un juicio previo acaba comportando una pérdida de exactitud, ya que las muestras analizadas estarán sesgadas respecto al global de la población. En cualquier caso esta estrate-



gia puede constituir una etapa previa de una posterior toma de muestras probabilística, lo que permitirá un mejor diseño de esta última.

Estrategia basada en criterios probabilísticos

Cuando no se dispone de suficiente información previa de la población y cuando se busca una muestra lo más representativa posible, es necesario llevar a cabo una toma de muestras probabilística, en la cual todos los componentes del lote tienen la misma probabilidad de ser tomados, mientras que componentes ajenos al lote tienen una probabilidad nula.

Se pueden distinguir dos tipos:

Toma de muestra aleatoria. En este tipo de toma de muestras, las porciones de muestra se extraen del lote de forma que cualquier porción de la población tiene la misma probabilidad de ser seleccionada. Es muy difícil en la realidad asegurar una muestra completamente aleatoria, ya que tomar muestras al azar no es igual que tomarlas según un patrón aleatorio. El número de muestras a tomar es elevado.

Toma de muestra Sistemática. Es una de las más utilizadas. Las porciones de muestra se toman en intervalos (de tiempo y espaciales) predeterminados en el plan de toma de muestras.

Una de las limitaciones es cuando la población tiene una tendencia periódica de variación, temporal o espacial, ya que en este caso el riesgo de obtener una población sesgada es superior al de otras estrategias.

Aseguramiento de la calidad en la toma de muestras

Prácticamente todos los conceptos y prácticas para asegurar la calidad de los datos y resultados analíticos pueden en un principio ser aplicados a la etapa de toma de muestras, aunque esto puede conllevar un aumento de su coste. El aseguramiento de la calidad de la toma de muestras se fundamentará en una planificación adecuada, en la documentación y en el control del proceso.

Los métodos de toma de muestras y especialmente los de análisis de rutina, deberán estar escritos y estandarizados en forma de procedimientos normalizados de trabajo. Estos no han de corresponder únicamente a etapas específicas y detalladas de la toma de muestras, sino que también tienen que incluir un esquema de toma de decisiones asociadas a la estrategia general de la toma de muestras.

+

MÉTODOS DE MUESTREO

En muchos casos el protocolo de toma de muestras ya se encuentra descrito en forma de un procedimiento normalizado de trabajo, en especial si se están siguiendo procedimientos recogidos en normas nacionales o internacionales, que no son de obligado cumplimiento, pero son las que se han de aplicar si de la toma de muestras y posterior análisis puede derivarse un problema legal.

Almacenamiento, envasado y transmisión de las muestras de laboratorio

Es importante que el transporte y el almacenamiento de las muestras sea adecuado, manteniendo correctas condiciones higiénicas, de temperatura, humedad, etc. Además, el tiempo durante el cual las muestras van a estar almacenadas antes de enviarse al laboratorio de destino debe ser el mínimo posible, con el fin de evitar recontaminaciones, contaminaciones cruzadas, etc.

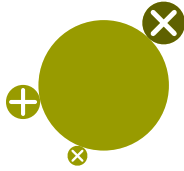
La muestra que finalmente se entrega al laboratorio se denomina **muestra de laboratorio** y adoptará la forma de la muestra final o de una porción representativa de esta última.

La muestra de laboratorio deberá conservarse de modo que se impida la alteración de la característica inspeccionada. Además, la muestra de laboratorio deberá mantenerse en un recipiente limpio e inerte que ofrezca una protección adecuada contra la contaminación externa y evite el deterioro de la muestra durante el tránsito. El recipiente debería luego precintarse de forma que se pueda detectar toda apertura no autorizada y enviarse al laboratorio lo antes posible, adoptando todas las precauciones necesarias para evitar derrames o el deterioro

Informes de muestreo

Toda operación de muestreo conlleva la redacción de un informe de muestreo en el que se indique, en particular, el motivo del muestreo, el origen de la muestra, el método de muestreo y la fecha y el lugar de este último, así como otro tipo de información que pueda resultar de ayuda para el analista, como la hora y las condiciones del transporte. Las muestras se identificarán de forma clara, en especial las destinadas al laboratorio.

En caso de cualquier desviación con respecto al procedimiento de muestreo recomendado (cuando haya habido que apartarse, por cualquier motivo, del método aconsejado), es necesario adjuntar al informe de muestreo otro informe detallado sobre el procedimiento modificado que, de hecho, se ha aplicado.



Toma de muestras para análisis microbiológicos

Aunque esta guía no ha contemplado los contaminantes microbiológicos, si parece oportuno que en este apartado se haga alguna alusión a la toma de muestras para realizar el análisis microbiológico.

En primer lugar, es importante que la toma de muestras no esté dirigida únicamente a recoger una pequeña porción de materia prima o agua para efectuar el análisis correspondiente. El objetivo de la toma de muestras debe ser suministrar información sobre las características microbianas del pienso y del agua, y mediante criterios previamente convenidos, nos ayude a la hora de proceder a la aceptación o rechazo de los lotes de materias primas.

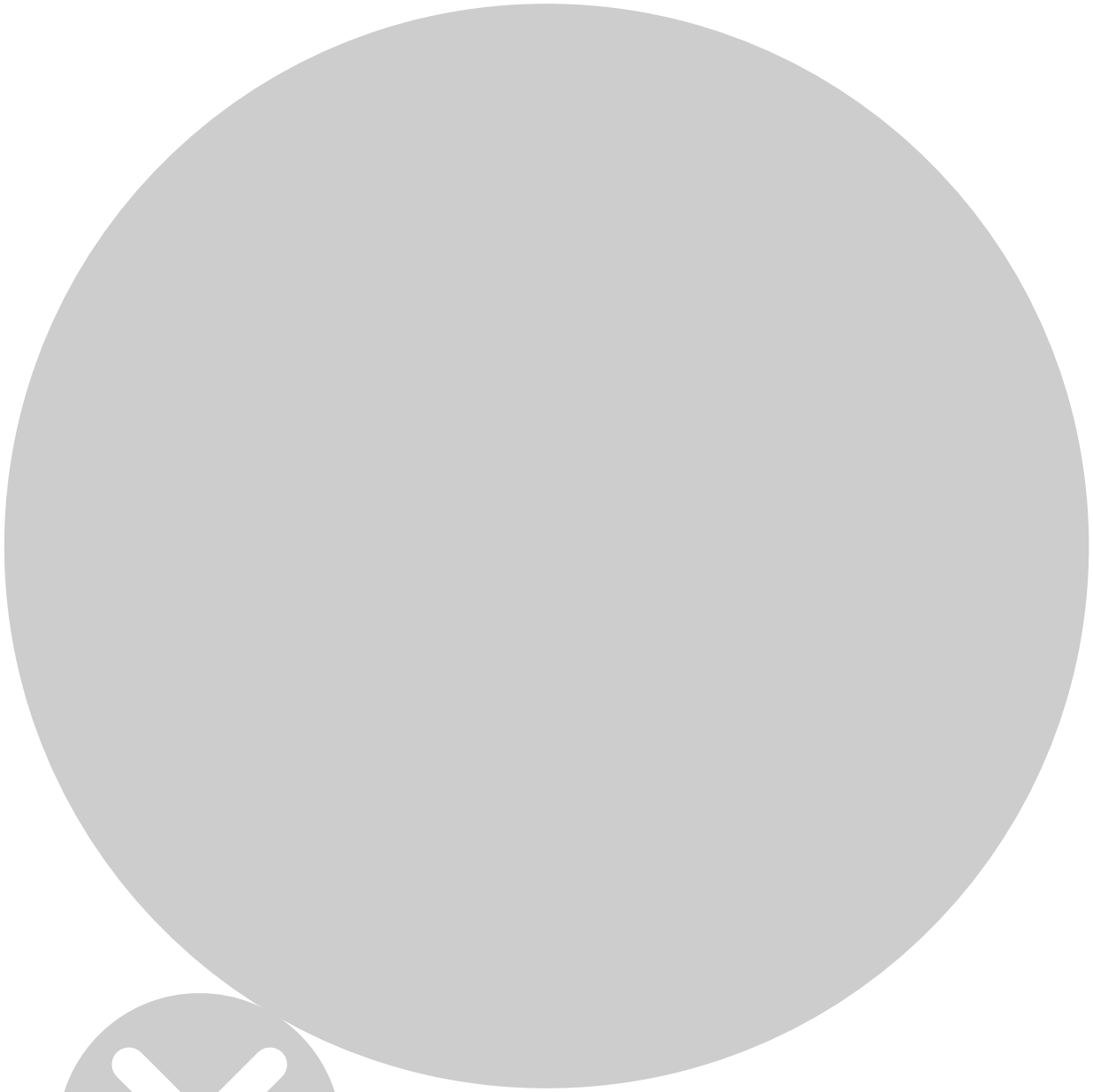
Además, los resultados analíticos nos deben servir para proporcionar información sobre si es necesario que los lotes sean sometidos a tratamientos específicos, almacenados en condiciones concretas o nos indiquen qué evaluaciones de riesgos sanitario o higiénico deben efectuarse.

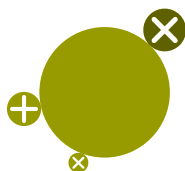
Por otro lado, la toma de muestras determinará los detalles del procedimiento, por ejemplo definirá el tamaño de la muestras, la frecuencia de muestreo, el punto de recogida, la hora de toma de muestras, etc.

Es necesario que el material de toma de muestras sea estéril y desechable (guantes, botas, cucharas, frascos, etc.) con el fin de evitar cualquier contaminación que pueda interferir en el resultado analítico y que dicha toma de muestras se realice en correctas condiciones higiénicas. También, cabe destacar que tanto el almacenamiento de las muestras como su transporte se deben llevar a cabo bajo condiciones higiénicas, de temperatura, humedad, etc., adecuadas.

4

**CLASIFICACIÓN DE LAS
SUSTANCIAS INDESABLES**





El Real Decreto 465/2003 establece en su anexo los diferentes límites máximos que se deben cumplir respecto a las sustancias indeseables. En esta normativa no se clasifican las sustancias indeseables por grupos, si bien en esta guía se han clasificado todas las sustancias indeseables por sus grupos, aunque luego se han explicado una a una cada sustancia indeseable. El objetivo de establecer grupos es que muchas sustancias indeseables comparten características similares con otras sustancias de su grupo y esto puede ayudar a la hora de realizar su estudio.

A continuación se establece la clasificación de las sustancias indeseables por grupos:

- **IONES Y ELEMENTOS.**
- **MICOTOXINAS.**
- **COMPONENTES ORGÁNICOS: Pesticidas y dioxinas.**
- **PLANTAS Y PRODUCTOS NATURALES DE PLANTAS.**

IONES Y ELEMENTOS

- Arsénico.
- Plomo.
- Flúor.
- Mercurio.
- Nitritos.
- Cadmio.

MICOTOXINAS

- Aflatoxina B1.
- Cornezuelo de centeno (*Claviceps purpurea*).

COMPONENTES ORGÁNICOS: PESTICIDAS Y DIOXINAS

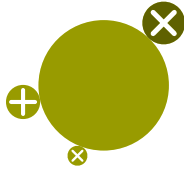
- Aldrín-Dieldrina.
- Canfecloro (toxafeno).
- Clordán (suma de los isómeros cis y trans y del oxiclordán, calculada en forma de clordán).
- DDT (suma de los isómeros de DDT, TDE y DDE, calculada en forma de DDT).
- Endosulfán (suma de los isómeros alfa- y beta y de sulfato de endosulfán) expresado como endosulfán.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

- Endrín (suma del endrín y deltacetoendrín, calculada en forma de endrín).
- Heptacloro (suma del heptacloro y del heptacloroepóxido, calculada en forma de heptacloro).
- Hexaclorobenceno (HCB).
- Hexaclorociclohexano (HCH). Isómeros alfa. Isómeros beta. Isómeros gamma.
- Dioxina (suma de policlorodi-benzo-para-**dioxinas** [PCDD] y policlorodibenzofuranos [PCDF] expresada en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud {EQT-OMS), utilizando los factores de equivalencia de tóxica de la misma organización (FET-OMS, 1997)).

PLANTAS Y PRODUCTOS NATURALES DE PLANTAS

- Ácido cianhídrico.
- Esencial volátil de mostaza.
- Gosipol libre.
- Teobromina.
- Viniltiooxazolidona. (Viniloxazolidina-tiona).
- Semillas de malas hierbas y frutos no molidos ni triturados que contengan alcaloides, glucósidos u otras sustancias tóxicas, por separado o en conjunto, a saber:
 - *Lolium temulentum* L.
 - *Lolium remotum* Schrank.
 - *Datura stramonium* L.
- Ricino *Rizinus communis* L.
- *Crotalaria* spp.
- Albaricoque-*Prunus armeniaca* L.
- Almendra amarga *Prunus dulcis*. (Mill.) D.A. Webb var. *amara*. (DC.) Focke [= *Prunus amygdalus* Batsch var. *amara* (DC.) Focke].
- Hayuco con cáscara *Fagus silvatica* (L).
- Camelina-*Camelina sativa* (L) Crantz.
- Mowrah, *Bassia*, *Madhuca* *Madhuca longifolia* (L) Macbr. (= *Bassia longifolia* L. = *Illipe malabarorum* Engl.) *Madhuca indica* Gmelin [= *Bassia latifolia* (Roxb.) = *Illipe latifolia* (Roscb.) F. Mueller].
- Frailejón-*Jatropha curcas* L.



- Crotón-*Croton tiglium* L.
- Mostaza india *Brassica juncea* (L.) Czern. Et Coss. ssp. *Integrifolia*(West.) Thell.
- Mostaza de Sarepta *Brassica juncea* (L) Czern. Et Coss. ssp. *juncea*.
- Mostaza china *Brassica juncea* (L) Czern et Coss. ssp. *Juncea* var: *Lutea* Batalin.
- Mostaza negra *Brassica nigra* (L) Koch.
- Mostaza de Abisinia (etíope) Senf *Brassica carinata* A. Brau.

Tras realizar esta clasificación se procede a la descripción de cada una de las sustancias siguiendo el siguiente esquema:

- Evaluación del riesgo.
- Marco legislativo.
- Método de muestreo específico.
- Método de análisis.
- Bibliografía.

IONES Y ELEMENTOS

La mayoría de elementos que clasificamos dentro de este grupo se consideran esenciales, aunque, en general, sus requerimientos son muy bajos (ultra nutrientes) ya que su presencia en el ambiente es ubicua por lo que las materias primas destinadas a la alimentación animal contienen cantidades suficientes para cubrir dichas necesidades. Sin embargo, como es el caso de la mayoría de oligoelementos, estos iones y elementos son sólo tolerados hasta ciertos límites por los animales y las personas. Por encima de estos límites, dichos elementos pueden producir intoxicaciones clínicas o subclínicas que dependerán en gran medida de la forma química (orgánica o inorgánica) del elemento.

El origen de estos iones y elementos puede ser geológico (características particulares de ciertos terrenos) o antropogénico (industrias de fundición) y en general se caracterizan por su distribución irregular. En consecuencia, su concentración en las materias primas destinadas a la alimentación animal es variable y puede exceder en algunos casos los niveles tolerables. Así, la toxicidad de estos elementos es más importante que las necesidades requeridas por los animales.

En este sentido, estos iones y elementos son considerados como sustancias indeseables en la alimentación animal no sólo por sus efectos tóxicos sobre los animales, sino también por ser

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

una posible vía de entrada en la cadena alimenticia, y fuente de exposición para los humanos, al ser consumidos y acumulados en los animales domésticos.

ARSÉNICO

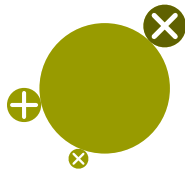
Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

El arsénico (As) es un elemento metaloide con diferentes valencias (-3, 0, + 3, +5) lo que resulta en una gran variedad de compuestos derivados con diferentes características químicas. Este elemento se puede encontrar en forma inorgánica (principalmente As_2O_3 en rocas ígneas y sedimentarias y minerales), así como orgánica (principalmente arsenobetaína, arsenocolina, sales tetrametilarsonio arsenoazúcares y lípidos en organismos marinos) que pueden diferir no sólo en sus propiedades físicas y químicas sino también en su presencia y toxicidad. Sin embargo, en general, las formas orgánicas presentan una toxicidad mucho menor respecto a las inorgánicas, por lo que los efectos potencialmente adversos del arsénico en la salud de los animales (y los humanos) vienen determinados por el contenido en fracción inorgánica en los piensos (o productos alimenticios). Así, si lo que se quiere determinar es el potencial tóxico para los animales los datos basados en arsénico total en las materias primas son difíciles de interpretar.

El arsénico es un elemento que puede estar presente en suelos, aguas subterráneas y vegetales debido a fuentes naturales o humanas. Las principales regiones con elevados índices geológicos de arsénico se encuentran en Asia. Por contra en Europa, los niveles de arsénico ambiental son bastante bajos, con la excepción de ciertas áreas geológicas o industriales. El agua de bebida también puede contener cantidades significativas de arsénico inorgánico por lo que se han establecido límites máximos en la mayoría de países europeos. Asimismo, y como ya se ha comentado, los organismos marinos acumulan arsénico, predominantemente en forma orgánica no-tóxica (arsenobetaína y arsenocolina).

Respecto a los efectos adversos en los animales, los principales signos clínicos que se observan en las intoxicaciones agudas por arsénico son intenso dolor abdominal, vómitos, diarrea profusa, colapso y muerte (Humphreys, 1988). Las dosis letales en los animales pueden variar entre 5-100 mg/kg peso corporal (p.c.) para el trióxido de arsénico y de 0,5-10 mg/kg de p.c. para el arseniato de sodio (Clarke y col, 1981), siendo los cerdos la especie más sensible.



Presencia de arsénico en materias primas destinadas a la alimentación animal

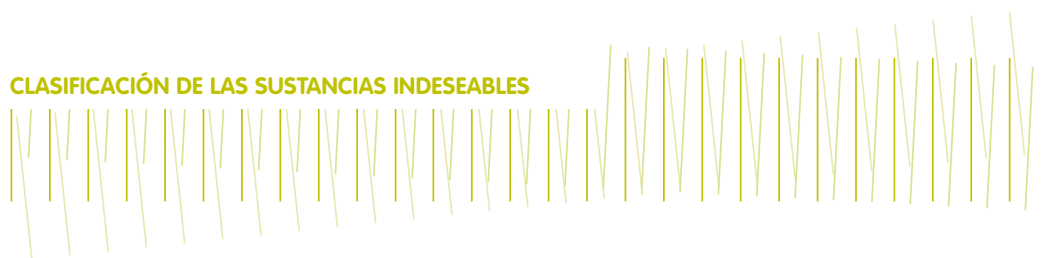
Respecto a la presencia de arsénico en materias primas destinadas a la alimentación animal, los niveles más elevados se encuentran en los productos derivados del pescado (harina y aceites de pescado, Tabla 1). Sin embargo, los niveles observados en estos productos se encuentran alrededor de los 2-20 mg As/kg MS (Underwood y Suttle, 1999), por lo que en general no suelen sobrepasar el máximo establecido en la legislación de 15 mg As/kg MS. Al contrario de otros elementos de este grupo, los suplementos minerales no son generalmente consideradas como fuentes importantes de arsénico.

Tabla 1. Concentraciones de arsénico total (mg/kg MS) en materias primas destinadas a la alimentación animal (EFSA, 2005).

| MATERIAS PRIMAS | MEDIA | DS | MEDIANA | MÍNIMO | MÁXIMO | N= |
|--|-------|------|---------|--------|--------|----|
| Harina de pescado | 4,7 | 3,17 | 4,21 | 0,11 | 16,3 | 95 |
| Aceite de pescado | 7,6 | 1,15 | 8,14 | 6,3 | 8,9 | 7 |
| Harina de semillas de leguminosas | 0,09 | 0,08 | 0,04 | 0,012 | 0,2 | 17 |
| Maíz y subproductos | 0,26 | 0,15 | 0,20 | 0,005 | 0,51 | 7 |
| Otros cereales y subproductos | 0,06 | 0,20 | 0,01 | 0,001 | 1,08 | 47 |
| Minerales y suplementos minerales (no especificados) | 6,8 | 3,44 | 3,05 | 0,01 | 15,7 | 42 |

Las concentraciones de arsénico en suelos son generalmente bajas. La mayoría de estudios sugieren concentraciones con rangos entre 0,1-40 mg/kg con una media de 6-10 mg/kg (Richardson, 1980; Archer y Hodgson, 1987), a excepción de ciertas áreas geológicas o industriales. Los animales en pasto pueden ingerir cantidades considerables de tierra, de manera que, en ciertas zonas en las que los índices de arsénico se encuentran más elevados, la tierra podría considerarse como un factor potencial de exposición para el ganado. Sin embargo, la disponibilidad oral del arsénico del suelo es considerablemente más baja en comparación a otras materias primas vegetales o animales, debido a la influencia de la composición química de los suelos, por lo que, en general se asume que el suelo contribuye poco a la exposición total de arsénico en los animales.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



La captación de arsénico del suelo por las plantas depende de varios factores, entre los que se incluyen la cantidad y tipo de arsénico soluble presente en el suelo, las propiedades del suelo (composición en otros elementos: fosfatos), condiciones redox y de pH, la actividad microbiológica y el tipo de planta. Sin embargo, en general se considera que la concentración en forrajes (Tabla 2) y cereales cultivados en suelos no contaminados es $<0,5$ mg/kg MS, por lo que se encontrarían por debajo de los 2 mg/kg establecidos en la legislación. A pesar de todo, algunos autores han observado niveles elevados de arsénico en cultivos próximos a áreas industriales (ADAS, 1991).

Tabla 2. Concentraciones (mg/kg MS) de arsénico total en forrajes (Nicholson y col., 1999).

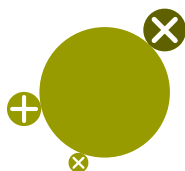
| FORRAJE | MEDIA | MÁXIMO | N= |
|----------------|-------|--------|----|
| Ensilado pasto | 0,12 | 0,44 | 28 |
| Heno | 0,05 | 0,10 | 2 |
| Ensilado maíz | 0,05 | 0,10 | 2 |
| Paja | 0,05 | 0,19 | 4 |

Repercusiones en la cadena alimentaria

En el caso de los humanos, la mayoría de estudios indican que la principal fuente de arsénico en la dieta son los productos derivados del pescado. En este sentido, se estima que los productos alimenticios de origen animal, con la excepción del pescado, sólo contribuyen en un 0,6% en la ingestión total de arsénico en la población debido a la baja presencia de residuos de este elemento ($<0,01$ mg/kg peso) en los tejidos animales (hígado, riñones y músculo).

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|-----------------------------------|--|--|
| Arsénico ⁽¹⁾ | Materias primas para la alimentación animal, excepto: | 2 |
| | — Harinas de hierbas, de alfalfa y de trébol deshidratado, así como pulpa desecada de remolacha azucarera y pulpa desecada con adición de melazas de remolacha azucarera | 4 |
| | Harina de palmiste obtenida por presión | 4 ⁽²⁾ |
| | Fosfatos y harina de algas marinas calcáreas | 10 |
| | Carbonato cálcico | 15 |
| | Óxido de magnesio | 20 |
| | Piensos procedentes de la transformación de pescados u otros animales marinos | 15 ⁽²⁾ |
| | Harina de algas marinas y materias primas procedentes de algas marinas | 40 ⁽²⁾ |
| | Piensos completos, excepto: | 2 |
| | — Piensos completos para peces y piensos completos para animales de piel | 6 ⁽²⁾ |
| Piensos complementarios, excepto: | | 4 |
| | — Piensos minerales | 12 |

⁽¹⁾ Los niveles máximos se refieren al arsénico total.

⁽²⁾ A petición de las autoridades competentes, el operador responsable debe efectuar un análisis para demostrar que el contenido de arsénico inorgánico es inferior a 2ppm. Dicho análisis es especialmente importante en el caso de las algas de la especie *Hizikia fusiforme*.

Método de muestreo

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Para la determinación del arsénico en grasas y aceites se utilizan AOAC 942.17 y el AOAC 985.16. También es posible utilizar el método de la AOAC 952.13 y el UIQPA 3.136.

Método de análisis

Método no oficial

El método de análisis más común para la determinación del arsénico es la espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) o bien el método de espectrofotometría de absorción atómica mediante la generación del hidruros (HGAAS) (No oficial: AOAC 986.15 17ª Ed.)

El principio del método de espectrofotometría de absorción atómica se basa en la digestión de las muestras en vaso cerrado en el microondas al que se le añade una mezcla de ácido ní-

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

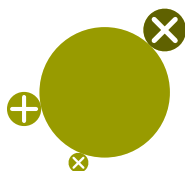
trico y peróxido de hidrógeno. La solución resultante se diluye con agua, y el total del arsénico se determina mediante una matriz modificada y el proceso estándar de adición.

El principio del método HGAAS está basado en la destrucción de la muestra por cualquiera de los métodos de combustión o previa digestión por presión para la determinación de los elementos en la solución chequeada por espectrofotometría de absorción atómica con generación de hidruros. Previo al paso final de la determinación, los iones de arsénico son reducidos a arsina por el borohidruro de sodio en solución ácida.

Otros técnicas utilizadas para el análisis del arsénico son la espectrofotometría de emisión atómica de plasma acoplado inductivo (ICP-AES) y el ICP-espectrofotometría de masas (ICP-MS), ambos métodos pueden generalmente suministrar bajos límites de detección con respecto a los métodos de detección por absorción. La generación de hidruros combinada con la espectroscopia fluorescente atómica (HG/AFS) es otra nueva técnica con un bajo límite de detección y amplio rango lineal.

Bibliografía

- ADAS, 1991. The concentration of some potentially toxic minerals in animals feeds. ADAS Nutrition Chemistry Technical Note 91/10.
- ADAS, Wolverhampton UK.
- Archer, F.C. and Hodgson, I.H. 1987. Total and extractable trace-element contents of soils in England and Wales. *J Soil Sci* 38 (3): 421-431.
- Clarke, M.L., Hervey, D.G. and Humphreys, D.J. 1981. *Veterinary Toxicology* 2ª edición, ed. London: Bailliere Tindal, pp. 29-34.
- Humphreys, D.J. 1988. Mineral or inorganic substances. En: *Veterinary toxicology*, 3ª ed. Bailliere Tindall, p. 19-20.
- Nicholson, F.A., Chamber, B.J., Williams, J.R., and Unwin, R.J. 1999. Heavy metal contents of livestock feeds and manures in England and Wales. *Bioresource Technology* 70: 23-31.
- Richardson, J.S. 1980. Composition of soils and crops following treatment with sewage sludge. En *inorganic pollution and agriculture*, MAFF Reference Book 326, HMSO, London, pp 252-278.
- Underwood, E. and Suttle, N. 1999. *The mineral nutrition of livestock*. 3ª Ed. CABI Publ., Wallingford.



CADMIO

Evaluación del riesgo

Descripción del elemento y efectos perjudiciales

El cadmio (Cd) se encuentra naturalmente en el ambiente en forma inorgánica como resultado de emisiones volcánicas y rocas sedimentarias. Asimismo, el cadmio también puede liberarse a través de aguas residuales, residuos de incineración, mientras que la contaminación difusa en suelos agrícolas es debida a la utilización de fertilizantes (fosfatados). En este sentido, las fuentes antropogénicas han incrementado las reservas de cadmio en el suelo, agua y organismos vivos.

Incrementos de niveles de cadmio en el suelo dan lugar a un aumento en la absorción de cadmio por las plantas (Lund y col., 1981; Van Bruwaene y col., 1981). La magnitud de este fenómeno depende del pH del suelo, la especie de planta y la parte de la planta (Sillanpaa y Jansson, 1993; Eriksson, 2000).

El cadmio produce una gran variedad de efectos tóxicos en los animales y las personas, entre los que se incluyen: nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, osteoporosis, neurotoxicidad, carcinogénesis, genotoxicidad, teratogenia, problemas endocrinos y reproductivos. Aunque el cadmio es tóxico para todas las especies animales, los cerdos parecen ser la especie más sensible. Los niveles mínimos tóxicos o la máxima concentración no tóxica en los animales no se pueden estimar con precisión, debido a que la deposición del cadmio está influenciada de forma importante por las interacciones con otros oligoelementos (principalmente cobre y zinc) presentes en los alimentos. Sin embargo, en general, no es probable que aparezca ninguna sintomatología si la concentración de cadmio en la ración no supera 1 mg/kg en el pienso.

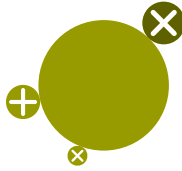
Presencia de cadmio en materias primas destinadas a la alimentación animal

El cadmio es un contaminante habitual de productos alimenticios y pienso, debido a su presencia ubicua en el ambiente. Concentraciones elevadas de cadmio en materias primas de origen vegetal pueden deberse a elevados niveles de cadmio en suelos, deposición atmosférica de cadmio, y la aplicación de aguas residuales o fertilizantes fosfatados con elevadas cantidades de cadmio en los cultivos. En la Tabla I se muestra el contenido en cadmio de diferentes materias primas según los informes presentados por varios países de la UE.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

| MATERIAS PRIMAS | MEDIA | DS | MEDIANA | MÍNIMO | MÁXIMO | N= |
|---|-------|------|---------|----------------|--------|------|
| Cebada grano | 0,11 | 0,12 | 0,08 | 0,02 | 0,29 | 6 |
| Maíz y subproductos | 0,06 | 0,14 | 0,01 | 0,01 | 0,52 | 29 |
| Trigo y subproductos | 0,19 | 0,19 | 0,13 | 0,05 | 0,75 | 27 |
| Harina de soja | 0,07 | 0,06 | 0,03 | 0,01 | 0,20 | 17 |
| Harina de girasol | 0,41 | 0,42 | 0,27 | 0,05 | 1,80 | 32 |
| Harina de colza, extraída | 0,15 | 0,16 | 0,10 | 0,02 | 0,50 | 20 |
| Harina de pescado | 0,40 | 0,37 | 0,21 | 0,04 | 1,4 | 44 |
| Pulpa de cítricos | 0,19 | 0,22 | 0,10 | 0,02 | 0,50 | 10 |
| Forrajes | | | | | | |
| Pasto/Hierba | 0,62 | | | | | 1217 |
| Heno | 0,73 | | | | | 950 |
| Ensilado pasto | 0,09 | | | NO DETERMINADO | | 244 |
| Ensilado de maíz | 0,28 | | | | | 345 |
| Todos los forrajes (incluyendo forrajes no indicados en las categorías mencionadas) | 0,32 | | | | | 2761 |

Según los datos que se muestran en la Tabla 1, las concentraciones de cadmio en los forrajes son en general más elevadas respecto a las materias primas concentradas. Puesto que la concentración en los forrajes cultivados en suelos no contaminados es normalmente baja (1 mg Cd/kg MS), los altos niveles observados en algunas muestras puede reflejar la presencia de grandes cantidades de cadmio en el suelo en el que fueron cultivados mediante adición de fertilizantes superfosfatados o aguas residuales (McBride, 1998). Algunos autores como Richardson (1980) han observado niveles de más de 2,3 mg/kg de MS en forrajes tras la aplicación de aguas residuales en el suelo, mientras que en otros estudios detectaron hasta 15,9 mg/kg de MS en pastos cercanos a una planta industrial de fundición de hierro.



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



Respecto al contenido de cadmio en suplementos minerales, en muestras tomadas en diferentes Estados miembros se observaron niveles alrededor de 0,58 mg/kg de MS con rangos entre < 0,01 hasta 2,34 mg/kg de MS (EFSA, 2004). Sin embargo, el significado de elevados niveles en términos de exposición al ganado es difícil de establecer; debido a que estos productos se incluyen en la dieta en concentraciones variables.

Repercusiones en la cadena alimentaria

En el caso de los humanos, la exposición al cadmio se debe principalmente a la alimentación, aunque el papel de los productos alimenticios de origen animal se considera de poca importancia debido a la baja deposición del cadmio en los tejidos blandos, la leche o los huevos.

En este sentido, la acumulación de cadmio en los tejidos animales depende de la concentración dietaria, la especie animal, edad y estado nutricional del animal, y especialmente del tiempo y la frecuencia de exposición. En este sentido, la corta duración de la vida productiva de animales de engorde como el cerdo y el pollo, ambos contribuyendo en gran medida a la nutrición humana, minimiza el riesgo de concentraciones elevadas de cadmio en los tejidos comestibles de estos animales, siendo los riñones y, en menor concentración, el hígado los que contendrían niveles más elevados. Así, el consumo frecuente de vísceras como el riñón o el hígado de animales de desvieje (bovino y caballos), podría contribuir de forma más importante en la exposición de la dieta de los humanos.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

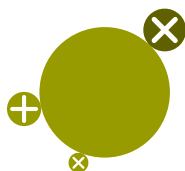
| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|--|
| Cadmio ⁽¹⁾ | Materias primas para la alimentación animal de origen vegetal | 1 |
| | Materias primas para la alimentación animal de origen diverso | 2 |
| | Materias primas para la alimentación animal de origen mineral, excepto: | 2 |
| | – Fosfatos | 10 |
| | Aditivos pertenecientes al grupo funcional de los compuestos de oligoelementos | 30 ⁽²⁾ |
| | – Óxido cúprico, óxido manganoso, óxido de cinc y sulfato manganoso monohidratado | 2 |
| | Premezclas | 15 ⁽²⁾ |
| | Piensos minerales: | 5 |
| | – Con < 7% de fósforo | 0,75 por 1% de fósforo |
| | – Con ≥ 7% de fósforo | con un máximo de 7,5 |
| | Piensos complementarios para animales de compañía | 2 |
| | Otros piensos complementarios | 0,5 |
| Piensos completos para bovinos, ovinos y caprinos, y piensos para peces excepto: | 1 | |
| – Piensos completos para animales de compañía | 2 | |
| – Piensos completos para terneros, corderos y cabritos, y otros piensos completos | 0,5 | |

⁽¹⁾ Los niveles máximos se refieren a una determinación analítica del cadmio en la que la extracción se lleva a cabo en ácido nítrico (5% p/p) durante 30 minutos a punto de ebullición. Pueden aplicarse procedimientos de extracción equivalentes siempre que esté demostrada una eficacia de extracción semejante.

⁽²⁾ A más tardar el 31 de diciembre de 2007 se revisarán los niveles a fin de reducir los niveles máximos.

Método de muestreo

En el Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios, podemos encontrar pautas para aplicar un método de muestreo que nos ayude a determinar el cadmio. Además, hay que



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



tener en cuenta las modificaciones de esta normativa como puede ser la Orden SCO/3427/2005, de 25 de octubre, por la que se modifican los anexos del Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios.

Métodos de análisis

Método no oficial

El método más común para la determinación del cadmio es la espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) (No oficial: AOAC 999.10 17a Ed.). Se basa en la digestión de la muestra en microondas con medio ácido y peróxido de hidrógeno. La solución obtenida se diluye en agua y la concentración de cadmio se obtiene a partir de la absorbancia de este elemento a su longitud de onda específica en un espectrofotómetro de absorción atómica con cámara de grafito, y las calibraciones con soluciones patrón.

Una alternativa a este método es un proceso de digestión por presión previo a la absorción atómica.

Bibliografía

- AOAC 1995. Association of Analytical Communities. Guidelines for the AOAC Official Methods Program, J. AOAC Int. 78(5), 143A-160A. AOAC International.
- EFSA 2004. The EFSA Journal. 2004. 72, 1-24.
- Eriksson, J. 2000. Critical load set to “ No further increase in Cd content of agricultural soils”- consequences. Proceedings from Ad hoc international expert group on effect-based critical limits for heavy metals, 11-13 Octubre 2000, Soil Science and Conservation Research Institute, Bratislava, Slovak Republic, pp. 54-58.
- Lund, L.J., Betty, E.E., Page, A.L. and Elliott, R.A. 1981. Occurrence of naturally high cadmium levels in soils and its accumulation by vegetation. J. Environ. Qual. 10, 551-556.
- McBride, M.B. 1998. Growing food crops on sledge-amended soils: problems with the U.S. Environmental Protection Agency method of estimating toxic metal transfer. Environ. Toxicol. Chem. 17, 2274-2281.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



- Sillanpaa M. and Jansson H. 1993. Status of Cadmium, Lead, Cobalt and Selenium in Soils and Plants of Thirsty Countries. Food and Agriculture Org. (May 1993).
- Van Bruwaene, R., Gerber, G.B., Kirchmann, R. And Colard, J. 1984. Cadmium concentration in agriculture and zootechnology. *Experientia*. 40, 43-50.

FLÚOR

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

El flúor (F) es uno de los elementos más abundantes de la naturaleza principalmente en forma de sales (fluoruro de calcio y sodio-aluminio) en los suelos. Otras fuentes potenciales incluyen las aguas subterráneas y el suelo volcánico. Asimismo, el flúor en forma de ácido fluorhídrico (HF), tetrafluoruro de silicón (SiF_4) y los fluoruros pueden liberarse desde áreas industriales asociadas con el procesado de aluminio o fosfatos, así como la producción de acero y vidrio, contaminando aguas, suelos y plantas en zonas circundantes.

La concentración media de fluoruros en el suelo es aproximadamente 300 mg/kg, aunque dicha concentración puede variar considerablemente según las condiciones geográficas y la contaminación industrial. Los fluoruros absorbidos por las plantas se retienen básicamente en las raíces y no se distribuye en cantidades significativas a otras partes de la misma. En este sentido, el índice de acumulación relativa de flúor en los vegetales varía de 0,0001 a 0,1 dependiendo de la concentración de fluoruros en el suelo (Geeson y col., 1998).

El flúor se considera un elemento esencial en la mayoría de especies animales ya que se ha observado que dietas con bajos niveles pueden desencadenar retraso en el crecimiento y problemas de fertilidad (Anke 1998, 2001). Sin embargo, niveles elevados de este elemento también pueden provocar una intoxicación con signos clínicos como deformaciones del esqueleto (y dentales), así como déficit neurológico y problemas reproductivos y respiratorios (WHO, 2002). Entre los animales domésticos, parece que los rumiantes sería la especie más afectada aunque algunos autores sugieren que no se trata de una mayor sensibilidad al flúor sino a un problema de mayor exposición por el tipo de alimentación de estos animales (pastoreo y consumo de elevados niveles de minerales). En la Tabla 1 se muestran los niveles tóxicos de flúor en las diferentes especies animales según los resultados de varios estudios.

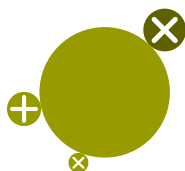


Tabla 1. Niveles tóxicos de flúor en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2004).

| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS (MG/KG DIETA) |
|--|-------------------------------|
| Rumiantes: – vacas lecheras – ovejas | 150 200 |
| Porcino | > 100 |
| Pollos | 1000 (NaF) |
| Conejos | 10 (NaF) |
| Pescado | >2500 |

Presencia de flúor en las materias primas destinadas a la alimentación animal

Aunque no se disponen de muchos datos respecto a la presencia de flúor en materias primas destinadas a la alimentación animal (Tabla 2), en general, los datos publicados a nivel de la UE estiman que habitualmente no se exceden los valores permitidos en la legislación, salvo aquellos casos en los que ha existido una contaminación por humos o polvo de industrias cercanas o por irrigación con aguas ricas en flúor.

Tabla 2. Concentraciones de flúor (mg/kg MS) en materias primas destinadas a alimentación animal.

| MATERIAS PRIMAS | MEDIA | DS | MEDIANA | MÍNIMO | MÁXIMO | N= |
|------------------------------------|-------|-------|---------|--------|--------|-----|
| Harina de pescado | 159 | 57,7 | 164 | 109 | 250 | 5 |
| Harina de carne y hueso | 180 | 23,5 | 178 | 132 | 201 | 7 |
| Harina de palmiste expeller | 46 | | | | | 1 |
| Harina de colza | 10 | 0,8 | 10 | 8,6 | 10,3 | 5 |
| Harina de soja | 11 | 2,4 | 12 | 5 | 12 | 7 |
| Pulpa de remolacha (fresca y seca) | 244 | 145,3 | 261 | 6 | 588 | 192 |

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

En general, podríamos decir que la principal vía de entrada de flúor en la alimentación animal es por la utilización de suplementos de fosfatos ricos en flúor; aunque los niveles observados pueden variar en gran medida según el origen del mineral.

La concentración de fluoruros en pastos y forrajes es en general baja por lo que, en los animales de pasto, el riesgo potencial de intoxicación por flúor sería principalmente debido a la ingestión no intencionada de tierra. Algunos estudios estiman que los pastos localizados en áreas no contaminadas normalmente contienen entre 5-16 mg flúor/kg MS (Allcroft y col., 1965), mientras que las concentraciones en cereales y subproductos de cereales son generalmente < 3mg/kg MS (US-NRC, 1980).

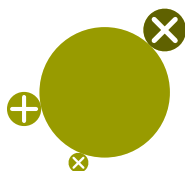
En los mamíferos, el flúor se acumula en huesos y dientes (Patra y col., 2000) de manera proporcional a la concentración del flúor en la dieta, mientras que en los tejidos blandos la concentración de flúor es muy baja (generalmente < 2,5 mg/kg peso húmedo) aún cuando los niveles de ingestión han sido elevados (Puls, 1994). En el caso de los peces, el flúor también se acumula en el esqueleto. En este sentido, no es de extrañar que se observen concentraciones elevadas de flúor en las harinas de pescado y de carne y huesos (Tabla 2).

Repercusión en la cadena alimentaria

En el caso de los humanos, la mayoría de estudios sugieren que la principal fuente de flúor en la dieta es el agua de bebida, aunque en la Europa continental las concentraciones de flúor en el agua se encuentran generalmente por debajo de 3 mg F/L. Por este motivo, en algunos países europeos se ha llegado a añadir flúor en el agua de bebida para mejorar la protección de la población frente a los problemas de la caries dental. Entre los productos alimenticios las concentraciones más elevadas se han encontrado en pescado (0,06-4,57 mg F/kg; Dubeka y McKenzie, 1995) y algunos vegetales, mientras que los alimentos de origen animal (incluyendo la leche y los huevos) contienen en general niveles bajos.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|--|--|
| Flúor ⁽¹⁾ | Materias primas para la alimentación animal, excepto: | 150 |
| | – Piensos de origen animal, salvo crustáceos como el krill | 500 |
| | – Crustáceos marinos como el krill | 3.000 |
| | – Fosfatos | 2.000 |
| | – Carbonato cálcico | 350 |
| | – Óxido de magnesio | 600 |
| | – Algas marinas calcáreas | 1.000 |
| | Vermiculita (E 561) | 3.000 ⁽²⁾ |
| | Piensos complementarios | |
| | – Con ≤ 4% de fósforo | 500 |
| | – Con > 4% de fósforo | 125 por 1% de fósforo |
| | Piensos completos, excepto: | 150 |
| | – Piensos completos para bovinos, ovinos y caprinos: | |
| | – Lactantes | 30 |
| – Otros | 50 | |
| – Piensos completos para cerdos | 100 | |
| – Piensos completos para aves de corral | 350 | |
| – Piensos completos para pollitos | 250 | |

⁽¹⁾ Los niveles máximos se refieren a una determinación analítica del flúor en la que la extracción se lleva a cabo en ácido clorhídrico 1N durante 20 minutos a temperatura ambiente. Pueden aplicarse procedimientos de extracción equivalentes siempre que esté demostrada una eficacia de extracción semejante.

⁽²⁾ A más tardar el 31 de diciembre de 2007 se reavisarán los niveles a fin de reducir los niveles máximos.

Método de muestreo

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales

Método de análisis

Método no oficial

Para la determinación del flúor se utiliza el método del electrodo de ión selectivo que se basa en la medida del potencial de una solución que contiene iones de fluoruro (No oficial: AOAC 975.08 17ª Ed.). Bajo esta misma referencia existe un método alternativo por destilación AOAC 944.08. La muestra se disuelve con ácido clorhídrico y se diluye con una solución de electrolito tamponado. En esta solución se sumerge el electrodo específico para fluoruro y uno de referencia, creándose una corriente eléctrica entre la muestra y la solución interna del electrodo de ión selectivo cuyo potencial será la medida de la concentración de fluoruro, las lecturas se toman en milivoltios.

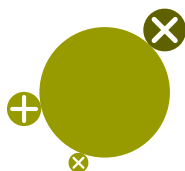
CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Otro método para la determinación de elementos traza de flúor en medio biológico es la cromatografía de gases (GC). Además, también se pueden utilizar los métodos de colorimetría, que consiste en la reacción del flúor presente en la muestra previamente acidificada con nitrato de thorio, para formar un complejo que se colorea con el indicador rojo de alizarina; luego, la determinación se realiza por comparación del color obtenido en la muestra frente a un estándar de flúor de concentración conocida. Pero esta técnica semicuantitativa tarda más tiempo y tienen menos sensibilidad.

Métodos alternativos que se utilizan para la determinación del flúor incluyen análisis por fluorometría, análisis enzimático y análisis de protones activados. Esta última técnica es sensible a las trazas que puedan existir en la muestra y requiere una mínima preparación de la muestra. El método más preciso de preparación de muestras es la técnica de microdifusión, tal con el ácido-hexametildisiloxano (HMDS). Estos métodos permiten la liberación de flúor desde matrices orgánica e inorgánicas.

Bibliografía

- Allcroft, R., Burns, K.N. and Hebert, C.N. 1965. Fluorosis in cattle 2. Development and alleviation experimental studies. En: Animal Disease Surverys Report 2(2): 58 pp. HMSO Londres.
- Anke, M., Dorn, W., Gunstenheimer, G., Arnold, W., Gleis, M., Anke, S. and Lösch, E. 1998. Effect of trace and ultratrace elements on the reproduction performance of ruminants. Vet. Med.-Czech 43, 272-282.
- Anke, M., Arnold, W., Angelov, L., Lösch, E., Anmke, S. and Müller, L. 2001. Essentiality of arsenic, bromine, fluorine and titanium for animal and man. En: Ermidou-Poullet, S., and Poullet, S (eds). 3rd International Symposium on Trace Elements in Humans: New Perspectives, pp. 204-228. Athens, Greece.
- Dubeka, R.W. and McKenzie, A.D. 1995. Survey of lead, cadmium, fluoride, nickel, and cobalt in food composites and estimation of dietary intakes of these elements by Canadians in 1986-1988. J Assoc Off Anal Chem Int, 78: 897-909.
- EFSA, 2004. The EFSA Journal (2004) 100, 1-22.
- Geeson, N.A., Abrahams, P.W., Murphy, M. And Thornton, I. 1998. Fluorine and metal enrichment of soils and pasture herbage in the old mining areas of Derbyshire, UK Agriculture, Ecosystems and Environment, Volume 68, Issue 3, April 1998, Pages 217-231.



- Patra, R.C., Dwivedi, S.K., Bhardwaj, B. and Swarup, D. 2000. Industrial fluorosis in cattle and buffalo around Udaipur, India. *Sci.Total Environ.* 15;253(1-3):145-50.
- Puls, R., 1994. Mineral levels in animal health. Diagnostic data. Sherpa International, Clearbrook, B.C., Canada.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- US-NRC (USA National Research Council) 1980. Mineral Tolerance of Domestic Animals. Subcommittee on mineral toxicity in animals. National Academy of Science, Washington, D.C. National Academies Press. <http://books.nap.edu/books/0309030226/html/R1.html>.
- WHO (World Health Organization) 2002. Fluorides. *Environmental Health Criteria*; 227. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

MERCURIO

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

El mercurio (Hg) es un elemento que se encuentra de forma natural en el medio ambiente en forma inorgánica (metálica, monovalente y divalente) y orgánica (arilo y cadenas cortas alquilo). Asimismo, su utilización en varios procesos industriales, tanto en su forma orgánica como inorgánica, se ha traducido en un incremento en su concentración en suelos (<0,2 mg/kg), atmósfera (<0,001 ug/m³) y especialmente en el agua (<0,5 ug/L). La absorción por las plantas a través del suelo es baja por lo que las concentraciones en pastos y cultivos es también baja (<0,1 mg/kg MS). En general, las formas inorgánicas del mercurio son menos tóxicas en comparación con las orgánicas, aunque estas pueden ser convertidas en orgánicas por la microflora y microfauna presente en el ambiente (Jornnalagada y Prasad-Rao, 1993). Entre las formas orgánicas, la más tóxica es el metilmercurio.

Todas las especies animales son susceptibles a la intoxicación por mercurio vía ingestión de alimentos. El mercurio orgánico se absorbe directamente en el tracto gastrointestinal (más de un 80% en animales monogástricos) y puede atravesar otras barreras como la sangre/cerebro, la placenta y los oviductos, acumulándose preferiblemente en el sistema nervioso central. La forma inorgánica, por el contrario, tiene un nivel de absorción muy bajo (<10%) y se almacena principalmente en el hígado. Los síntomas clínicos que se pueden observar en los animales que han sufrido intoxicación por mercurio son: inapetencia, anorexia, ataxia,



hígado graso, necrosis tracto gastrointestinal, nefrosis, disminución de la fertilidad, entre otros, aunque la tolerancia a la intoxicación por mercurio varía según la especie animal. A esta larga lista también cabe añadir que el mercurio se considera teratogénico y carcinogénico en los mamíferos. Los cerdos se consideran la especie más sensible, con una tolerancia de menos de 0,5 mg mercurio orgánico/kg pienso, seguidos de las aves (2 mg mercurio orgánico/kg pienso), los rumiantes (5 mg mercurio orgánico/kg pienso) y los peces (5 mg mercurio orgánico/kg pienso). La tolerancia a niveles de mercurio inorgánico se considera más elevada.

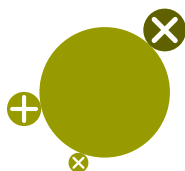
Presencia de mercurio en materias primas destinadas a la alimentación animal

Debido a la baja absorción del mercurio por parte de las plantas, la mayoría de materias primas de origen vegetal utilizadas habitualmente para la alimentación de los animales de producción contienen bajos niveles de mercurio. Los rangos normales de contaminación observados en dichas materias primas se sitúan entre 0,001 y 0,03 mg mercurio/kg MS (Dudka y Miller, 1999).

Por todo ello, la exposición de los animales al mercurio suele deberse al consumo de harinas de pescado y productos derivados. En este sentido, los peces que se alimentan de plácton (ej. sardinas) suelen presentar concentraciones totales de mercurio de < 0,1 mg/kg de peso neto muscular, siendo aproximadamente el 80% en forma de metilmercurio (Bloom, 1992). Por contra, en peces considerados depredadores (ej. atún, tiburón) el mercurio se concentra en cantidades más elevadas que pueden llegar a ser de 0,5-1 mg/kg peso neto muscular (Clarkson, 1993). En el caso de los peces de piscifactoría, los niveles observados suelen ser de 0,008 a 0,052 mg/kg de filete (Santerre y col., 2001).

Repercusiones en la cadena alimentaria

En ausencia de una exposición ocupacional, la alimentación es la principal vía de intoxicación por mercurio en las personas. En este sentido, el metilmercurio presente en el pescado y en los productos derivados representa el 85% del mercurio total ingerido a través de la dieta. Por contra, y debido a la baja concentración de mercurio en pastos y cultivos, el contenido en mercurio en los tejidos de los animales de producción es bastante bajo (en mg/kg de producto fresco: carne: 0,001; hígado: 0,006-0,010; riñón: 0,023-0,045; pollo: 0,010; leche: 0,010; huevos: 0,005; Weigert, 1988), por lo que su papel en la introducción de este elemento en la cadena alimentaria se considera de poca relevancia.



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|--|--|
| Mercurio | Materias primas para la alimentación animal, excepto: | |
| | – Piensos producidos mediante la transformación de pescados u otros animales marinos | 0'1 |
| | – Carbonato cálcico | 0'5 |
| | Piensos completos, excepto: | 0,3 |
| | – Piensos completos para perros y gatos | 0'1 |
| Piensos complementarios, excepto: | 0'4 | |
| – Piensos complementarios para perros y gatos | 0'2 | |

Método de muestreo

En el caso concreto del muestreo de mercurio en pescado y productos pesqueros se utiliza el método de la AOAC 977.15.

Además, en el Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios, podemos encontrar pautas para determinar el método de muestreo del mercurio. Además, hay que tener en cuenta las modificaciones de esta normativa como puede ser la Orden SCO/3427/2005, de 25 de octubre, por la que se modifican los anexos del Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios.

Método de análisis

Método no oficial

El método más común para la determinación del mercurio es la espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) (No oficial: AOAC 999.10 17a Ed.). Se basa en la digestión de la muestra en microondas con medio ácido y peróxido de hidrógeno. La solución obtenida se diluye en agua y la concentración de mercurio se obtiene a partir de la absorbancia de cada

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

elemento a su longitud de onda específica en un espectrofotómetro de absorción atómica con cámara de grafito, y las calibraciones con soluciones patrón.

Una alternativa a este método es un proceso de digestión en medio ácido en vasija cerrada en microondas y se obtiene el contenido en Mercurio por Absorción Atómica mediante la técnica de vapor frío.

Bibliografía

- Bloom, N.S. 1992. On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 49, 1010-7.
- Clarkson, T.W. 1993. Mercury – major issues in environmental-health. *Environ. Health Pers.* 100, 31-8.
- Dudka, S., Miller, P. 1999. Accumulation of potentially toxic elements in plants and their transfer to the human food chain. *J. Environ. Sci. Health B* 34, 681-708.
- Jonnalagada, S.B., Prasada-Rao, P.V.V. 1993. Toxicity, bioavailability and metal speciation. *Comp. Biochem. Physiol.* 106C, 585-95.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- Santerre, C.R., Bush, P.B., Xu, D.H., Lewis, G.W., Davis, J.T., Grodner, R.M., Ingram, R., Wei, C.I., Hinshaw, J.M. 2001. Metal residues in farm-raised channel catfish, rainbow trout, and red swamp crayfish from the Southern U.S. *Journal of Food Science*, 66, 270-273.

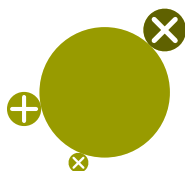
NITRITOS

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

Los nitritos se forman en la naturaleza por la acción de las bacterias nitrificadoras como un estadio intermedio en la formación de nitratos. Del mismo modo, también puede darse en la naturaleza la conversión microbiológica de nitratos a nitritos, por ejemplo en el tracto digestivo de los animales (Spiegelhalter y col., 1976). En cuanto a las fuentes antropogénicas de nitritos y nitratos, se destacan el uso de fertilizantes nitrogenados así como también de los residuos municipales, industriales y animales.

El nitrógeno en forma de nitratos es un componente normal y de importancia en el metabolismo de las plantas mayores, particularmente en cultivos de secano. En la mayoría de los



casos es uno de los factores más frecuentemente limitante para el crecimiento vegetal. Por todo ello, en condiciones normales es asimilado tan rápidamente que su concentración en los tejidos vegetales es mínima.

En los animales monogástricos, la mayor parte de los nitritos son absorbidos en el tracto digestivo superior. Las fracciones no absorbidas son metabolizadas por la microflora intestinal a nitratos y otros compuestos nitrogenados como las nitrosaminas. Por contra, en los rumiantes, la flora ruminal es capaz de reducir los nitritos/nitratos a amoníaco.

La formación de metahemoglobina, particularmente en los animales jóvenes, parece ser la principal causa de intoxicación por ingestión de nitritos en los animales. Sin embargo, este efecto sólo se observa cuando los niveles de nitritos/nitratos son sustancialmente más elevados respecto a los permitidos legalmente, tanto en agua como en materias primas destinadas a alimentación animal. Respecto a la sintomatología clínica que se observa en los animales, esta normalmente se asocia a problemas respiratorios, incoordinación, temblores,... y, en casos de intoxicación muy severa, muerte del animal en pocas horas. En la Tabla I se muestran las dosis tóxicas de los nitritos/nitratos en los cerdos.

Tabla I. Dosis tóxicas de los nitratos-nitritos en cerdos expresados en mg/l o mg/kg de pienso (Wolter, 1982).

| | AGUA DE BEBIDA | PIENSO | |
|------------|----------------|----------|----------|
| | NITRATOS | NITRATOS | NITRITOS |
| Tolerancia | 1300 | 3000 | 1000 |
| Toxicidad | — | 30.000 | 1000 |

Presencia de nitritos en materias primas destinadas a la alimentación animal

El análisis de nitritos no ha sido una prioridad en los últimos años en el sector europeo de alimentación animal por lo que no existen muchos datos al respecto. Sin embargo, y aunque los niveles normalmente observados en los vegetales son bajos, se debe tener en cuenta que, en algunos casos, se podría producir una acumulación de nitratos en la planta como resultado de un desbalance entre la tasa de absorción y la de asimilación, resultado normalmente de una fertilización nitrogenada excesiva.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



En el caso de las harinas de pescado, los pocos estudios realizados establecen un contenido por debajo de los 2 mg/kg en aquellas harinas producidas mediante técnicas de secado.

Repercusiones en la cadena alimentaria

No se disponen de datos en relación a los contenidos endógenos de nitritos en los productos de origen animal o la conversión y el índice de transferencia de nitratos y nitritos a través de la cadena alimentaria. Sin embargo, la rápida excreción a través de la orina de los iones de nitratos y nitritos absorbidos a través de la dieta y su carácter no-acumulativo permiten concluir que no se da bioacumulación en los tejidos y productos de origen animal.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------|---|--|
| Nitritos | Harinas de pescado Piensos completos, excepto: – Piensos para animales de compañía (con excepción de los pájaros y peces ornamentales) | 60 (expresado en nitrito de sodio) 15 (expresado en nitrito de sodio) |

Método de muestreo

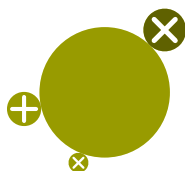
Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales

Método de análisis

Método no oficial

Uno de los métodos que se utiliza para la determinación de nitritos es el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Por otro lado, también se pueden extraer los nitritos con solución acuosa y se determina el contenido en nitratos por Electroforesis Capilar con detección ultravioleta (Detector DAD).



Bibliografía

- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- Spiegelhalter, B., Eisenbrand, G. and Preussmann, R. 1976. Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: Possible relevance to in vivo formation of N-nitroso-compounds. Food Cosmet.Toxicol., 14: 545-548.
- Wolter, R., 1982. Pathologie d'origine alimentaire. In: Mornet, P., Tournut, J., Toma, B. (ed.): Le Porc et ses maladies. Maloine, Paris, pp. 373-390.

PLOMO

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

El plomo es un elemento que se encuentra de forma natural en el medio ambiente principalmente en su forma inorgánica como óxido o sulfuro, pero también como carbonato, sulfato o cromato. Asimismo, su utilización en varios procesos tecnológicos, tanto en su forma orgánica como inorgánica, se ha traducido en un incremento en su concentración en los suelos, agua y aire, de manera que en zonas industrializadas o cercanas a minas de plomo se han detectado niveles de hasta 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (WHO-IPCS, 1995).

La concentración de plomo en las aguas subterráneas y de bebida suele estar por debajo de 20 $\mu\text{g}/\text{l}$ en la mayoría de países europeos, aunque se han observado concentraciones superiores en áreas con aguas blandas y en las que se utilizaba cañerías de plomo. Asimismo, su contenido en el suelo puede variar en gran medida de manera que, aunque los niveles normales se sitúan alrededor de 20-40 mg plomo/kg MS, se han hallado concentraciones mucho más altas debido a la presencia de actividad industrial o minera en zonas cercanas o la aplicación de lodos de aguas residuales. La absorción por las plantas es relativamente baja por lo que las concentraciones en pastos y cultivos raramente exceden los 5 mg/kg MS (Underwood y Suttle, 1999).

Todas las especies animales son susceptibles a las intoxicaciones por plomo aunque los signos de intoxicación pueden variar según la forma química, la solubilidad de las sales de plomo y su absorción en el tracto gastrointestinal. En general, se considera que tras su ingestión oral,

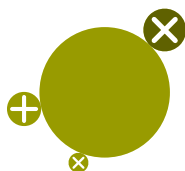
CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

la toxicidad del plomo disminuye siguiendo el siguiente orden: acetato > clorato > lactato > carbonato > sulfito > sulfato > fosfato de plomo. Los rumiantes se consideran una de las especies más sensibles a la intoxicación por plomo observándose como signos clínicos típicos los derivados de la neurotoxicidad (ceguera, contracciones musculares, depresión, convulsiones y ataxia), entre otros. La dosis letal única en estos animales puede variar de 400-800 mg/kg peso corporal. Por el contrario, los cerdos parecen ser más tolerantes respecto a la presencia de plomo en los alimentos. De hecho, no se han descrito en la literatura signos clínicos específicos en estos animales por intoxicación por plomo.

Presencia de plomo en las materias primas destinadas a la alimentación animal

La exposición de los animales al plomo suele deberse al consumo de tierra de suelos contaminados en animales en pastoreo o el consumo de pienso contaminado. En la Tabla I se muestra el contenido en plomo de diferentes materias primas según los informes presentados por varios países de la UE.

Tabla I. Concentraciones de plomo (mg/kg MS) en forrajes y otras materias primas (EFSA, 2004).



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



| MATERIAS PRIMAS | MEDIA | DS | MEDIANA | MÍNIMO | MÁXIMO | N= |
|---|-------|-------|---------|--------|--------|------|
| Cebada grano | 0,97 | 0,622 | 1 | 0,1 | 2,19 | 11 |
| Maíz y subproductos | 0,56 | 0,619 | 0,31 | 0,09 | 2,71 | 31 |
| Trigo y subproductos | 0,26 | 0,349 | 0,15 | 0,01 | 0,75 | 12 |
| Soja y harina de soja | 0,93 | 0,797 | 1 | 0,05 | 6,82 | 18 |
| Semilla de girasol y subproductos | 0,37 | 0,381 | 0,2 | 0,02 | 1,03 | 36 |
| Harina de colza | 0,6 | 2,246 | 1 | 0,05 | 6,82 | 18 |
| Harina de pescado | 0,52 | 0,596 | 0,15 | 0,01 | 2,22 | 77 |
| Harina de carne y hueso | 0,81 | 0,662 | 0,59 | 0,18 | 2,00 | 23 |
| Pulpa de cítricos | 0,76 | 0,407 | 1 | 0,05 | 1,00 | 14 |
| Pulpa de remolacha | 1,47 | 1269 | 1 | 0,22 | 4,00 | 14 |
| Forrajes | | | | | | |
| Pasto/Hierba | 4,93 | | | | | 1077 |
| Heno | 3,83 | | | | | 809 |
| Ensilado pasto | 2,02 | | | | | 225 |
| Ensilado de maíz | 2,19 | | | | | 336 |
| Todos los forrajes (incluyendo forrajes no indicados en las categorías mencionadas) | 2,52 | | | | | 2460 |

Según los datos que se muestran en la Tabla I, las concentraciones de plomo en los forrajes son generalmente más elevadas que en las materias primas concentradas. Puesto que la concentración en forrajes cultivados en suelos no contaminados es generalmente baja, los niveles elevados observados en estos estudios posiblemente reflejan cultivos que han crecido en suelos contaminados o que contienen cantidades más elevadas de tierra contaminada. Como ya se ha comentado anteriormente, la fuente principal de plomo exógeno es la actividad minera y la aplicación de lodos de aguas residuales en las tierras de cultivo. En este sentido, algunos autores han observado concentraciones de hasta 600 mg/kg MS en vegetales cultivados en suelos sujetos a actividad minera o en los que se han aplicado lodos. Asimismo, los procesos de cosecha de forrajes para su conservación como ensilado o heno frecuentemente se traducen en ciertas cantidades de tierra recogidas con el vegetal, por lo que los elevados niveles que se observan pueden reflejar también una elevada presencia de tierra en el forraje analizado.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

En cuanto a los suplementos minerales, los rangos habitualmente observados se sitúan alrededor de 3,38 mg/kg MS observándose una gran variación según el origen del mineral.

Repercusiones en la cadena alimentaria

En el caso de los humanos, la exposición al plomo se debe principalmente a la alimentación, aunque el papel de los productos alimenticios de origen animal se considera de poca importancia debido a la baja deposición del plomo en los tejidos blandos, la leche o los huevos.

Marco legislativo

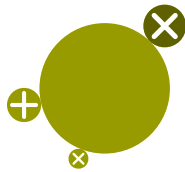
REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------|--|--|
| Plomo ⁽¹⁾ | Materias primas para la alimentación animal, excepto: | 10 |
| | – Forrajes verdes ⁽²⁾ | 30 ⁽³⁾ |
| | – Fosfatos y algas marinas calcáreas | 15 |
| | – Carbonato cálcico | 20 |
| | – Levaduras | 5 |
| | Aditivos pertenecientes al grupo funcional de los compuestos de oligoelementos excepto: | 100 |
| | – Óxido de zinc | 400 ⁽³⁾ |
| | – Óxido manganeso, carbonato de hierro, carbonato cúprico | 200 ⁽³⁾ |
| | Aditivos pertenecientes a los grupos funcionales de ligantes y antiaglomerantes excepto: | 30 ⁽³⁾ |
| | – Clinoptilolita de origen volcánico | 60 ⁽³⁾ |
| | Premezclas: | 200 ⁽³⁾ |
| | – Piensos complementarios, excepto: | 10 |
| – Piensos minerales | 15 | |
| – Piensos completos | 5 | |

⁽¹⁾ Los niveles máximos se refieren a una determinación analítica del plomo en la que la extracción se lleva a cabo en ácido nítrico (5% p/p) durante 30 minutos a punto de ebullición. Pueden aplicarse procedimientos de extracción equivalentes siempre que esté demostrada una eficacia de extracción semejante.

⁽²⁾ Concentraciones del límite superior; las concentraciones del límite superior se calculan dando por sentado que todos los valores de las diferentes sustancias afines que estén por debajo del límite de detección son iguales a este límite.

⁽³⁾ A más tardar el 31 de diciembre de 2007 se revisarán los niveles a fin de reducir los niveles máximos.



Método de muestreo

En el Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios, podemos encontrar pautas para aplicar un método de muestreo que nos ayude a determinar el plomo. Además, hay que tener en cuenta las modificaciones de esta normativa como puede ser la Orden SCO/3427/2005, de 25 de octubre, por la que se modifican los anexos del Real Decreto 256/2003, de 28 de febrero, por el que se fijan los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de plomo, cadmio, mercurio y 3-monocloropropano-1,2-diol en los productos alimenticios.

Para el caso concreto del muestreo de plomo en grasas y aceites se utilizan los siguientes métodos de muestreo: AOAC 994.02, UIQPA 2.632 y la ISO 12193:1994.

Método de análisis

Método no oficial

El método más común para la determinación del plomo es la espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) (No oficial: AOAC 999.10 17a Ed.). Se basa en la digestión de la muestra en microondas con medio ácido y peróxido de hidrógeno. La solución obtenida se diluye en agua y la concentración de plomo se obtiene a partir de la absorbancia de cada elemento a su longitud de onda específica en un espectrofotómetro de absorción atómica con cámara de grafito, y las calibraciones con soluciones patrón.

Una alternativa a este método es un proceso de digestión por presión previa a la absorción atómica.

Bibliografía

- AOAC, 1995. Association of Analytical Communities. Guidelines for the AOAC Official Methods Program, J. AOAC Int. 78(5), 143A-160A. AOAC International.
- EFSA 2004. The EFSA Journal. 2004. 71, 1-20.
- ISO 1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 1: General principles and definitions. ISO 5725-1:1994.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



- Underwood, E. And Suttle, N. 1999. The mineral nutrition of livestock. 3^a ed. CABI Publ., Wallingford.
- WHO-IPCS 1995. Inorganic Lead, Environmental Health Criteria 165. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

MICOTOXINAS

IMPORTANCIA DE LAS MICOTOXINAS

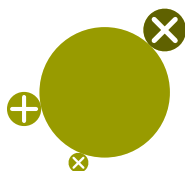
Las enfermedades transmitidas por los alimentos causadas por peligros microbiológicos constituyen un problema de salud pública importante y creciente. Según datos recogidos por el Programa de Vigilancia para el Control de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos de la OMS en Europa, de los 23.538 brotes notificados (entre 1993-1998) en los que se identificó el agente causante, los hongos tóxicos se detectaron en un 2% de los casos. Aunque esta incidencia parece muy baja respecto a otras toxiinfecciones alimentarias (como es el caso de la salmonelosis con una incidencia del 77%), es probable que las estadísticas infravaloren los niveles reales de estas contaminaciones debido a su complicado diagnóstico.

Descripción de la sustancia y efectos adversos

Las micotoxinas son compuestos químicos de bajo peso molecular fruto del metabolismo secundario de los hongos productores de micotoxinas u hongos micotoxígenos. En la actualidad se han identificado más de 200 tipos diferentes de micotoxinas, las cuales presentan una gran diversidad tanto en su estructura química como en las micotoxicosis que producen (Trenholm y col., 1996).

Tradicionalmente, los hongos micotoxígenos se dividen entre hongos de campo (o fitopatógenos) y hongos de almacenamiento (o saprofitos). Así, en el caso de las toxinas producidas por el género *Fusarium* la contaminación suele producirse en el campo. Como representantes de este grupo de micotoxinas encontramos las **fumonisin**as, la **zearalenona** y los **tricotecenos (deoxinivalenol)**, entre otras. La contaminación de los granos después de la cosecha se da principalmente por los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, que se caracterizan por la producción de toxinas como las **aflatoxinas** y las **ocratoxinas**.

Las micotoxinas pueden infectar sistemas específicos del organismo pero generalmente dañan hígado o los riñones por lo que alteran los procesos metabólicos del animal produciendo condiciones adversas que llevan a efectos como hígado pálido, inflamación de riñones, disminución de la respuesta inmunológica, mala absorción de nutrientes, reducción del crecimiento



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



o alteración de la fertilidad. El grado de lesión depende de las micotoxinas involucradas, de la edad y salud del animal, del nivel de contaminación del alimento y el tiempo de exposición al alimento contaminado.

Generalmente, los animales monogástricos y más jóvenes son más sensibles a las micotoxinas que los animales rumiantes o de mayor edad. Dentro de los monogástricos, los cerdos jóvenes, son los animales más susceptibles a los efectos tóxicos de las micotoxinas, y en concreto de toxinas como el deoxinivalenol, la zearalenona o las ocratoxinas (Smith y Seddon, 1998). En la Tabla 1 se detallan los principales efectos de estas micotoxinas en los animales.

Tabla 1. Principales efectos de las micotoxinas en los animales (EFSA, 2004*).

| MICOTOXINA | DOSIS MÍNIMAS TÓXICAS EN EL PIENSO | EFFECTOS OBSERVADOS EN LOS ANIMALES |
|----------------|--|---|
| Aflatoxina B1 | Monogástricos > 50 ppb Rumiantes 1,5-2,5 mg/kg | Hepatotoxicidad (inmunosupresión, ↓ ingestión) |
| Ocratoxina A | Monogástricos 200 ppb Rumiantes 400 mg/kg (?) | Nefrotoxicidad (diarrea, anorexia, deshidratación) |
| Fumonisina B1 | Monogástricos (cerdos): 50 ppb Rumiantes: 75-100 mg/kg | Edema pulmonar agudo, hepatotoxicidad (↓ ingestión) |
| Zearalenona | Monogástricos (cerdos) 1-3 ppm Rumiantes > 75 mg/kg (?) | Actividad estrogénica (abortos, anestro, prolapso vaginal) |
| Deoxinivalenol | Cerdos 5-10 mg/kg Aves: 16-20 mg/kg Rumiantes > 20 mg/kg (?) | Vómitos y rechazo de alimentos (diarrea, anorexia) |

* Basado en concentraciones tóxicas observadas en diferentes estudios científicos.

Presencia de micotoxinas en materias primas destinadas a la alimentación animal

La producción de micotoxinas depende de la cepa específica del hongo que prolifera en el sustrato, así como de factores ambientales como la humedad, la temperatura o la presencia de oxígeno. En este sentido, la contaminación por micotoxinas puede variar según el tipo de cultivo, las condiciones geográficas y climáticas, método de producción o tipo de almacenamiento. Así, los tricotecenos, la zearalenona o las ocratoxinas están asociados a cereales de zonas templadas (Europa, Norteamérica), mientras que las aflatoxinas se encuentran con más frecuencia en oleaginosas y cereales de zonas cálidas (Sudamérica, África; Tabla 2).

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

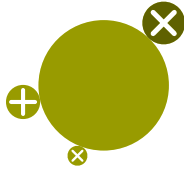
Tabla 2. Presencia de micotoxinas en las materias primas según orígenes.

| ZONA | MICOTOXINAS |
|-----------------|---|
| Oeste de Europa | Ocratoxina, Deoxinivalenol, Zearalenona |
| Este de Europa | Zearalenona, Deoxinivalenol |
| Norteamérica | Ocratoxina, Deoxinivalenol, Zearalenona, Aflatoxinas |
| Sudamérica | Aflatoxinas, Fumonisinias, Ocratoxina, Deoxinivalenol, Toxina T-2 |
| África | Aflatoxinas, Fumonisinias, Zearalenona |
| Asia | Aflatoxinas |
| Australia | Aflatoxinas, Fumonisinias |

Los principales alimentos afectados por la contaminación de micotoxinas son los sustratos vegetales, principalmente los cereales (en especial maíz, cebada, trigo y sus subproductos), pero también las frutas, los frutos secos, las especias, las oleaginosas (algodón, cacahuete, colza, girasol, soja) o la mandioca (Tabla 3). Aunque se desconocen los índices de contaminación por micotoxinas de estos productos, se estima que hasta un 25% de la producción mundial anual de cultivos vegetales puede estar afectada por la presencia de micotoxinas (Devegowda y col., 1998). Algunos autores creen que esta contaminación puede seguir aumentando en Europa en estos próximos años debido a las condiciones meteorológicas particulares que estamos viviendo, así como cambios en las prácticas ganaderas (mínimo laboreo y empleo de fungicidas de alta eficacia) y un incremento en el uso de cultivos susceptibles (Fink-Gremmels, 2002; Tucker, 2004).

Tabla 3. Presencia de micotoxinas en materias primas destinadas a la alimentación animal.

| MICOTOXINA | GÉNEROS PRODUCTORES | ALIMENTOS IMPLICADOS |
|-----------------------------|---|---|
| Aflatoxina B1 | Aspergillus y Penicillium | Maíz, semilla de algodón |
| Ocratoxina A | Aspergillus (c. cálido y templado) y Penicillium (c. fríos) | Granos de cereales (trigo, cebada) |
| Fumonisinina (B1) | Fusarium | Granos de cereales (maíz) |
| Zearalenona | Fusarium | Granos de cereales (maíz) |
| Deoxinivalenol (Vomitoxina) | Fusarium | Granos de cereales (maíz, trigo) - cama |



Repercusiones en la cadena alimentaria

Los alimentos de origen animal (como la leche, los huevos o la carne) también pueden estar contaminados con micotoxinas. En este caso, la presencia de estas toxinas se debe al suministro al ganado de pienso o forraje contaminado, lo que permite una posible deposición de las mismas en los tejidos animales. Sin embargo, y aunque en algunos casos se han podido detectar elevadas incidencias, en general se estima que la presencia de micotoxinas en alimentos de origen animal se encuentra por debajo del 3% (EFSA, 2004). En la figura 1 se presenta un esquema de las posibles vías de entrada de las micotoxinas a la cadena alimentaria.

Figura 1. Posibles vías de entrada de las micotoxinas a la cadena alimentaria.



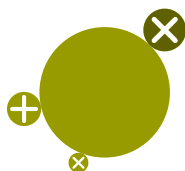
CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Marco legislativo general

En el caso del pienso, por el momento sólo se han establecido límites máximos para la presencia de la micotoxina aflatoxina B₁ debido a su mayor capacidad de deposición en los tejidos animales y especialmente en la leche. Sin embargo, la Comisión Europea ya ha publicado una recomendación de valores guía en los piensos para la presencia de deoxinivalenol, la zearaleonone, la ocratoxina A y las fumonisinas (Recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal). El objetivo del establecimiento de estos valores guías, no es otro que el de concienciar a los operadores de empresas de pienso de la necesidad de un mayor control de estas toxinas, así como realizar un estudio de sus niveles de incidencia en los productos destinados al consumo animal. Tras el análisis de los datos recogidos, se espera que estos valores guía se conviertan también en límites máximos.

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|-------------------------------|--|---|
| Aflatoxina B ₁ | Todas las materias primas para la alimentación animal | 0'02 |
| | Piensos completos para bovinos, ovinos y caprinos, excepto: | 0'02 |
| | – Piensos completos para ganado lechero | 0'005 |
| | – Piensos completos para terneros y corderos | 0'01 |
| | Piensos completos para cerdos y aves de corral (excepto animales jóvenes) | 0'02 |
| | Otros piensos completos | 0'01 |
| | Pienso complementario para bovinos, ovinos y caprinos (excepto piensos complementarios para ganado lechero, terneros y corderos) | 0'02 |
| | Piensos complementarios para cerdos y aves de corral (excepto animales jóvenes) | 0'02 |
| Otros piensos complementarios | 0'005 | |



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



RECOMENDACIÓN 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal

| MICOTOXINA | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | VALOR ORIENTATIVO EN MG/KG (PPM) para piensos con un contenido de humedad del 12% |
|--|--|---|
| Deoxivalenol | Materias primas para piensos (*): | |
| | – Cereales y productos a base de cereales (**), con excepción de los subproductos de maíz | 8 |
| | – Subproductos de maíz | 12 |
| | Piensos complementarios y completos, con excepción de: | 5 |
| – Piensos complementarios y completos para cerdos | 0,9 | |
| – Piensos complementarios y completos para terneros (menores de cuatro meses), corderos y cabritos | 2 | |
| Zearalenona | Materias primas para piensos (*): | |
| | – Cereales y productos a base de cereales (**), con excepción de los subproductos de maíz | 2 |
| | – Subproductos de maíz | 3 |
| | Piensos complementarios y completos: | |
| | – Piensos complementarios y completos para lechones y cerdas nulíparas | 0,1 |
| | – Piensos complementarios y completos para cerdas y cerdos de engorde | 0,25 |
| – Piensos complementarios y completos para terneros, ganado lechero, ovejas (incluidos los corderos) y cabras (incluidos los cabritos) | 0,5 | |
| Ocratoxina A | Materias primas para piensos (*): | |
| | – Cereales y productos a base de cereales (**) | 0,25 |
| | Piensos complementarios y completos: | |
| | – Piensos complementarios y completos para cerdos | 0,05 |
| – Piensos complementarios y completos para aves de corral | 0,1 | |

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

| MICOTOXINA | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | VALOR ORIENTATIVO EN MG/KG (PPM) para piensos con un contenido de humedad del 12% |
|---|--|---|
| Fumonisinias B1 + B2 | Materias primas para piensos (*): – Maíz y productos a base de maíz (***) | 60 |
| | Piensos complementarios y completos para: | |
| | – Cerdos, caballos (équidos), conejos y animales de compañía | 5 |
| | – Peces | 10 |
| | – Aves de corral, terneros (menores de cuatro meses), corderos y cabritos | 20 |
| – Rumiantes mayores de cuatro meses y visones | 50 | |

(*) Debe prestarse especial atención a que la utilización de una ración diaria de cereales y productos a base de cereales como alimento directo de los animales no suponga exponerlos a un nivel de estas micotoxinas superior a los niveles de exposición correspondientes a un uso exclusivo de piensos completos en una ración diaria.

(**) Los términos “cereales y productos a base de cereales” incluyen no sólo las materias primas enumeradas bajo el título “1. granos de cereales, sus productos y subproductos” de la Lista no excluyente de las principales materias primas para la alimentación animal de la parte B del anexo de la Directiva 96/25/CE del Consejo, de 29 de abril de 1996, por la que se regulan la circulación y la utilización de las materias primas para la alimentación animal (DO L 125 de 23.5.1996, p. 35), sino también otras materias primas para la alimentación animal derivadas de los cereales, en particular los forrajes y forrajes groseros de cereal.

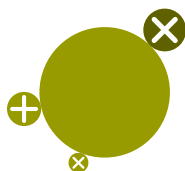
(***) Los términos “maíz y productos a base de maíz” incluyen no sólo las materias primas derivadas del maíz enumeradas bajo el título “1. granos de cereales, sus productos y subproductos” de la Lista no excluyente de las principales materias primas para la alimentación animal de la parte B del anexo de la Directiva 96/25/CE, sino también otras materias primas para la alimentación animal derivadas del maíz, en particular los forrajes y forrajes groseros de maíz.

Método de muestreo general

La determinación de las micotoxinas no es una cuestión simple debido a que las micotoxinas se encuentran distribuidas de manera heterogénea en la materia prima. Para facilitar el proceso de análisis podemos dividirlo en tres fases cruciales:

- Toma de muestra
- Molienda de la muestra y toma de la submuestra
- Extracción y cuantificación de la micotoxina

El muestreo es fundamental para conseguir la cuantificación de las micotoxinas. En este sentido, existe un consenso respecto a que un mal procedimiento de muestreo lleva a resultados que difieren de un laboratorio a otro. Por todo ello, se recomienda, según la normativa para el control oficial de micotoxinas, seguir un procedimiento de muestreo establecido y que el tamaño de la muestra para el análisis sea aproximadamente de 100g.



Aspectos a tener en cuenta para el muestreo:

La distribución de las aflatoxinas en un lote es muy heterogénea, sobre todo en los lotes de productos con tamaño grande de partícula. A fin de obtener la misma representatividad, en el caso de los lotes de productos con tamaño grande de partícula, el peso de la muestra global debería ser superior al peso de la muestra global de los lotes de productos con tamaño más pequeño de partículas.

Dado que la distribución de micotoxinas en productos transformados es normalmente menos heterogénea que en los productos a base de cereales no transformados, conviene prever disposiciones de muestreo más sencillas para los productos transformados.

- Importante emplear buenas prácticas de muestreo:
- Uso de material adecuado en buenas condiciones higiénicas.
- Recoger muestras en el momento adecuado (todo el lote disponible).

Respecto a las muestras que se van a tomar es importante que sea representativa, por todo lo anteriormente expuesto, por ello será necesario lo siguiente:

- Recoger varias muestras de un mismo lote distribuido al azar.
- Mezclarlas homogéneamente y recoger muestras del mezclado.
- Correcto etiquetado de las muestras.
- Almacenamiento y transporte adecuados (lo más breve posible).

A la hora de determinar el número de muestras que se deben tomar, se recomienda seguir con las directrices que marca el Reglamento (CE) nº 401/2006 de la Comisión de 23 de febrero de 2006 por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios. Si bien, a nivel general se debe tener en cuenta los siguientes aspectos:

- La contaminación esperada (según origen y naturaleza de la materia prima),
- Tamaño del lote,
- Valor y uso previsto de la materia prima.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Método de análisis general

Una vez que la muestra llega al laboratorio ésta pasa por un proceso de preparación previo a su análisis. El proceso de preparación consiste básicamente en una molienda y un cuarteo con el fin de obtener una muestra pequeña pero representativa que se va a analizar.

Es importante antes de llevar a cabo el análisis de la muestra tener en cuenta los siguientes aspectos:

- La presencia de hongos en el producto no es un buen indicador de la presencia o no de micotoxinas.
- Un hongo puede producir más de un tipo de micotoxina.
- Una determinada micotoxina puede ser producida por más de una especie de hongo.
- Los análisis rutinarios deberían evaluar: aflatoxinas (materias primas países terceros), zearalenona y vomitoxina.

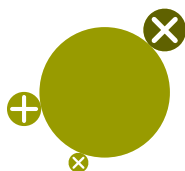
Dentro del método de análisis de las muestras es importante subrayar que existen tres pasos diferenciados que se deben ejecutar:

1. **Extracción** mediante solventes orgánicos o mezclas de éstos con agua.
2. **Purificación o limpieza**, se realiza en algunos métodos con el fin de eliminar las impurezas que puedan interferir en la cuantificación.
3. **Detección y cuantificación**, estos métodos deben ser confiables, aplicables y prácticos.

Es necesario indicar que la legislación comunitaria no exige ningún método específico para la determinación del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios, los laboratorios podrán aplicar cualquier método de su elección siempre que se ajusten a los criterios de funcionamiento que se establecen en el Reglamento (CE) nº 401/2006.

A continuación realizamos una enumeración de los métodos más comunes para la determinación de micotoxinas que se utilizan en la actualidad:

Actualmente se utilizan métodos de extracción de fase sólida (SPE) combinados con una purificación/limpieza mediante inmunoafinidad (IA) seguidos de métodos de detección. Dentro de los métodos de detección los más utilizados son la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) combinada con la detección fluorimétrica. Como métodos alternativos se puede utilizar la cromatografía de capa fina (TLC) y la espectrometría de masas (MS). Todos estos métodos requieren de instrumentación de elevado coste y de una alta capacitación del usuario.



Frente a estos métodos de detección nos encontramos con los métodos inmunoquímicos, tales como el método ELISA y RIA, cuya ventaja es que son rápidos, simples y de bajos requerimientos instrumentales. Sin embargo, su mayor desventaja es que presentan interferencia que ocasionan falsos positivos que conllevan a una interpretación problemática, estos positivos obtenidos conviene que sean confirmados por un método de referencia.

La HPLC es un método exacto y preciso que ha sido aceptado como método oficial (AOAC International 994.08) y como método de referencia para algunas micotoxinas. La TLC es una buena técnica para realizar analíticas rutinarias de bajo coste debido a que no precisa un equipamiento excesivamente caro. La HPLC junto con la detección fluorimétrica ha sido el método más utilizado en los últimos años debido principalmente a su alta sensibilidad, reproducibilidad y a que puede ser fácilmente automatizado.

Además de los métodos que hemos citado para la determinación del deoxinivalenol también se puede utilizar la cromatografía de gases combinada con el detector de captura de electrones (GC-ECD), o la detección de espectrometría de masas (GC-MS detección), o la cromatografía líquida con ultravioleta (LC-UV).

Bibliografía

- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL 17th Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 991.31.
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL 17th Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 993.17.
- AOAC, 2000. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL 17th Ed., AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 979.18.
- Directiva 96/25/CE del Consejo, de 29 de abril de 1996 que regula la circulación y utilización de las materias primas para alimentación animal.
- Devegowda G., Radu M.V. L. N., Nazar A., Swamy H.V.L.M. 1998. Mycotoxin Picture Worldwide: Novel Solutions for their Counteraction en Proceedings of Alltech's 14th Annual Symposium. Biotechnology in the Feed Industry. Passport of the Year 2000. Nortingham University Press, U.K. p: 241-255.
- EFSA Journal, 2004. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants In the Food Chain on a request from the Commision related to mycotoxins.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



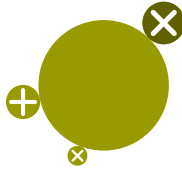
- Fink-Gremmels, J. 2002. Mycotoxicoses in veterinary medicine: a review. *The veterinary Journal*: accepted.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- REAL DECRETO 2257/1994 nº 15b)
- RECOMENDACIÓN 2006/576/CE de la comisión de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal.
- REGLAMENTO (CE) nº 401/2006
- Smith, T.K., and N.R. Seddon. 1998. Synergism demonstrated between *Fusarium* mycotoxins. *Feedstuffs*, June 22.
- Trenholm, H.L., Charmley, L.L., Prelusky, D.B. 1996. Mycotoxin binding agents: an update on what we know. *Proc. Of Alltech's 12º Annual Symp. on Biotechnology in the feed Industry*. Ed. T.P. Lyons and K.A. Jacques. Nottingham University Press. 327-349.
- Tucker, L., 2004. Mycotoxins in feed and forage: the potential negative impact on dairy production. En: *Expanding horizons: Proceedings of Alltech's 18th European, Middle East and African Lecture Tour 2004*, 109-125.

AFLATOXINA B1

Método de muestreo

Para determinar la aflatoxina en cereales se utiliza el método de la AOAC 991.31 y el método de la AOAC 993.17, para el caso concreto del maíz se utiliza el método de muestreo de la AOAC 979.18.

También en el Real Decreto 90/2001, de 2 de febrero, por el que se establecen los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de aflatoxinas en cacahuetes, frutos de cáscara, frutos desecados, cereales, leche y los productos derivados de su transformación podemos encontrar pautas que nos ayuden a determinar el método de muestreo más adecuado. Así mismo, hay que tener en cuenta las posibles modificaciones de esta normativa, tal y como se recoge en la Orden SCO/388/2003, de 25 de febrero, por la que se modifican los anexos I y II del Real Decreto 90/2001, de 2 de febrero, por el que se establecen los métodos de toma de muestras y de análisis para el control oficial del contenido máximo de aflatoxinas en cacahuetes, frutos de cáscara, frutos desecados, cereales, leche y los productos derivados de su transformación,



Método de análisis

Para el análisis de las aflatoxinas conviene evitar en la medida de lo posible la luz del día durante la operación, puesto que las aflatoxinas se descomponen progresivamente bajo la influencia de la luz ultravioleta.

Método oficial

Se utiliza para la detección de la Aflatoxina B1 la cromatografía de líquidos de alta resolución con detección por fluorescencia (**Real Decreto 2257/1994 n° 15b**) La extracción de la muestra se realiza con cloroformo. Se filtra el extracto y una parte alícuota de éste se purifica en un cartucho de florisil y, a continuación, en un cartucho C18. La separación y determinación finales se realizan mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR) utilizando una columna de fase inversa C18 seguida de una reacción post-columna con solución acuosa de yodo y detección por fluorescencia.

El método permite determinar aflatoxina B1 en los piensos, incluidos los que contienen pulpa de cítricos. El límite inferior de determinación es de 0,001 mg/kg.

Las micotoxinas son extremadamente tóxicas. Las manipulaciones deben llevarse a cabo en campana extractora de humos. Deben tomarse precauciones especiales cuando las toxinas están en forma sólida, ya que debido a su naturaleza electrostática tienden a dispersarse en las áreas de trabajo.

Método no oficial

Otro método que se utiliza para determinación de Aflatoxina B1 es el método de ELISA. Esta técnica implica la interacción de antígenos Aflatoxina B1 Con los anticuerpos monoclonales de elevada especificidad ligados a la superficie de los micro pocillos o de relleno en una micro columna. (**No oficial:AOAC 999.16**). La muestra debe ser molida con un tamiz de 0,5 mm de luz, se extrae con una mezcla metanol-agua 20:80 y se purifica con cloroformo-agua. Sobre la fase orgánica se realiza el test Elisa. La lectura del color desarrollado por el test puede leerse a simple vista o con la ayuda de un espectrofotómetro para obtener resultados cuantitativos. Para muestras con niveles superiores a 50 ppb, el extracto debe diluirse.

Además, se utilizan varios métodos para la determinación de aflatoxina B1 basados en la limpieza/purificación con extracción en fase sólida (SPE) combinado con una determinación por cromatografía líquida y la limpieza/purificación con inmunoafinidad (IA) combinado con una determinación por cromatografía líquida.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



CORNEZUELO DEL CENTENO

Evaluación del riesgo

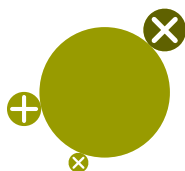
Descripción de la sustancia y efectos adversos

El término de cornezuelo se refiere a las estructuras fúngicas de especies de *Claviceps*, especialmente de la subespecie *purpurea*, que se pueden observar en la superficie de granos y semillas en forma de membranas oscuras. Estas membranas contienen diferentes clases de alcaloides, siendo los principales la ergometrina, la ergotamina, la ergosina, la ergocristina, la ergocriptina y la ergocornina, entre otras. El contenido total de alcaloides de las membranas es variable y depende de la cepa fúngica, la planta hospedadora y la zona geográfica.

Los alcaloides del cornezuelo pueden ser tóxicos en todas las especies animales, debido a la interacción de dichos alcaloides con receptores adrenérgicos, serotoninérgicos y dopaminérgicos. Los signos clínicos típicos son la vasoconstricción, que puede desencadenar vasoclusión, procesos gangrenosos y abortos, así como efectos neurotóxicos (rechazo alimentos, mareo y convulsiones). Las dosis tóxicas de los alcaloides en los animales pueden variar enormemente según el tipo de alcaloide y su selectividad por el receptor. Por otro lado, los datos respecto a las dosis tóxicas a alcaloides individuales son escasos, debido a que en condiciones de campo los animales están expuestos a mezclas complejas que pueden variar según la composición en alcaloides del cornezuelo y según la cepa fúngica, la planta hospedadora y los factores medioambientales. Esto implica que actualmente, ni el contenido total en alcaloides ni el contenido de un alcaloide individual constituyen buenos indicadores de los potenciales efectos adversos asociados a la ingestión de alimentos contaminados con cornezuelo en el ganado. En la Tabla I se muestran los niveles tóxicos de cornezuelo en las diferentes especies animales según los resultados de varios estudios.

Tabla I. Niveles tóxicos de cornezuelo en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2005).

| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS (MG/KG DIETA) |
|----------------|-------------------------------|
| Rumiantes | 10.000 |
| Porcino | >2 |
| Pollos | 250 (ergotamina) |



Presencia del cornezuelo del centeno en materias primas destinadas a la alimentación animal

Respecto a la presencia de alcaloides del cornezuelo en las materias primas destinadas a la alimentación animal, los datos de los que se dispone son escasos. Sin embargo, y asumiendo la susceptibilidad de los cereales a las *Claviceps spp*, se considera que en general los niveles más elevados de cornezuelo se encuentran en el centeno > el triticale > el trigo, cebada > la avena aunque también se han observado en otros cereales y forrajes. De todos modos, la membrana del cornezuelo es frecuentemente más grande que los propios granos de cereales por lo que se pueden eliminar fácilmente por acción mecánica con equipos sencillos de limpieza de granos como las cribas y los separadores utilizados durante el proceso de cosechado. En este sentido, más del 80% de el cornezuelo es eliminado durante este proceso.

En algunos estudios realizados a nivel de Europa sugieren que las concentraciones totales de alcaloides en las membranas de los cereales varían entre 0,09 y 0,21% (Wolff, 1989), mientras que en las membranas de las semillas forrajeras pueden contener 0,16 hasta 0,23% de alcaloides (Wolff y Ritcher, 1989). En cuanto a los alcaloides individuales estos varían considerablemente según la planta de origen y la zona geográfica aunque los más frecuentes son la ergocristina o la ergotamina.

Repercusiones en la cadena alimentaria

Como se ha comentado anteriormente, los principales alimentos afectados son los cereales por lo que estos también constituyen la principal vía de entrada en los humanos. Sin embargo, gracias al procesado de estos cereales, los niveles encontrados en los productos alimenticios son en general insignificantes.

Los pocos datos disponibles en la distribución y deposición en los tejidos de los animales, no permiten evidenciar que los alcaloides del cornezuelo se acumulen en los tejidos comestibles, incluyendo la leche y los huevos, por lo que se considera poco probable que los productos de origen animal sean una fuente importante en relación a la exposición a los humanos.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| MICOTOXINA | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | VALOR ORIENTATIVO EN MG/KG (PPM) para piensos con un contenido de humedad del 12% |
|--|---|---|
| Cornezuelo de centeno (Claviceps purpurea) | Todos los piensos para animales que contengan cereales no molidos | 1.000 |

Método de muestreo

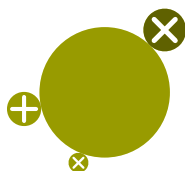
Ver Directrices generales de muestreo

Métodos de análisis

Método no oficial

El método más utilizado para la determinación del cornezuelo es la cromatografía, todas las técnicas comunes analíticas tales como la cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía líquida (LC), y cromatografía de gases (GC) se utilizan como método de análisis del cornezuelo. Actualmente, la técnica más utilizada es la cromatografía líquida con detección fluorescente. Esta técnica permite la separación de la mayor parte de los alcaloides de ergot tales como ergometrina, ergosina, ergotamina, ergocornina, alfaergocriptina y ergocristina.

Otro de los métodos utilizados para la determinación del cornezuelo del centeno es el método colorimétrico. Se trata de un test cualitativo no oficial que se aplica al centeno y sus subproductos y también al trigo. En un frasco tapado se dejan en maceración durante 5 ó 6 horas 10 gramos de harina y 20 cm³ de éter acidulado con 10 gotas de ácido sulfúrico diluido (1:5). Se filtra y se lava el residuo con éter hasta obtener 20 cm³ de líquido filtrado. A esta disolución etérea se añaden de 10 a 15 gotas de una solución saturada de bicarbonato sódico y se agita fuertemente. Si existe cornezuelo, la solución acuosa que sobrenada tiene un tinte rojo violáceo.



Bibliografía

- EFSA, 2005. The EFSA Journal. 2005. 225, 1-27.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- Wolff, J. 1989. Mutterkorn in Getreide. Getreidekonservierung and Futterschäden durch Getreide 30. Bericht der Praktiker- Informationstagung; 14.03.1989; Grub. Bayerisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, editors.
- Wolff, J., Richter; W.I.F. 1989. Chemische Untersuchungen an Mutterkorn. Getreide, Mehl und Brot 43: 103-108.

COMPONENTES ORGÁNICOS

Los contaminantes orgánicos provienen en general de diferentes fuentes antropogénicas. Su presencia en el ambiente es frecuentemente el resultado directo o indirecto del uso de ciertas sustancias en la agricultura o la industria. En la normativa de sustancias indeseables en la alimentación animal se encuentran una serie de sustancias que pertenecen a este grupo la mayor parte de las cuales se corresponden a pesticidas utilizados en el pasado en Europa y en algunos casos aún en uso en ciertas partes del mundo.

PESTICIDAS ORGANOCLORADOS

La mayoría de compuestos pertenecientes a este grupo fueron introducidos en los años 40 como insecticidas para las plantas (pre y post cosechado) y para la protección de los animales. Sin embargo, ya en los años 70 empezó a aumentar la preocupación respecto a la posible toxicidad de estos productos, su elevada persistencia en el ambiente y su habilidad para acumularse en la cadena alimentaria. Esta preocupación desencadenó que se prohibieran la mayoría de usos de estos productos en el sector agrícola tanto a nivel de Europa como de los Estados Unidos. Sin embargo, algunos de estos pesticidas organoclorados siguen siendo utilizados en terceros países.

Los diez pesticidas organoclorados a los que se ha establecido un contenido máximo en los alimentos destinados a alimentación animal, comparten una serie de características comunes:

- pertenecen a 4 categorías de estructuras cíclicas cloradas con baja polaridad (soluble en lípidos) y buena resistencia a la degradación físico-química;

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

- se acumulan en tejidos grasos de peces, aves y mamíferos, pero también en plantas (por transferencia desde el suelo);
- son persistentes en el suelo y los sedimentos (Contaminantes Orgánicos Persistentes, POPs);
- son tóxicos para los animales según el tipo de compuesto químico;
- son fácilmente detectables como compuestos individuales así como en familia (métodos multiresiduo) a niveles muy bajos;
- su carga medioambiental está decreciendo progresivamente debido a su prohibición en los años 70-80.

Por todo ello, se puede concluir que la situación en relación a la exposición de los animales y los humanos a los pesticidas organoclorados a través de productos de origen europeo parece estar actualmente controlado de manera satisfactoria. Sin embargo, su conocida toxicidad intrínseca junto con su uso aún permitido en terceros países, justifica, por el momento, el control de su presencia en alimentos para animales importados.

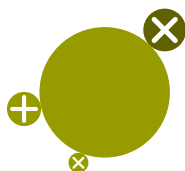
Finalmente, cabe indicar que existe una gran limitación al uso de otros pesticidas, que no están contemplados en la legislación de sustancias indeseables. Para facilitar la consulta de los límites máximos de residuos (LMR) que impone la normativa a diferentes materias activas utilizadas como pesticidas en los vegetales, existe una página web elaborada y actualizada por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación que puede ser de gran utilidad. Esta página web es la siguiente: <http://www.mapa.es/es/agricultura/pags/fitos/registro/lmrs/conlmr.asp>.

ALDRÍN-DIELDRINA

Evaluación del riesgo

Descripción del elemento y efectos perjudiciales en los animales

El aldrín (1,2,3,4,10,10-hexacloro-1,4,4 α ,5,8,8 α -hexahidro-exo-1,4-endo-5,8-dimetanonaftaleno) y la dieldrina (metabolito del aldrín; 1,2,3,4,10,10-hexacloro-6,7-epoxi-1,4,4 α ,5,6,7,8,8 α -octahidro-endo-1,4-exo-5,8-dimetanonaftaleno) son insecticidas organoclorados persistentes y bioacumulantes (POPs). Su utilización comercial empezó en los años 50 principalmente para su aplicación como pesticida agrícola. Sin embargo, en la actualidad está prohibido su uso en la mayoría de países a nivel mundial. Aún existen residuos de dieldrina en el ambiente y en tejidos humanos, pero los niveles han disminuido considerablemente en los últimos 30 años.



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



En animales y personas, el aldrín y la dieldrina se absorben rápidamente por vía gastrointestinal. La conversión de aldrín a dieldrina se da mucho más rápidamente que la subsiguiente transformación y eliminación de la dieldrina, lo que implica una acumulación de dieldrina en los tejidos ricos en lípidos, así como en leche y huevos. Este hecho convierte a ambos compuestos en unos de los pesticidas clorados con más capacidad para la bioacumulación. Los principales efectos tóxicos se producen en el sistema nervioso y el hígado, aunque en este último caso sólo suele observarse tras una exposición crónica. Ambas sustancias ejercen un efecto tóxico similar y no son genotóxicas ni teratogénicas.

De manera parecida a otros pesticidas organoclorados, la especie animal más expuesta al aldrín y la dieldrina son los peces debido a su doble vía de entrada por el agua y la alimentación. En cuanto al resto de especies animales de producción, la principal vía de intoxicación es la oral, aunque también en algunos casos se ha observado absorción a través de la piel en la aplicación de estos pesticidas en el ganado (spray o baño). La sensibilidad a la exposición al aldrín puede variar según la especie, raza, edad, género, estatus sanitario y la capacidad de deposición de grasa. Debido a que estos productos se distribuyen principalmente en el tejido adiposo, y los efectos críticos se dan en el sistema nervioso, los animales con baja deposición son más sensibles que animales con mayor deposición ya que en este último caso, las cantidades que llegan al sistema nervioso son más pequeñas. En la Tabla I se muestran niveles tóxicos de aldrín y dieldrina en algunas especies animales.

Tabla I. Niveles tóxicos de aldrín y dieldrina en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2005).

| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS (MG/KG DIETA) |
|---------------------------------------|--------------------------------|
| Peces | 0,36 mg/kg (LOAEL) |
| Rumiantes Vacuno Lechero Ovejas | 38 mg/kg (NOAEL) 30 mg/kg |
| Cerdos | ¿40 mg? |
| Aves | 1 mg eldrin 10 mg dieldrina |



Presencia de aldrín y dieldrina en materias primas destinadas a la alimentación animal

Aunque el aldrín y la dieldrina pertenecen a uno de los grupos de sustancias indeseables analizadas de forma rutinaria en las materias primas destinadas a la alimentación animal en la UE, en general se disponen de pocos datos sobre concentración en el pienso puesto que en los informes que los Estados miembros remiten a la CE los resultados se presentan de forma condensada y sólo es necesario determinar si el producto cumple o no con la normativa.

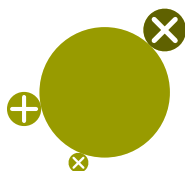
Entre los diferentes estudios realizados a nivel europeo para detectar la presencia de estos compuestos, se destaca que, en general, no se encuentran niveles por encima de los permitidos en la normativa ni en los productos de origen vegetal ni animal. La mayoría de los resultados presentados indican que los productos derivados del pescado, y especialmente el aceite de pescado, son la principal fuente de entrada del aldrín y la dieldrina en la alimentación animal (especialmente los provenientes del hemisferio norte del planeta; niveles de $< 50 \mu\text{g}/\text{kg}$). Por el contrario, la harina de pescado presenta en general niveles más bajos.

En el caso de las otras materias primas de origen animal, es la grasa el producto que contiene habitualmente niveles más elevados. En este sentido, en un estudio realizado en Polonia a finales de los años 80 para evaluar los niveles encontrados en grasa de aldrín y dieldrina en especies domésticas, se concluyó que la mayoría de muestras se contenían niveles de dieldrina, aunque no de aldrín, de hasta $9,1 \mu\text{g}/\text{kg}$ de grasa (EFSA, 2005). Por el contrario, las materias primas de origen vegetal sólo ocasionalmente muestran niveles de aldrín próximos a los límites de detección ($2-10 \mu\text{g}/\text{kg}$).

Puesto que el uso de aldrín ha sido restringido cada vez más a nivel mundial durante los últimos 25 años, la frecuencia de detección y los niveles determinados en el pienso y los productos alimenticios, especialmente de origen vegetal, son generalmente bajos y presumiblemente seguirán decreciendo. Sin embargo, no se puede excluir que las materias primas destinadas a la alimentación animal de países en los que el aldrín no está, o ha sido recientemente, prohibido puedan contener niveles elevados de pesticida.

Introducción en la cadena alimentaria por productos alimenticios de origen animal

Como se ha comentado anteriormente, debido a la prohibición del aldrín y la dieldrina en la mayoría de países europeos y del resto del mundo, la exposición en los humanos está disminuyendo progresivamente. Además a la rápida conversión del aldrín a dieldrina en el ambiente, hace que el aldrín no se considere un contaminante importante en la dieta humana.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



Sin embargo, y como ya se ha indicado en el apartado anterior, los productos alimenticios de origen animal son la principal fuente de entrada de la dieldrina en la cadena alimentaria. Entre ellos destacan productos con elevado contenido en grasa como son: el pescado, la leche y la carne, siendo el pescado, y especialmente el aceite de pescado, los más importantes.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------|--|--|
| Aldrín (*) | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y aceites – Piensos para peces | 0'01 (**) 0'1 (**) 0'02 (**) |
| Dieldrina (*) | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y aceites – Piensos para peces | 0'01 (**) 0'1 (**) 0'02 (**) |

(*) Sólo o combinado calculado en forma de dieldrina

(**) Nivel máximo de aldrín y dieldrina, solo o combinado, calculado en forma de dieldrina

Método de muestreo

La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

Los prerrequisitos para una determinación analítica fiable del aldrín y el dieldrina son: un proceso exhaustivo de extracción combinado con una meticulosa limpieza, una eficiente separación y una detección sensible. La cromatografía capilar de gases junto con el detector

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

de captura de electrones (GC/ECD) es el método analítico utilizado para la determinación del aldrín y la dieldrina, esto se debe a la alta electro negatividad causada por los seis átomos de cloro de ambos compuestos. Además, este método no sólo diferencia entre el aldrín y los esteroisómeros de aldrín, sino que separa estos compuestos de posibles co-extractos que pudieran interferir. Una eficiente separación de aldrín y dieldrina de otros compuestos que interfieren, tales como otros pesticidas organoclorados y policlorobifenilos (PCBs) es especialmente importante cuando se usa CG/ECD. El uso de separación por cromatografía de gases en dos columnas capilares de diferente polaridad es obligatoria en los métodos de seguimiento rutinarios. Se pueden superar los problemas potenciales de coelución aplicando cromatografía de gases combinada con capilaridad/espectrometría de masas (GC/MS) incluso con impacto de electrón (EI) o ionización química negativa (NCI) como un método alternativo. Aunque siendo más selectivos y suministrando la posibilidad de usar compuestos etiquetados de isótopo como estándar internos ideales, el método CG/MS no ofrece necesariamente una alta sensibilidad comparado con el GC/ECD. Es importante prestar especial atención a los métodos de limpieza con el fin de evitar pérdidas, debido a que existen tratamientos de limpieza agresivos, tales como tratamientos con ácido sulfúrico concentrado. Varios estudios han demostrado que las muestras sometidas a este tipo de limpiezas pueden dar lugar a pérdidas completas de dieldrina.

Bibliografía

- EFSA, 2005. The EFSA Journal. 2005. 285, 1-43.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

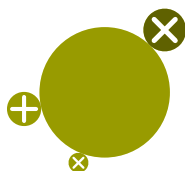
CANFECLORO

Evaluación del riesgo

Descripción del elemento y efectos perjudiciales en los animales

El canfecloro (IUPAC) es un insecticida no-sistémico con acción acaricida con aplicación principalmente en cultivos y animales. Ha sido uno de los pesticidas más utilizados en todo el mundo y sustituyó a los DDT a principios de los años 70. Actualmente, su utilización está prohibida en la mayoría de países en el mundo.

El canfecloro técnico utilizado en estos pesticidas muestra una composición muy compleja, con al menos 202 componentes diferentes identificados. Este hecho, sumado a su persistencia



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



(POPs) y propiedades químicas ha provocado que su distribución en el ambiente sea muy amplia. Asimismo, su biotransformación ambiental y acumulación en el medio acuático, ha desencadenado concentraciones bastante elevadas de ciertos congéneres de canfecloro en los peces, mamíferos y pájaros marinos (básicamente los congéneres CHB 26, 50 y 62, los cuales son utilizados habitualmente como indicadores de la contaminación por canfecloro).

El canfecloro se absorbe rápidamente desde el tracto gastrointestinal y se distribuye en la porción lípida del organismo. Es capaz de atravesar la placenta y parece tener capacidad para transferirse a la leche en humanos y animales. Los principales efectos tóxicos en los animales son neurotóxicos, aunque también se han observado efectos adversos en hígado, tiroides y sistema inmune. Los peces parecen ser los animales más sensibles a sus efectos tóxicos, seguido de los mamíferos jóvenes. En la Tabla I se muestran los niveles tóxicos según diferentes especies animales.

Tabla I. Niveles tóxicos de canfecloro en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2005).

| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS |
|--|--|
| Peces | 0,02 mg/kg PC/d. (LOAEL) |
| Rumiantes vacuno ovejas y cabras | 5-35 mg/kg PC/d 25 mg/kg PC/d |
| Cerdos | no existen datos de toxicidad por intoxicación oral |
| Aves | 0,05 mg/kg PC/d. (LOAEL) |

Presencia de canfecloro en las materias primas destinadas a la alimentación animal

Existen muy pocos datos respecto a la contaminación de las materias primas destinadas a la alimentación animal con canfecloro. Además, los resultados obtenidos a mediados de los años 90 por distintas fuentes se expresaron como canfecloro total y no pueden ser interpretados fácilmente o compararse con resultados más recientes en los que, para la cuantificación del canfecloro, se han seleccionado congéneres individuales.

En general, la mayor parte de estudios indican que son los productos derivados del pescado (y especialmente el aceite de pescado) los que presentan niveles más elevados de contamina-

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

ción por canfecloro (Tabla 2). De hecho, algunos autores han observado la presencia ubicua de canfecloro en algunas especies de peces en ciertas regiones de Europa (de Geus y col., 1999), y especialmente en peces marinos con un contenido en grasa de moderado a alto.

Tabla 2. Concentraciones de congéneres de canfecloro ($\mu\text{g}/\text{kg}$) en productos derivados del pescado (EFSA, 2005).

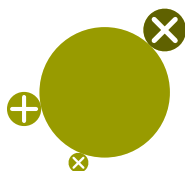
| | CHB 26 (MIN-MAX/MEDIA) | CHB 50 (MIN-MAX/MEDIA) | CHB 62 (MIN-MAX/MEDIA) |
|---|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Harina de Pescado (n=3) | 1,0-1,7/1,2 | 2,1-4,7/2,5 | 1,4-3,9/1,7 |
| Harina de Pescado Hemisferio Norte (n=20) | 0,23-4,5/0,97 | 0,46-8,6/1,5 | <5,0 |
| Harina de pescado Hemisferio Sur (n=3) | Media: 0,20 | Media: 0,32 | <1,0 |
| Aceite de Pescado (n=35) | < 1-35/9,7 | <1-84/22 | <1-47/14 |

En el caso de la alimentación del pescado, debemos tener en cuenta que, en algunos casos (peces carnívoros: salmón, trucha) un 70% de la dieta puede estar constituido por harina y aceite de pescado. Además, otra vía de entrada para los peces también puede ser a través del agua, por lo que en estos animales el control de presencia de canfecloro debería ser más exhaustivo.

Debido a los bajos niveles de canfecloro encontrados en las plantas, en los estudios realizados en materias primas vegetales realizados en la última década en Europa sólo ocasionalmente se han observado niveles significativos de canfecloro. En este sentido, en un estudio llevado a cabo por Peter Furst (2004) para determinar la presencia de canfecloro en cereales, semillas oleaginosas, raíces, piensos completos y minerales los tres principales congéneres del canfecloro no se pudieron detectar en un límite de detección de $1 \mu\text{g}/\text{kg}$.

Repercusiones en la cadena alimentaria

Al igual que en el caso de los animales, la principal vía de introducción del canfecloro en la cadena alimentaria es a través de la ingestión de pescado con elevados niveles de grasa. Se considera al resto de alimentos de origen animal contribuyen poco en la ingestión diaria de este pesticida en la población humana.



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|--|
| Canfecloro (toxafeno) suma de los congéneres indicadores CHB 26, 50 y 62 ⁽¹⁾ | – Peces, otros animales acuáticos, sus productos y subproductos, excepto el aceite de pescado | 0'02 |
| | – Aceite de pescado ⁽²⁾ | 0'2 |
| | – Piensos para peces ⁽²⁾ | 0'05 |

⁽¹⁾ Sistema de numeración con arreglo a Parlar, con el prefijo "CHB" o "Parlar":

- CHB 26: 2-endo,3-exo,5-endo, 6-exo, 8,8,10,10-octoclorobornano,
- CHB 50: 2-endo,3-exo,5-endo, 6-exo, 8,8,9,10,10-nonaclorobornano,
- CHB 62: 2,2,5,5,8,9,9,10,10-nonaclorobornano.

⁽²⁾ A más tardar el 31 de diciembre de 2007 se revisarán los niveles a fin de reducir los niveles máximos

Método de muestreo

La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

Los prerequisites para realizar la determinación de los congéneres del canfecloro son: una extracción exhaustiva combinada con una meticolosa limpieza y una detección sensible. Actualmente, se utiliza para la detección del canfecloro el método de cromatografía de gases de alta resolución con el detector de captura de electrones (GC/ECD) o preferiblemente

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

cromatografía de gases de alta resolución acoplada a espectrometría de masas (GC/MS) con el electrón impactado (EI) o el método de ionización química de ión negativo (NICI) realizado con los métodos analíticos a elección. Los parámetros críticos para el análisis mediante GC son la temperatura del inyector y la polaridad de la columna capilar. Altas temperaturas y separaciones altamente polares GC de la columna pueden permitir la descomposición de los congéneres específicos de canfecloro. Una eficiente cromatografía de gases da lugar a una separación de un amplio número de congéneres, así como su separación de otros componentes organoclorados que interfieren en el proceso, tales como policlorobifenilos (PCBs), sobre todo cuando se utiliza GC/ECD. El uso de hesrt-cut multidimensional cromatografía de gases (MDGC) ofrece una posibilidad para vencer los problemas de co-elucion por transferencia de hesrt cuts desde una GC separando entre una primera columna a otra segunda columna más polar. Los problemas de coelucion de los congéneres del canfecloro con otros compuestos organohalogenados que interfieren en la extracción, pueden resolverse aplicando metodologías de GC/MS. Sin embargo, incluso usando esta técnica, podemos tener estos problemas debido a las factores divergentes de reacción, la determinación de un congener específico sólo puede ser desarrollada si los compuestos respectivos están disponibles como estándares definitivos para calibración.

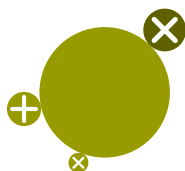
Bibliografía

- EFSA, 2005. The EFSA Journal. 2005. 179, 1-39.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- De Geus, H.J., Besselink, H., Brouwer, A., Klungsøyr, J., McHugh, B., Nixon, E., Rimkus, G.G., Wester, P.G. and de Boer, J. 1999. Environmental occurrence, analysis and toxicology of toxaphene compounds. Environ. Health Perspect. 107, 115-144.
- Fürst, P. 2004. Personal communication.

CLORDÁN

Evaluación del riesgo

Ver introducción pesticidas organoclorados.



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|--|--|
| Clordán (suma de los isómeros cis y trans y del oxiclor-dano, calculada en forma de clordán) | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y aceites | 0'02 0'05 |

Método de muestreo

La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

La técnica Elisa implica la interacción de antígenos organoclorados con los anticuerpos monoclonales de elevada especificidad ligados a la superficie de los micro pocillos.

La muestra es extraída con agua y sobre el extracto se realiza el test Elisa. La lectura del color desarrollado por el test puede leerse a simple vista o con la ayuda de un espectrofotómetro para resultados cuantitativos.

Los resultados obtenidos se refieren al total de ciclodienos clorados en la muestra.

Bibliografía

– REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

DDT

Evaluación del riesgo

Ver introducción pesticidas organoclorados.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|--|
| DDT (suma de los isómeros de DDT, TDE y DDE, calculada en forma de DDT) | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y grasas | 0'05 0'5 |

Método de muestreo

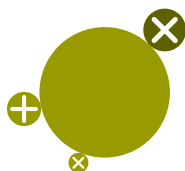
La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

A la hora de determinar el contenido de DDT, es importante conocer el origen de la materia prima, si es de origen animal o vegetal, ya que los procesos de extracción y limpieza pueden variar considerablemente. Además, los procesos de limpieza basados en el uso de ácido sulfúrico concentrado y/o saponificación alcalina deben ser evitados cuando se analiza el DDT. La saponificación alcalina de extractos permite una conversión parcial del DDT a DDE. El DDE puede formarse también durante el tratamiento los extractos con ácido sulfúrico si el dicofol, un acaricida organoclorado autorizado que es estructuralmente similar al DDT, está presente en la muestra.



Debido a la alta electronegatividad causada por el cuarto o quinto átomo de cloro del DDT y los compuestos relacionados, el método analítico ampliamente utilizado para la determinación del DDT es la cromatografía de gases de alta resolución con el detector de captura de electrones (HRGC/ECD). Este método, no sólo sirve para diferenciar entre los varios análogos y metabolitos del DDT, sino para separarlos de los posibles coextractos que interfieren.

Una eficiente separación del DDT y sus compuestos relacionados de otras sustancias que interfieren, tales como otros pesticidas organoclorados y policlorobifenilos es especialmente importante cuando se utiliza HRGC/ECD. Es necesario el uso de la cromatografía de gases separada en dos columnas capilares de diferente polaridad en programas de seguimiento rutinarios. Los problemas de coelución pueden ser superados aplicando combinaciones de cromatografía de gases de alta resolución con espectrometría de masas (HRGC/MS) ambos de ellos con impacto de electrones (EI) o ionización química negativa (NCI).

Por otro lado, y revisando los métodos de la AOAC se emplea el método 958.22 para vegetales que se basa también en la cromatografía de gases.

Bibliografía

– REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

DIOXINAS Y PCBS SIMILARES A LAS DIOXINAS

Evaluación del riesgo

Descripción del elemento y efectos adversos en los animales

Con el nombre “dioxinas” normalmente se agrupa a un amplio grupo de sustancias (policlorodibenzodioxinas, PCDD) que pertenecen a la familia de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (POPs) los cuales se caracterizan por ser altamente estables frente a la degradación, por lo que tienden a acumularse en el medio ambiente, persistiendo inalterados mucho tiempo. Conviene resaltar que las dioxinas poseen una estructura similar a otros dos grandes grupos componentes de esta familia de POPs, como son los Policlorodibenzofuranos (PCDF) y los Policlorobifenilos (PCB).

Para todos estos agentes, se puede considerar que el número y posición de los átomos de cloro en su molécula será el principal determinante de su mayor o menor toxicidad. En este sentido, los congéneres que poseen de 4 a 6 átomos de cloro en su molécula, especialmente en las posiciones 2, 3, 7 y 8 (y muy particularmente la 2,3,7,8-tetraclodibenzo-p-dioxina o TCDD)

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

son los más tóxicos. Así de todas las “dioxinas” posibles, 17 tienen importancia toxicológica, mientras que las 193 restantes contribuyen poco a la toxicidad total de la mezcla. Es importante aclarar que para determinar la concentración de los PCDD verdaderamente tóxicos se ha establecido una unidad, la TEF (acrónimo inglés de “Toxic Equivalency Factors”) basada en referir a la potencia de la 2,3,7,8-TCDD el valor máximo de toxicidad, 1, de forma que los otros congéneres poseerán un valor inferior; situado entre 0,1 y 0,001. Dicha nomenclatura ha sido adaptada a la nomenclatura española, de forma que en la legislación vigente se habla de EQT o “Equivalente Tóxico” de una mezcla, que se calcula hallando el sumatorio de la concentración de los distintos isómeros encontrados para una muestra en concreto (en este caso pienso), multiplicados por el factor de toxicidad relativa (TEF) de cada uno de los elementos.

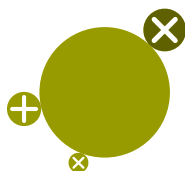
Aves y peces son más sensibles que los mamíferos a la exposición por PCDD. Las aves domésticas tienen una DL_{50} para la 2,3,7,8-TCDD de 25-50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso vivo (Eisler, 1986), mientras que en el caso de los peces es de 2-23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso vivo. En los mamíferos los efectos son más variables según la especie. Los efectos típicos de la intoxicación aguda son pérdida de peso, disminución del tamaño del timo, seguido de la muerte 3 semanas después. Otros efectos observados en los mamíferos son fotosensibilidad, decoloración de la piel, erupciones, pérdida de pelo, trastornos hormonales y de reproducción, daños hepáticos y diabetes. A largo plazo, la exposición a las dioxinas afecta al sistema inmunitario y puede derivar en la formación de tumores y carcinomas.

PCBs similares a las dioxinas

Los PCB pertenecen al grupo de hidrocarburos clorados que se sintetizan directamente a partir del bifenilo y como las dioxinas también pertenecen a la familia de los POPs. Dependiendo del número de átomos de cloro (de 1 a 10) y su posición en los dos anillos hay 209 compuestos, denominados también congéneres. De ellos, 12 son tóxicos, los comúnmente llamados PCBs similares a las dioxinas (dioxin-like PCBs). En este sentido, los efectos biológicos de este tipo de PCBs son muy parecidos al de las dioxinas.

Presencia en las materias primas destinadas a la alimentación animal

Las dioxinas no se producen específicamente con fines industriales sino que aparecen en general como impurezas generadas en gran cantidad de procesos industriales que implican cloro, carbono y calor; como por ejemplo en la producción de clorofenoles y PCBs. Sin embargo, también es posible, aunque siempre a bajas concentraciones, su generación de forma espontánea en distintos procesos naturales.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



Las dioxinas que se liberan se reparten al azar en aire, agua y suelo. En todos los casos, tienden a quedar fijadas en los sedimentos donde generalmente se fijan a las partículas quedando relativamente inmóviles gracias a su insolubilidad en agua.

La principal vía de exposición de los animales, al margen de la inhalación, es sin duda la oral principalmente a través de la ingesta de suelo contaminado (animales criados al aire libre), a través de agua, la cama (serrín) y el pienso. En cuanto a la presencia de dioxinas en las materias primas destinadas a la alimentación animal los datos disponibles son escasos, y en este caso se basan principalmente en los datos publicados por el SCAN en el año 2000 en base a los datos ofrecidos en los controles oficiales realizados en los diferentes Estados Miembros (Tabla I).

Tabla I. Concentraciones de dioxinas (ng WHO-EQT/kg MS) en forrajes y otras materias primas (SCAN, 2000).

| | MEDIA | MÍNIMO | MÁXIMO |
|--|--------------|---------------|---------------|
| Forrajes | 0,2 | 0,1 | 6,6 |
| Cereales y semillas | 0,1 | 0,01 | 0,4 |
| Subproductos vegetales | 0,1 | 0,02 | 0,7 |
| Aceites vegetales | 0,2 | 0,1 | 0,5 |
| Harina de Pescado Pacífico Sur | 0,14 | 0,02 | 0,7 |
| Harina de Pescado Europeo | 1,2 | 0,04 | 5,6 |
| Aceite de pescado Pacífico Sur | 0,61 | 0,16 | 2,6 |
| Aceite de Pescado Europeo | 24 | 3,5 | 100 |
| Grasa animal | 1 | 0,5 | 3,3 |
| Harina de carne y hueso | 0,2 | 0,1 | 0,5 |
| Reemplazantes lácteos | 0,12 | 0,06 | 0,48 |
| Aglomerantes y antiapelmazantes. Minerales | 0,2 | 0,1 | 0,5 |
| Elementos traza y minerales | 0,2 | 0,1 | 0,5 |

Según los datos que se muestran en la Tabla I, las materias primas destinadas a la alimentación animal con mayor riesgo de contaminación por dioxinas son los productos de origen animal y principalmente las harinas y aceites de pescado, mientras que en los productos vegetales presentan concentraciones más moderadas. Sin embargo, se debe tener en cuenta que según

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

la localización geográfica de los cultivos vegetales (especialmente si son próximos a áreas industriales) puede darse casos de elevadas contaminaciones locales.

PCBs similares a las dioxinas

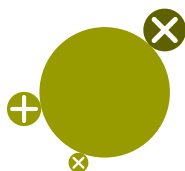
A diferencia de las dioxinas, los PCBs se producen para uso industrial. Son productos cuyas propiedades físico-químicas como no inflamabilidad, estabilidad, alto punto de ebullición, baja conductividad, etc les hacen de gran interés en aplicaciones industriales como fluidos aislantes, pigmentos. Sin embargo, debido a su elevada toxicidad, la fabricación, procesado y distribución de los PCBs ha sido prohibida en la mayoría de países, aunque su liberación al medio ambiente no está del todo excluida debido a fallos de los dispositivos o fugas en los sistemas industriales. Además, es importante destacar que las mezclas de PCBs contienen una cierta cantidad de dioxinas formadas como productos no deseados durante la síntesis.

Aunque existen pocos estudios en relación a la presencia de los PCB similares a las dioxinas en las materias primas destinadas a la alimentación animal cabría esperar una distribución parecida a la observada en las dioxinas.

Repercusión en la cadena alimentaria

Como en el caso de los animales, la entrada principal de las dioxinas y los PCBs similares a las dioxinas en las personas es a través de la alimentación (en más de un 95%). Estos productos se depositan en los tejidos grasos de los animales y en sus órganos a lo largo de la cadena trófica y su grado de acumulación será tanto mayor cuanto mayor sea su vida (biomagnificación) siendo el hombre el final de dicha cadena trófica y por lo tanto el que más puede sufrir este fenómeno. Calcular los factores de transferencia de las dioxinas y los PCBs similares a las dioxinas del pienso a los alimentos de origen animal depende de la capacidad de acumulación de los congéneres y su biodisponibilidad en la materia prima por lo que su cálculo no siempre es fácil y además no existe estandarización de métodos y unidades.

Sin embargo, lo que si se puede afirmar es que los productos de origen animal tienen un importante papel como vía de introducción de estos productos en la alimentación humana. En este sentido, según estudios elaborados en nuestro país (Fernández y col., 2004) de la ingesta diaria de dioxinas para un español de 70 kg (1,35 de EQT/kg/día) la carne y los productos cárnicos aportarían hasta el 35%, seguidos de la leche y los productos lácteos (29%), aceites vegetales (19%), pescados y productos marinos (11%) y huevos (4%).



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--|---|--|
| a). Dioxina (suma de policloro dibenzoparadioxinas (PCDD) y policlorodibenzofuranos [PCDF] expresada en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud (EQT-OMS), utilizando los factores de equivalencia de tóxica de la misma organización (FET-OMS, 1997)) | Materias primas para la alimentación animal de origen vegetal, excepto los aceites vegetales y sus subproductos. | 0,75 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Aceites vegetales y sus subproductos. | 0,75 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Materias primas para la alimentación animal de origen mineral. | 1,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Grasa animal, incluida la grasa de leche y la grasa de huevo. | 2,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Otros productos de animales terrestres, incluidos la leche y los productos lácteos y los huevos y los ovoproductos. | 0,75 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Aceite de pescado. | 6,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Pescados, otros animales acuáticos, sus productos y subproductos, excepto el aceite de pescado y los hidrolisatos de proteínas de pescado que contengan más de un 20% de grasa ^(****) . | 1,25 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Hidrolisatos de proteínas de pescado que contengan más de un 20% de grasa. | 2,25 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Los aditivos, arcillas caoliniticas, sulfato de calcio dihidratado, vermiculita, natrolita-fonolita, aluminatos de calcio sintéticos y clinoptilolita de origen sedimentario pertenecientes al grupo de los ligantes o aglomerantes y antiaglomerantes. | 0,75 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Aditivos pertenecientes al grupo funcional de los compuestos de oligoelementos. | 1,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Premezclas. | 1,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Piensos compuestos, excepto los piensos para animales de peletería, de compañía y para peces. | 0,75 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |
| | Piensos para peces. Alimentos para animales de compañía. | 2,25 ng EQT PCDD/F OMS/kg ^{(1) (2)} |

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

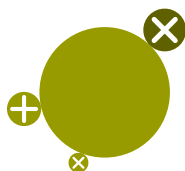
| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--|---|--|
| b). Suma de dioxinas y de PCB similares a las dioxinas [suma de policloro dibenzoparadoxinas (PCDD), policlorodibenzofuranos (PCDF) y bifenilos policlorados (PCB)] expresada en equivalentes tóxicos de la Organización Mundial de la Salud (EQTOMS), utilizando los factores de equivalencia de toxicidad de la misma organización (FET-OMS, 1997) | Materias primas para la alimentación animal de origen vegetal, excepto los aceites vegetales y sus subproductos. | 1,25 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Aceites vegetales y sus subproductos. | 1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Materias primas para la alimentación animal de origen mineral. | 1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Grasa animal, incluida la grasa de leche y la grasa de huevo. | 3,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Otros productos de animales terrestres, incluidos la leche y los productos lácteos y los huevos y los ovoproductos. | 1,25 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Aceite de pescado. | 24,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Pescados, otros animales acuáticos, sus productos y subproductos, excepto el aceite de pescado y los hidrolisatos de proteínas de pescado que contengan más de un 20% de grasa. | 4,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Hidrolisatos de proteínas de pescado que contengan más de un 20% de grasa. | 11,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Aditivos pertenecientes al grupo funcional de los compuestos de los ligantes o aglomerantes y antiaglomerantes. | 1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Aditivos pertenecientes al grupo funcional de los compuestos de oligoelementos. | 1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Premezclas. | 1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| | Piensos compuestos, excepto los piensos para animales de peletería, de compañía y para peces. | 1,5 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ |
| Piensos para peces. Alimentos para animales de compañía. | 7,0 ng EQT PCDD/F OMS/kg ⁽¹⁾ | |

⁽¹⁾ Concentraciones del límite superior; las concentraciones del límite superior se calculan dando por sentado que todos los valores de las diferentes sustancias afines que estén por debajo del límite de detección son iguales a este límite.

⁽²⁾ El contenido máximo específico para las dioxinas (PCDD/F) sigue siendo aplicable durante un período de tiempo determinado. Durante dicho período temporal, los productos destinados a la alimentación animal mencionados en el punto 27 a) deben cumplir los contenidos máximos de dioxinas y los contenidos máximos de la suma de dioxinas y PCB similares a las dioxinas.

Método de muestreo

La legislación establece un método de toma de muestras oficial para las dioxinas y los policlorobifenilos que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata del Real Decreto 604/2003, de 23 de mayo, por el que se establecen los métodos de toma de mues-



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



tras y de análisis para el control oficial de las dioxinas y la determinación de policlorobifenilos (PCB) similares a las dioxinas en los productos alimenticios.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales

Método de análisis

Método no oficial

Mediante las técnicas de cromatografía de gases de alta resolución y detectores de espectrometría de masas (HRGC-HRMS) se determina el perfil de dioxinas, especialmente las 2,3,7,8-sustituidas. US EPA Dibenzodioxinas Policlorinadas (PCDD) y Dibenzofuranos Policlorinados (PCDF) por cromatografía de gases de alta resolución y espectrometría de masas de alta resolución (HRGC-HRMS)

Las dioxinas normalmente se encuentran completamente mezcladas en composiciones diferentes de matrices. Esto requiere un análisis altamente sofisticado para su determinación, porque es indispensable separar los congéneres tóxicos de los no tóxicos. Normalmente, PCDDs/PCDFs son determinados por métodos de capilaridad- CG/MS (cromatografía de masas/ espectrometría de masas). Para el caso de materias primas utilizadas en alimentación animal es necesaria la aplicación de espectrometría de masas de alta resolución.

Métodos de bioensayo han sido desarrollados como métodos rápidos de screening. Estos bioensayos pueden dar sólo el rango de TEQ como resultado final, pero no pueden suministrar los valores de los congéneres específicos.

Bibliografía

- European Commission. 2000. Opinion of the SCAN on the Dioxin contamination of feedstuffs.
- Eisler, R. 1986. Biological Report 85. 36 pp.
- Fernández, M.A., Gomara, B., Bordajandi, L.R., Herrero, L., Abad, E., Abalos, M., Rivera, J., González, M.J. 2004. Dietary intakes of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in Spain. Food Addit. Contam. 21 (10): 983-91.
- FET-OMS, 1997. Factores de Equivalencia de Toxicidad (FET) para PCB y no-ortho y mono-ortho sustituidos (OMS 1997)
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.



ENDOSULFÁN

Evaluación del riesgo

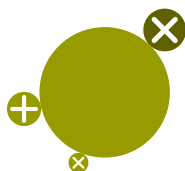
Descripción del elemento y efectos perjudiciales en los animales

El endosulfán es un pesticida organoclorado no-sistémico que fue desarrollado e introducido a mediados de los años 50. Sus principales aplicaciones se han centrado en el control de insectos en cultivos vegetales, así como para el control de parásitos en el ganado. El endosulfán consiste básicamente en esteroisómeros alfa y beta (70:30) que pueden ser metabolizados a sulfato de endosulfán y endosulfán diol (susceptibles a la luz). En la actualidad la utilización de endosulfán en cultivos vegetales está prohibido en la Unión Europea.

La liberación de endosulfán en el medioambiente ha sido principalmente el resultado de su utilización como pesticida por lo que se puede encontrar en la atmósfera, el suelo y los sedimentos. La absorción de este producto por parte de las plantas a través del suelo, así como el transporte en el interior de las mismas, se considera negligible. Asimismo, y contrariamente a otros pesticidas organoclorados, el endosulfán presenta una afinidad menos pronunciada para los lípidos. En consecuencia, los fenómenos de biomagnificación y acumulación del endosulfán en la cadena alimentaria terrestre se consideran poco probables.

El endosulfán se absorbe rápidamente vía tracto gastrointestinal y se distribuye principalmente en riñones, hígado y tejidos grasos. Aunque se han observado distribuciones diferentes según los isómeros y metabolitos. La transferencia de residuos a la leche o los huevos es muy limitada. Entre los principales efectos tóxicos en los animales, y los humanos, destaca su efecto neurotóxico, aunque también se ha observado toxicidad en el hígado y el riñón, efectos hematológicos, alteraciones del sistema inmune y en órganos reproductivos. La sensibilidad a la exposición al endosulfán puede variar según la especie, raza, edad, género, estatus sanitario y la vía de exposición. En general, son los peces los que muestran una sensibilidad más elevada cuando la exposición de endosulfán es a través del agua. En la Tabla I se muestran los niveles tóxicos según diferentes especies animales.

Tabla I. Niveles tóxicos de endosulfán en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2005).



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS (KG DIETA) |
|----------------|----------------------------|
| Peces | 100 µg |
| Rumiantes | 1,1 mg/kg PC |
| Cerdos | no existen datos |
| Aves | 30 mg |
| Conejos | 0,7 mg/kg PC/d (NOAEL) |

Presencia de endosulfán en materias primas destinadas a la alimentación animal

Aunque el endosulfán pertenece a uno de los grupos de sustancias indeseables analizadas de forma rutinaria en las materias primas destinadas a la alimentación animal en la UE, en general se disponen de pocos datos sobre su concentración en el pienso debido a que en los informes que los Estados miembros remiten a la CE los resultados se presentan de forma condensada y sólo es necesario determinar si el producto cumple o no con la normativa.

Entre los citados estudios realizados a nivel europeo, se destaca que, en general, no se encuentran niveles por encima de los permitidos ni en los productos de origen vegetal ni animal. En este sentido, los pocos datos disponibles indican que en la mayoría de materias primas, incluyendo los productos derivados del pescado, sólo se han detectado un número limitado de muestras que contenían residuos (generalmente por debajo de 1 µg/kg de producto; EFSA, 2005).

En conclusión, y según los pocos datos disponibles de exposición de los animales a través de la alimentación, siguiendo buenas prácticas agrícolas, no se cree probable que los animales domésticos puedan estar expuestos a dosis suficientes que pudieran causar efectos tóxicos. Además su prohibición reciente en la mayoría de países de la Unión Europea hacen prever que estos niveles seguirán disminuyendo en el futuro.

Repercusiones en la cadena alimentaria

La principal vía de exposición al endosulfán en los humanos es la ingestión de alimentos y el consumo de tabaco con residuos de endosulfán (ATSDR, 2000). Los principales productos implicados parecen ser los de origen animal y principalmente las vísceras (30%), el pescado y productos derivados (28%) aunque las concentraciones en ambos tipos de productos son bajas (hasta 15 µg/kg de muestra; EFSA, 2005).

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--|--|--|
| Endosulfán (suma de los isómeros alfa y beta y del sulfato de endosulfán, calculada en forma de endosulfán) | Todos los piensos, excepto: | 0'1 |
| | – Maíz y productos a base de maíz derivados de su transformación. | 0'2 |
| | – Semillas oleaginosas y productos derivados de su transformación, excepto los aceites vegetales crudos. | 0'5 |
| | – Aceite vegetal crudo. – Pienso completos para peces. | 1'0 0'005 |

Método de muestreo

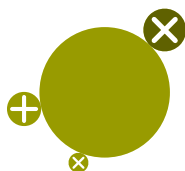
La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

Los análisis de los residuos del endosulfán en muestras de piensos deben incluir la detección de α y β endosulfán más la mayor degradación de endosulfán sulfato. Actualmente, la cromatografía de gases de alta resolución junto con el detector de captura de electrones (GC/ECD) o la detección de espectrometría de masas (GC/MS) después de la extracción de la muestra con solventes orgánicos, varios pasos de limpieza para remover los lípidos y otros posibles co-extractos, son los métodos analíticos elegidos. Estos métodos no sólo permiten diferenciar entre los diferentes isómeros sino también, separarlos de posibles co-extractos superpuestos. Una eficiente separación de los dos isómeros de endosulfán y del endosulfán sulfato de otros compuestos que pueden interferir; tales como pesticidas organoclorados y



policlorobifenilos (PCBs), es especialmente importante. En los programas de seguimiento rutinario se comprueba que es necesario por tanto la cromatografía de gases separada en dos columnas capilares de diferente polaridad.

Bibliografía

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2000. Toxicological profile for endosulfan. Atlanta GA, USA.
- EFSA, 2005. The EFSA Journal. 2005. 234, 1-31.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

ENDRÍN

Evaluación del riesgo

Descripción del elemento y efectos adversos en los animales

El endrín (1,2,3,4,10,10-hexacloro-6,7-epoxi-1,4,4 α ,5,6,7,8 α -octahidro-1,4-endo-endo-5,8-dimetano-naftalina) es un pesticida organoclorado soluble en grasa (POPs) utilizado para el control de los insectos, roedores y pájaros. Este pesticida fue utilizado durante los años 50 hasta mediados de los años 80, aunque en la actualidad está prohibido su uso en la mayoría de países a nivel mundial. El endrín se transforma parcialmente en delta-ketoendrín en el ambiente y puede transportarse a largas distancias.

En animales y personas, el endrín se absorbe rápidamente por vía gastrointestinal siendo ahí metabolizado en su mayor parte, por lo que a diferencia de otros insecticidas organoclorados, su acumulación en tejido adiposo sólo se da de forma limitada en los mamíferos. En este sentido, el endrín es uno de los pesticidas clorados con efectos tóxicos agudos más graves. Los principales efectos en los animales implican el sistema nervioso. No se han demostrado ni efectos genotóxicos ni teratogénicos. La sensibilidad a la exposición al endrín puede variar según la especie, raza, edad, género, estatus sanitario y capacidad de deposición de grasa. Debido a que este producto se distribuye principalmente en el tejido adiposo, y los efectos críticos se dan en el sistema nervioso, los animales con baja deposición de grasa son más sensibles que animales con mayor deposición, ya que en este último caso las cantidades que llegan al sistema nervioso son más pequeñas. En la Tabla 1 se muestran niveles tóxicos de endrín en algunas especies animales.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

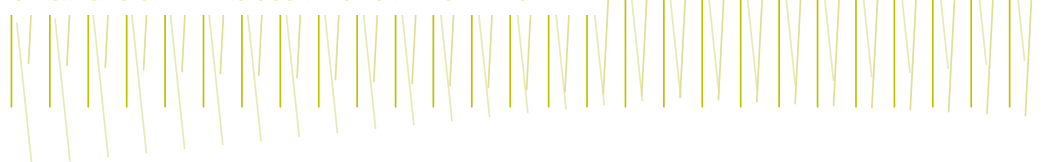


Tabla 1. Niveles tóxicos de endrín en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2005).

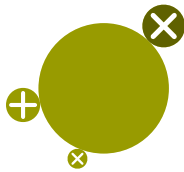
| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS (MG/KG DIETA) |
|----------------|----------------------------------|
| Peces | 0,2 mg (LOAEL) |
| Rumiantes | 5 mg (NOAEL) |
| Aves | 1 mg (NOAEL) |
| Cerdos | no existe información disponible |
| Conejos | 7 mg/kg PC (LD ₅₀) |

Presencia en las materias primas destinadas a la alimentación animal

Aunque el endrín pertenece a uno de los grupos de sustancias indeseables analizadas de forma rutinaria en las materias primas destinadas a la alimentación animal en la UE, en general se disponen de pocos datos sobre concentración en el pienso debido a que en los informes que los Estados miembros remiten a la CE los resultados se presentan de forma condensada y sólo es necesario determinar si el producto cumple o no con la normativa.

Entre los diferentes estudios realizados a nivel europeo, se destaca que en general no se encuentran niveles por encima de los permitidos ni en los productos de origen vegetal ni animal. La mayoría de los resultados presentados indican que los productos derivados del pescado, y especialmente el aceite de pescado, son la principal fuente de entrada de endrín en la alimentación animal (niveles de 1-10 µg/kg). Por el contrario, la harina de pescado presenta en general niveles más bajos. Asimismo, las materias primas de origen vegetal sólo ocasionalmente muestran niveles de endrín próximos a los límites de detección (2-10 µg/kg).

Puesto que el uso de endrín ha sido restringido cada vez más a nivel mundial durante los últimos 25 años, la frecuencia de detección y los niveles determinados en el pienso y los productos alimenticios, especialmente de origen vegetal, son generalmente bajos y presumiblemente seguirán decreciendo. Sin embargo, no se puede excluir que las materias primas destinadas a la alimentación animal de países en los que el endrín no es, o ha sido recientemente prohibido, pueda contener niveles elevados de pesticida.



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



En conclusión, y según los pocos datos disponibles de exposición de los animales a través de la alimentación, siguiendo buenas prácticas agrícolas, no se cree probable que los animales domésticos puedan estar expuestos a dosis suficientes que pudieran causar efectos tóxicos.

Repercusiones en la cadena alimentaria

Como se ha comentado anteriormente, debido a la prohibición del endrín y su baja tendencia a la bioacumulación en el ambiente, el potencial actual de exposición a la población general al endrín parece ser muy limitado y seguramente seguirá disminuyendo en el futuro. Aunque los estudios sobre niveles de endrín en productos alimenticios son limitados, en general, la detección en productos de origen animal está por debajo de los niveles permitidos en la normativa comunitaria.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|--|--|
| Endrín (suma del endrín y delactacetoendrín, calculada en forma de endrín). | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y aceites | 0'01 0'05 |

Método de muestreo

La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Método de análisis

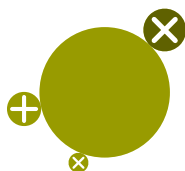
Método no oficial

Los prerequisites para realizar una determinación analítica de endrin son: una exhaustiva extracción combinada con una meticulosa limpieza, una eficiente separación y una detección sensible. Debido a la alta electro negatividad causada por seis átomos de cloro del endrin, la cromatografía de gases de alta resolución (HRGC) con detector de captura de electrones (ECD) es el método más ampliamente aplicado. Además, este método no sólo diferencia entre el esteroisómero de endrin, dieldrina, sino que también separa los posibles co-extractos que interfieren en el proceso de análisis del endrin. Es necesario tener cuidado en los métodos agresivos de limpieza para evitar las pérdidas causadas por los mismos, tal como tratamiento con ácido sulfúrico concentrado. Por ejemplo, después de la limpieza con ácido sulfúrico, más del 95% de endrin es destruido.

Una eficiente separación de endrin de otros componentes que interfieren, tal como otros pesticidas organoclorados y policlorobifenilos (PCBs) es especialmente importante cuando usas GC/ECD. Es necesario el uso de la cromatografía de gases separada en dos columnas capilares de diferente polaridad en programas de seguimiento rutinarios. Los problemas de coelución pueden ser superados aplicando combinaciones de cromatografía de gases de alta resolución con espectrometría de masas (HRGC/MS) cualquiera de ellos con impacto de electrones (EI) o ionización química negativa (NCI) considerado como un método alternativo. A pesar de ser más selectivos la GC acoplada con espectrometría de masas de baja resolución (LRMS) no necesariamente ofrece una alta sensibilidad comparada con la CG/ECD. En comparación con la LRMS, la aplicación de espectrometría de masas de alta resolución (HRMS) ofrece una alta sensibilidad. Una ventaja general de la espectrometría de masas con detección EI es la aplicación del método de isótopo diluido por el uso del isótopo estable etiquetado con estándar interno. Este método ofrece unas ventajas generales con respecto a la selectividad, manejo y fácil reconocimiento de problemas durante el proceso analítico.

Bibliografía

- EFSA, 2005. The EFSA Journal. 2005. 286, 1-31.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.



HEPTACLORO

Evaluación del riesgo

Ver introducción pesticidas organoclorados.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--|--|--|
| Heptacloro (suma del heptacloro y del heptacloroepóxido, calculada en forma de heptacloro) | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y aceites | 0'01 0'2 |

Método de muestreo

La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

La técnica Elisa implica la interacción de antígenos organoclorados con los anticuerpos monoclonales de elevada especificidad ligados a la superficie de los micro pocillos.

La muestra es extraída con agua y sobre el extracto se realiza el test Elisa. La lectura del color desarrollado por el test puede leerse a simple vista o con la ayuda de un espectrofotómetro para resultados cuantitativos.

Los resultados obtenidos se refieren al total de ciclodienos clorados en la muestra.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



Bibliografía

– REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

HEXACLOROBENCENO

Evaluación del riesgo

Descripción del elemento y efectos adversos

El Hexaclorobenceno (HCB) es un hidrocarburo aromático clorado que ha sido ampliamente utilizado desde los años 40 por sus aplicaciones como pesticida y químico industrial. Sin embargo, desde el año 1981, el uso de HCB como pesticida agrícola en la Comunidad Europea está prohibido, por lo que su producción industrial ha disminuido enormemente en las dos últimas décadas. Por contra, el HCB aún se utiliza en cierta medida como químico industrial y también se obtiene como subproducto de la fabricación industrial de químicos y diferentes formulaciones de pesticidas, lo que implica que este producto se sigue liberando en el medioambiente.

El HCB es un compuesto bastante volátil, altamente lipofílico y uno de los contaminantes medioambientales más persistentes (POPs). En este sentido, el HCB se encuentra de forma ubicua en el medioambiente y tiene la propiedad de bioacumularse y biomagnificarse en la cadena alimentaria.

Los peces y animales terrestres pueden estar expuestos al HCB a través de alimentos contaminados. Además, el HCB se absorbe de forma efectiva en humanos y animales. La sensibilidad a la exposición de HCB varía según la especie, raza, edad, género, estado sanitario y capacidad de deposición grasa. Puesto que el HCB se deposita y, en gran medida, es inmovilizado en los lípidos, los animales con baja deposición de grasa serán en general más susceptibles a la intoxicación por este compuesto respecto a los animales más engrasados. Por contra, el HCB muestra en general una baja toxicidad aguda en comparación con otros pesticidas organoclorados, por lo que su máximo riesgo se asocia con toxicidad crónica debido a una exposición y acumulación prolongadas. Los síntomas de una intoxicación aguda incluyen: convulsiones, temblores, debilidad, ataxia, parálisis y cambios patológicos en ciertos órganos. Entre los principales efectos derivados de una alimentación subcrónica de HCB encontraríamos: hepatotoxicidad (incluyendo porfiria y inducción enzimática del hígado), neurotoxicidad y disminución del peso corporal. En la Tabla 1 se muestran los niveles tóxicos del HCB según diferentes especies animales.

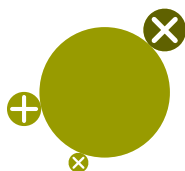


Tabla 1. Niveles tóxicos del HCB en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2006).

| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS |
|--------------------|--------------------------------------|
| Peces | >7 mg/kg pienso (NOAEL) |
| Rumiantes (ovejas) | >0,004 mg/kg PC/d (NOAEL) |
| Cerdos | 0,05 mg/kg PC/d (NOAEL) |
| Aves | 8 mg/kg PC/d (LOAEL) |
| Conejos | >2600 mg/kg PC/d (LD ₅₀) |

Presencia del HCB en materias primas destinadas a la alimentación animal

Aunque el HCB pertenece a uno de los grupos de sustancias indeseables analizadas de forma rutinaria en las materias primas destinadas a la alimentación animal en la UE, en general, se disponen de pocos datos sobre su concentración en el pienso debido a que en los informes que los Estados miembros remiten a la CE los resultados se presentan de forma condensada y sólo es necesario determinar si el producto cumple o no con la normativa.

Los datos disponibles de los citados estudios realizados a nivel europeo, indican que las materias primas de origen animal, especialmente los productos derivados del pescado, presentan generalmente niveles más elevados de contaminación en comparación con las materias primas de origen vegetal (a excepción de las semillas de calabaza). Sin embargo, la contaminación del pescado con HCB no parece ser tan prominente como en el caso de otros contaminantes organohalogenados. En este sentido, en la mayoría de estudios en los que se ha evaluado el nivel de contaminación del pescado por HCB en el continente Europeo los rangos observados han sido de 0,05 a 3,7 µg/kg peso fresco (EFSA, 2006).

En el caso de las materias primas de origen vegetal, su principal vía de contaminación con contaminantes orgánicos es a través del aire (mediante gas) o deposición de partículas. En este sentido, los vegetales y cultivos con elevada cantidad de superficie en hojas cerosas en áreas con elevadas emisiones de HCB estarán probablemente más contaminadas. Por contra, la absorción de contaminantes orgánicos persistentes a través de las raíces es generalmente baja debido a su poca solubilidad en agua. Sin embargo, algunos estudios han observado que el aceite de semillas de calabazas tiene una especial habilidad para la absorción de HCB a

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

través de sus raíces y su distribución a los brotes durante diferentes estados de crecimiento (Ecker y Horak, 1994). En este sentido, se ha observado una correlación positiva entre la concentración de HCB en el suelo y en la semilla de las calabazas de aceite (ej. 1,3-11,4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en la tierra y 20-280 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en la semilla).

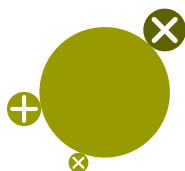
Repercusiones en la cadena alimentaria

Como POPs y contaminantes ambientales con un fuerte potencial para la bioacumulación, no es sorprendente que la principal vía de exposición de los humanos a los HCB sea a través de los alimentos de origen animal. En este sentido, la mayoría de estudios indican que son aquellos productos de origen animal que contienen grasa los principales alimentos implicados. Sin embargo, los datos analizados de los últimos estudios llevados a cabo a nivel europeo para evaluar el nivel de exposición de los humanos a los HCB a través de los alimentos (incluyendo la leche humana), indican que los niveles han bajado hasta un 90% en las últimas dos décadas. En este sentido, se cree que el margen de seguridad entre la dosis de HCB que puede causar tumores y la exposición actual en los humanos es muy elevado por lo que existe poca preocupación por la intoxicación con estos compuestos desde el punto de vista de salud pública.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------|--|--|
| Hexaclorobenceno (HCB) | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y aceites | 0'01 0'2 |



Método de muestreo

La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

Debido a la alta electronegatividad causada por los seis átomos de cloro del compuesto de hexaclorobenceno, la cromatografía de gases de alta resolución con detector de captura de electrones (HRGC/ECD) es el método analítico ampliamente utilizado para separar el hexaclorobenceno de otros posibles co-extractos que pueden interferir y para detectarlo con alta sensibilidad.

Una eficiente separación del hexaclorobenceno de otros compuestos que pueden interferir, tales con otros pesticidas organoclorados y policlorobifenilos (PCBs) es especialmente importante cuando se usa la HRGC/ECD. El uso de separación por cromatografía de gases en dos columnas capilares de diferente polaridad es obligatorio en los métodos de seguimiento rutinarios. Los problemas de coelución pueden también superarse si se aplica de forma combinada la cromatografía de gases de alta resolución junto con la espectrometría de masas (HRGC/MS) incluso con el electrón impactado o el modo de ionización química negativa.

Bibliografía

- EFSA, 2006. The EFSA Journal. 2006. 402, 1-49.
- Ecker, S., and Horak, O. 1994. Pathways of HCB-contamination to oil pumpkin seeds. *Chemosphere* 29: 2135-2145.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

HEXAFLOROCICLOHEXANO

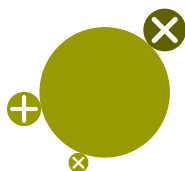
Evaluación del riesgo

Descripción del elemento y efectos perjudiciales en los animales

Los pesticidas organoclorados hexaclorhexanos (HCH), tal y como los conocemos como producto comercial o técnico, son una mezcla de varios isómeros de HCH, principalmente alfa, beta, delta y gamma (también conocido como lindano). Los HCH, y especialmente su isómero gamma (γ -HCH), han sido especialmente utilizados como insecticidas a nivel mundial en diferentes aplicaciones agrícolas, sin olvidar que el γ -HCH también se emplea en tratamientos médicos en personas y animales. Debido a las propiedades lipofílicas y su persistencia en el ambiente (POPs), los isómeros beta y alfa, y en menor medida el γ -HCH, han podido dar lugar a fenómenos de bioacumulación y biomagnificación a través de la cadena alimentaria. Aunque su uso ya está prohibido en la mayoría de países, en algunas regiones del mundo aún se siguen utilizando.

Los HCHs son rápidamente absorbidos a través del tracto gastrointestinal, atraviesan la placenta y se transfieren a la leche. La toxicidad de los isómeros varía, siendo el γ -HCH, seguido por el alfa, el que muestra un efecto neurotóxico más agudo. Por el contrario, el isómero beta penetra menos rápidamente en el sistema nervioso central, por lo que es más persistente y tiende a acumularse en el cuerpo a lo largo del tiempo. Aunque no existen muchos datos respecto a la toxicidad de estos compuestos en las especies animales, se han observado efectos de toxicidad en el sistema nervioso y el hígado en peces y rumiantes. El IARC ha clasificado los HCHs como compuestos posiblemente cancerígenos, debido a la inexistencia de estudios que hayan podido confirmarlo con toda seguridad. En la Tabla I se muestran los niveles tóxicos de los HCHs según diferentes especies animales.

Tabla I. Niveles tóxicos de los HCHs en las diferentes especies animales según diferentes estudios (EFSA, 2005).



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



| ESPECIE ANIMAL | NIVELES TÓXICOS (MG/KG DIETA) |
|----------------|--|
| Peces | $\dot{z} < 1250?$ |
| Cerdos | $\dot{z} < 500?$ |
| Aves | 4-10 γ -HCH (NOAEL) |
| Rumiantes | 1,25 γ -HCH |
| Conejos | 200 mg/kg PC γ -HCH (LD ₅₀) |

Presencia de hexaclorohexanos en materias primas destinadas a la alimentación animal

Aunque los HCHs pertenecen a uno de los grupos de sustancias indeseables analizadas de forma rutinaria en las materias primas destinadas a la alimentación animal en la UE, en general se disponen de pocos datos sobre concentración en el pienso puesto que en los informes que los Estados miembros remiten a la CE los resultados se presentan de forma condensada y sólo es necesario determinar si el producto cumple o no con la normativa.

Entre los citados estudios realizados a nivel europeo, se destaca que en general no se encuentran niveles por encima de los permitidos ni en los productos de origen vegetal ni animal. Los escasos datos disponibles indican que en la mayoría de materias primas, incluyendo los productos derivados del pescado, sólo se han detectado un número limitado de muestras que contenían residuos (generalmente por debajo de 1 mg/kg de producto; EFSA, 2005).

Puesto que el uso de HCHs está siendo restringido a nivel mundial, la frecuencia de detección y los niveles determinados en el pienso y los productos alimenticios, especialmente de origen vegetal, son generalmente bajos y presumiblemente seguirán decreciendo. Sin embargo, algunos estudios realizados en áreas en las que aún está permitido su uso han observado niveles más elevados en diferentes productos, por lo que no se puede excluir que las materias primas destinadas a la alimentación animal de países en los que los HCHs no están, o ha sido recientemente prohibidos, puedan contener niveles elevados de pesticida.

Introducción en la cadena alimentaria por productos alimenticios de origen animal

Los análisis recientes de la exposición vía alimentación a los HCHs en Europa son escasos. Sin embargo, considerando algunos estudios realizados en norteamérica y algún país europeo, en los que el uso de estos productos ya ha sido prohibido, parece que la exposición a través de los productos alimenticios es muy baja y sigue disminuyendo, no siendo aún así para países en vías de desarrollo donde el uso de estos productos aún está permitido.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|--|--|
| Hexaclorociclohexano (HCH) – Isómeros alfa | Todos los piensos, excepto: – Materias grasas y aceites | 0'02 0'2 |
| | Todas las materias primas para la alimentación animal, excepto: – Materias grasas y aceites | 0'01 0'1 |
| – Isómeros beta | Todos los piensos compuestos, excepto: – Piensos compuestos para el ganado lechero | 0'01 0'005 |
| – Isómeros gamma | Todos los piensos excepto: – Materias grasas y aceites | 0'2 2'0 |

Método de muestreo

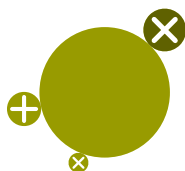
La legislación establece un método de toma de muestras oficial para los pesticidas que puede orientar a la hora de adoptar un plan de muestreo, se trata de la Directiva 2002/63/CE, de la Comisión, de 11 de julio de 2002, por la que establecen los métodos comunitarios de muestreo para el control oficial de residuos de plaguicidas en los productos de origen vegetal y animal y se deroga la Directiva 79/700/CEE.

Ver apartado métodos de muestreo y Directrices generales.

Método de análisis

Método no oficial

Los prerequisites para una determinación analítica fiable de g HCH y otros isómeros HCH son: una exhaustiva extracción combinada con una meticulosa limpieza, una eficiente separación y una detección sensible. Actualmente, la cromatografía de gases de alta resolución junto con el detector de captura de electrones (GC/ECD) es el método elegido, no sólo por la



diferenciación entre los diferentes isómeros, sino también por la separación de los diferentes co-extractos que interfieren. Una eficiente separación de isómero HCH de otros componentes que pueden interferir; tales como otros pesticidas organoclorados y policlorobifenilos (PCBs) es especialmente importante cuando se utiliza (GC/ECD). El uso de la separación por cromatografía de gases en dos columnas capilares de diferente polaridad en los programas rutinarios de seguimiento es por tanto necesario. Los problemas potenciales de coelución puede también sobrevenir por la aplicación combinada de cromatografía de gases capilares/espectrometría de masas (GC/MS) como un método alternativo. Aunque es más selectivo, el método de GC/MS no ofrece necesariamente un alta sensibilidad comparada con GC/ECD. En otros casos, es necesario tener cuidado durante la extracción y limpieza de las muestras con el objetivo de evitar pérdidas debidas a la volatilidad de los isómeros de HCH.

Bibliografía

- EFSA, 2005. The EFSA Journal. 2005. 250, 1-39.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

PLANTAS Y PRODUCTOS NATURALES DE PLANTAS

Las materias primas de origen vegetal pueden contaminarse con una gran variedad de materiales de origen botánico. Según el tipo de materia prima, este tipo de contaminaciones pueden originarse a través de malas hierbas que crecen junto con el cultivo o en los márgenes del mismo y que son recogidas durante la cosecha o de contaminaciones adventicias durante el almacenamiento y/o transporte. La mayor parte de estas contaminaciones son inocuas y sólo en ciertas ocasiones pueden detectarse sustancias nocivas o potencialmente tóxicas. En este sentido, es importante indicar que la mayor parte de plantas y productos derivados que se indican en la lista de sustancias indeseables no han sido observados desde hace muchos años pero su inclusión en dicho listado se justifica por graves incidentes históricos que tuvieron lugar en ciertas regiones de Europa.

En la actualidad en el anexo del RD 465/2003, sobre sustancias indeseables, se incluyen 17 especies de plantas y 5 productos naturales los cuales se van a enumerar y describir a continuación.



CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Métodos de análisis

Directrices generales

Muchas de las sustancias tóxicas que encontramos en estas plantas son alcaloides. Estos alcaloides representan el mayor grupo de diversidad estructural del metabolismo secundario de las plantas. Además, los alcaloides son definidos simplemente como componentes con contenido de nitrógeno sin clasificar. Por todo ello, no existen métodos analíticos simples para determinarlos.

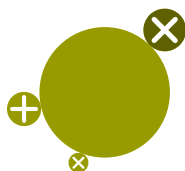
ÁCIDO CIANHÍDRICO

Evaluación del riesgo

La semilla de lino contiene glucósidos cianogénicos (linamarina) que libera ácido cianhídrico por el efecto de una enzima (linamarasa). La extracción de los lípidos no destruye la enzima termolábil. En este sentido, la harina de lino fresca puede contener entre 0,25-0,6 g de ácido cianhídrico/kg, aunque este nivel disminuye durante el almacenamiento y los procesos de secado y granulación.

La mandioca también contiene linamarina principalmente en la pulpa, aunque también puede encontrarse en ciertas cantidades en la piel. Como en el caso del lino, también los procesos de secado y granulación liberan la mayor parte del ácido cianhídrico de la mandioca, por lo que la toxicidad de la mandioca granulada es relativamente reducida.

Bajo prácticas normales de alimentación, el ácido cianhídrico se libera de forma lenta y no representa ningún riesgo de toxicidad en los animales. Sin embargo, si el pienso se utiliza y consume rápidamente la posibilidad de intoxicación se incrementa, especialmente en aves jóvenes, donde la concentración máxima aceptable es de 10 mg ácido cianhídrico/kg.



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------------------|---|--|
| Ácido cianhídrico | Materias primas para la alimentación animal, excepto: | 50 |
| | – Semillas de lino. | 250 |
| | – Tortas de lino. | 350 |
| | – Productos de mandioca y tortas de almendras. | 100 |
| | Piensos completos, excepto: | 50 |
| – Piensos completos para pollitos. | 10 | |

Métodos de análisis

Método oficial

La muestra se suspende en agua. El ácido cianhídrico se libera bajo la acción de fermentos, se arrastra por destilación en vapor de agua y se recoge en un volumen determinado de solución de nitrato de plata acidificada. El cianuro de plata se separa por filtración y el exceso de nitrato de plata se valora mediante una solución de tiocianato de amonio. (**Real Decreto 2257/1994 n° 22**).

El método permite determinar el contenido en ácido cianhídrico libre y combinado en forma de glucósidos existentes en determinados piensos, y en particular, de los productos de semillas de lino, de harina de mandioca y de determinadas especies de leguminosas.

Bibliografía

- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- REAL DECRETO 2257/1994 n° 22.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



ESENCIA DE MOSTAZA

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

El isotiocianato de alilo (comúnmente denominado Esencia Volátil de Mostaza) se encuentra presente en el rábano picante, colza y algunas especies de mostaza. En el caso de las especies de mostaza, la formación de este isotiocianato de alilo es resultado de la degradación de los glucósidos (sinigrina o sinalbina) por las enzimas mirosina y aliltiocianato (y bisulfato de glucosa y potasio).

Los síntomas clínicos por intoxicación por isotiocianato de alilo en los animales son: gastroenteritis aguda (cólico, diarrea, espuma en la boca), alteraciones respiratorias y probablemente fotosensibilidad.

Repercusiones en la cadena alimentaria

Sin repercusiones.

Marco legislativo

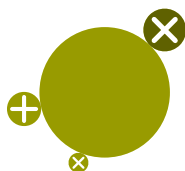
REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|----------------------------|--|--|
| Esencia volátil de mostaza | <p>Materias primas para la alimentación animal, excepto:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Torta de colza. <p>Pensos completos, excepto:</p> <ul style="list-style-type: none"> – Pensos completos para bovinos, ovinos y caprinos (excepto animales jóvenes). – Pensos completos para cerdos (excepto lechones) y aves de corral. | <p>100 4.000 (expresado en isotiocianato de alilo)</p> <p>150 (expresado en isotiocianato de alilo) 1.000 (expresado en isotiocianato de alilo)</p> <p>500 (expresado en isotiocianato de alilo)</p> |

Métodos de análisis

Método no oficial

(aunque el Real Decreto nº 2257/1994 nº 24 recogía el método oficial para la determinación de la esencia de mostaza, fue derogado como método oficial por el BOE 05/01/2000).



El método permite la determinación de esencia de mostaza expresado como isotiocianato de alilo en semilla y torta de colza.

La esencia de mostaza se libera con fermentos, se arrastra por corriente de vapor en presencia de etanol y se recoge en amoníaco diluido. La solución se trata con el nitrato de plata siguiendo un método de argentimetría clásico.

Bibliografía

– REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

GOSIPOL LIBRE

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

El gospol, pigmento amarillo, es un compuesto polifenólico termoestable que se sintetiza y se concentra de forma natural en la semilla, hojas y raíces de la mayoría de plantas de algodón como defensa natural de dichas plantas frente al ataque de insectos y plagas. El gospol se puede encontrar en forma libre o ligada (enlace con proteínas), siendo la forma ligada menos tóxica en comparación con la libre. Los procesos con temperatura y humedad convierten la forma libre en una forma ligada menos tóxica.

El gospol libre actúa como antioxidante e inhibidor de la polimerización y es tóxico para monogástricos y rumiantes. En general, los cerdos, los conejos y los rumiantes jóvenes se consideran las especies más sensibles, mientras que las aves y los rumiantes adultos son más tolerantes. Los síntomas generales que se observan por la intoxicación de gospol libre son: estreñimiento, disminución del apetito y pérdida de peso y, en algunos casos, insuficiencia circulatoria y muerte.

En general, se considera que las dietas de monogástricos no deberían contener más de 100 mg de gospol libre/kg y que la inclusión de semilla de algodón debería estar entre 50-100 kg/tn de pienso. Por el contrario los rumiantes tienen la capacidad de detoxificar el gospol en cierta medida durante la fermentación ruminal, por lo que en ese caso los niveles de inclusión de la semilla de algodón pueden ser más elevados, aunque no deberían superar el 15-20% de la ración total (Davis). En este sentido, Kirk y Higginbotham (1999) sugirieron en su estudio un nivel máximo de inclusión de 0,05% a 0,1% de gospol libre en las dietas de ganado vacuno

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

de menos de un año de edad, mientras que en el caso de los adultos este podría aumentarse hasta 0,1% a 0,2%. Estas cantidades equivalen a 2 y 4 kg de semilla de algodón al día, respectivamente.

Presencia de gopipol en materias primas destinadas a la alimentación animal

Las semillas de algodón pueden contener de 0,3-20 g/kg MS de gopipol, mientras que concentraciones de 4-17 g/kg MS han sido observadas en los granos (SCAN, 2002). Asimismo, los materiales en polvo sometidos a presión suelen contener 200-500 mg de gopipol libre/kg, las harinas solventes pre-presionadas extraídas 200-700 gopipol libre/kg y los solventes extraídos 1000-5000 mg/kg.

Repercusiones en la cadena alimentaria

Sin repercusiones.

Métodos de análisis

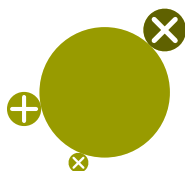
Método oficial

El método oficial permite determinar el gopipol libre, el gopipol total y las sustancias de constitución químicamente parecidas derivadas del gopipol, presentes en las semillas, harinas y tortas del algodón, así como en los piensos que los contengan. (**Real Decreto 2257/1994 nº 36**). El límite inferior de la determinación es de 20 mg/kg. Es importante distinguir entre la forma libre (soluble en 70-30 v/v solución acetona acuosa) y el gopipol ligado puesto que como hemos comentado sólo el primero es fisiológicamente activo.

El gopipol se extrae en presencia de 3-amino-1-propanol, ya sea mediante una mezcla de isopropanol y de hexano para la determinación del gopipol libre, ya sea por la dimetilformamida para la determinación del gopipol total. El gopipol se transforma mediante anilina en gopipol-dianilina, cuya absorbancia se mide a 440 nm.

Bibliografía

- European Comission. 2000. Opinion of the SCAN on the Dioxin contamination of feedings-tuffs.
- Davis, G.V.: Alternative feeds for beef cattle. Cooperative Extension Service, University of Arkansas, Little Rock. FSA3047-3M-8-98N.



- Kirk, J.H. and Higginbotham, G.E. 1999. Pima Cotton, Gossypol and Dairy Cattle: Is It a Bad Combination? Extension Veterinarian, Veterinary Medicine Extension, School of Veterinary Medicine, University of California-Davis, Tulare.
- REAL DECRETO 2257/1994 nº 36

TEOBROMINA

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

La teobromina (3,7-dihidro-3,7-dimetil-1 H-purina-2,6-diona) pertenece a una clase de moléculas de alcaloides conocidas como metilxantinas. Las metilxantinas se encuentran de forma natural en más de 60 especies de plantas diferentes, entre las que se incluyen el café (cafeína) y el té (la teofilina). Asimismo, la teobromina es la metilxantina principal que se encuentra en productos del árbol de cacao (*Theobroma cacao*) principalmente en las alubias y cáscara.

La teobromina puede ser tóxica para la mayoría de especies animales, lo que contrasta con sus efectos en las personas a las que sólo afecta de manera similar a la cafeína. Esto es debido a que los animales metabolizan la teobromina más lentamente en comparación a los hombres. Los efectos observados en los animales, especialmente monogástricos son de tipo gástrico (vómitos, diarreas), así como incontinencia urinaria o arritmias cardíacas. Los rumiantes son en general menos sensibles. En este sentido, en el estudio de Otchere y col. (1983) un 60% de cáscara de cacao en seco en una dieta de ovejas no desencadenó ningún signo clínico de intoxicación por teobromina.

Presencia de teobromina en materias primas destinadas a la alimentación animal

Las alubias de cacao contienen de forma natural entre unos 10,6-42,3 g teobromina/kg aproximadamente. Diferentes tipos de chocolate contienen diferentes cantidades de teobromina (chocolate negro aproximadamente 10 g/kg; chocolate con leche 1-5 g/kg).

Repercusiones en la cadena alimentaria

Sin repercusiones.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------|--|--|
| Teobromina | Piensos completos, excepto: – Piensos completos para bovinos adultos. | 300 700 |

Métodos de análisis

Método no oficial

Se extrae la Teobromina en medio acuoso ligeramente alcalino y se determina la concentración por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección ultravioleta visible (Detector DAD). (Liquid chromatographic Method, Final Action AOAC Off. Methods of Analysis, 1984).

Bibliografía

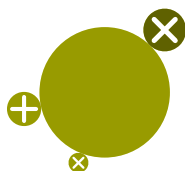
- AOAC Off. Methods of Análisis. 1984. Liquid chromatographic Method, Final Action.
- Otchere, E.O., Musah, I.A. and Bafi-Yebo, M. 1983. The digestibility of cocoa husk-based diets fed to sheep. Trop. Anim. Prod. 8, 33-38.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

VINILTIOOXAZOLIDONA

Evaluación del riesgo

Descripción de la sustancia y efectos adversos

Los glucosinolatos, una familia de compuestos que incluye los isotiociantos (ITC) y los viniltio-oxazolidona (VTO) son comunes en crucíferas, plantas y semillas, y consecuentemente en la harina de colza. La VTO disminuye la habilidad del iodo para la formación de tiroxina, lo que resulta en una depresión del crecimiento y struma. En este sentido, la 5-VTO es responsable de la disminución de la producción en los animales (Maheshwari y col., 1979). Además se puede transferir al suero, leche, tejidos musculares y a ciertos órganos: hígado, pulmón, riñón



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



y especialmente tiroides. A los niveles de inclusión de la harina de colza en los piensos no se esperan efectos adversos en los animales.

Presencia de VTO en materias primas destinadas a la alimentación animal

La harina de colza es el principal producto en el que se encuentran las VTO. Aunque la cantidad de estos glucosinolatos en la harina de colza en Europa ha disminuido en estos años (por el uso de las variedades "00") aún quedan ciertas proporciones en la harina tras la extracción del aceite, por lo que consumo en grandes cantidades (30-40%) puede tener repercusiones en la producción animal.

Repercusiones en la cadena alimentaria

Los resultados de los estudios realizados para evaluar la toxicidad de la VTO en los animales han demostrado que la ingestión de elevadas cantidades de harina de colza resultan en una acumulación proporcional de VTO en pulmones y principalmente en tiroides, y en niveles muy bajos en músculo, hígado, riñón y plasma (Mabon y col., 1999). A los niveles de inclusión de la harina de colza en la dieta de los animales los residuos en los tejidos comestibles, incluido el hígado, no se consideran de riesgo para la salud de las personas.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--|--|--|
| Viniltiooxazolidona (Viniloxazolidinación) | Piensos completos para aves, excepto: – Piensos compuestos completos para aves ponedoras. | 1.000 500 |

Bibliografía

- Mabon, N., Wathelet, J.P., Derycke, G., Mandik, N.M., Bister, J.L., Marlier, M. and Paquay, R. 1999. Correlation between breakdown products of glucosinolates and the amount of rapeseed meal introduced in the diets of 80 lambs and 32 bulls. Evolution of 5-vinyl-1,3-oxcazolidine-2-thione (5-VOT) and thiocyanate ions in biological fluids and organs.
- Proc. 10° Int. Rapeseed Congr., Canberra.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



- Maheshwari, P.N., Stanley, D.W., Gray, J.I. and van de Voort, F.R. 1979. J. Am. Oil Chem. Soc. 56, 837.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

SEMILLAS DE MALAS HIERBAS Y FRUTOS NO MOLIDOS NI TRITURADOS QUE CONTENGAN ALCALOIDES, GLUCÓSIDOS U OTRAS SUSTANCIAS TÓXICAS, POR SEPARADO O EN CONJUNTO

Evaluación del riesgo

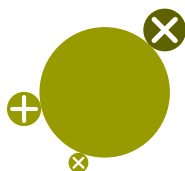
Este apartado generalista intenta agrupar las sustancias indeseables de material de origen botánico aunque su redacción está abierta a un gran número de interpretaciones. Las semillas de malas hierbas están presentes de forma generalizada en los cultivos y consecuentemente en las materias primas destinadas a alimentación animal, por lo que la lista a evaluar podría ser muy extensa. Sin embargo, en la actual normativa de sustancias indeseables sólo se indican tres ejemplos de estas semillas, debido principalmente a que sus propiedades tóxicas son ya parcialmente conocidas y/o porque han existido episodios específicos de contaminación con las mismas. Las tres semillas a las que este apartado se refiere pertenecen a dos especies de *Lolium* (*temulentum* y *remotum*) y a *Datura stramonium*.

Lolium temulentum L

Las semillas de *Lolium temulentum* contienen una serie de alcaloides pirrolizidina: loline, lolinine (Hammouda y col., 1985) que no son sintetizados directamente por la propia planta sino por la presencia en la misma de endofitos fúngicos. La mayoría de estudios realizados para evaluar la toxicidad de dichos alcaloides individualmente, indican que sólo son moderadamente tóxicos y que individualmente no producen efectos en el sistema nervioso central tal, que en cambio si se han observado tras la ingestión del extracto de la planta (depresión del SNC, que puede acabar en coma y en muerte por insuficiencia respiratoria). Consecuentemente, la base y la extensión de la toxicidad de *L. temulentum* en los animales no está muy clara.

Lolium remotum Schrenk

La inclusión de *Lolium remotum* en el anexo es debido a la toxicidad anual del ryegrass, un trastorno neurológico del ganado, que se observa frecuentemente en Australia. Este trastorno sólo se observa tras la ingestión de las cabezas de las semillas de *L. remotum* infectadas por



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



ciertos nematodos (*Anguina agrostis*) y bacterias (*Clavibacter toxicus*). En este sentido, se ha podido aislar un total de 8 glicolípidos de cabezas de semillas infectadas que son conocidos comúnmente como corinetoxinas (Vogel y col., 1981). La experiencia Australiana en Europa es cuestionable puesto que *L. remotum* en ausencia de semillas infectadas no sería considerada como un material tóxico.

***Datura stramonium* L**

Esta planta contiene (principalmente en sus hojas, tallo y semillas) una serie de alcaloides tropano (atropina, hiosciamina y escopolamina) que actúan como antagonistas competitivos de la acetilcolina en los receptores muscarínicos periféricos y centrales. En este sentido, la intoxicación provoca en los animales una parálisis generalizada de los órganos parasimpáticos y una psicosis aguda o delirio.

La *D. stramonium* es tóxica para todos los animales, aunque debido a su mal sabor los propios animales no suelen consumirla en cantidades suficientes que puedan llevar a la intoxicación. Los principales signos clínicos en el ganado incluyen excitabilidad, temblores, hinchazón o imposibilidad de levantarse. La mayoría de los casos de intoxicación no han sido debidos al pastoreo sino al consumo de heno o otros forrajes que puedan contener estas malas hierbas (Schulman y Bolton, 1998).

La *D. stramonium* se encuentra de forma natural en el Norte de América y la Europa Central por lo que se detecta ocasionalmente como contaminante en la soja originaria de Estados Unidos. Sin embargo, es importante destacar que también se ha observado contaminación en soja procedente de Suramérica con otras plantas del género *Datura* propias de la región, como *D. ferox*, también capaces de sintetizar alcaloides tropano (Padula y col., 1976).

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

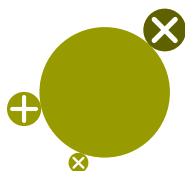
Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|--|
| Semillas de malas hierbas y frutos no molidos ni triturados que contengan alcaloides, glucósidos u otras sustancias tóxicas, por separado o en conjunto, a saber: | Todos los piensos. | 3.000 |
| – <i>Lolium temulentum</i> L. | | 1.000 |
| – <i>Lolium remotum</i> Schrank. | | 1.000 |
| – <i>Datura stramonium</i> L. | | 1.000 |

Bibliografía

- Hammouda, F.M., Rizk, A.M., El-Missiry, M.M., Ghaleg, H.A., Madkour, M.K., Pohlasnd, A.E. and Wood, G. 1988. Poisonous plants contaminating edible ones and toxic substances in plant foods. IV Phytochemistry and toxicity of *Lolium temulentum*. Int. J. Crude Drug Res. 26, 240-246.
- Padula, L.Z., Bandomi, A.L. Rodina, R.V.D. and Coussio, F.D. 1976. Quantitative determination of total alkaloids and scopolamine in *Datura ferox* growing in Argentina. Planta Medica 29, 357-360.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- Schulman, M.L. and Bolton, L.A. 1998. *Datura* seed intoxication in two horses. J. S. Afr. Vet. Assoc. 69, 27-29.
- Vogel, P., Petterson, D.S., Berry, P.H., Frahn, J.L., Anderton, N., Cockrum, P.A., Edgar, J.A., Jago, M.V., Lanigan, G.W., Payne, A.L. and Culvenor, C.C.J. 1981. Isolation of a group of glycolipid toxins from the seedheads of ryegrass (*Lolium rigidum* Gaud.) infected by *Corynebacterium rathayi*. Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 59, 455-501.



RICINO RIZINUS COMMUNIS L

Evaluación del riesgo

El *Rizinus communis*, conocida popularmente como la planta de Aceite de Castor, es una planta nativa de la India miembro de la familia Euphorbiaceae. Es muy variable en hábitat y apariencia, pudiendo ser un árbol de 10-12 m de alto en latitudes tropicales o de 3-5 m en países Mediterráneos. Estas plantas se cultivan comercialmente para la extracción del aceite graso no-volátil (90% ácido ricinoleico, ácido 12-hidroxi cis-9-octadecanoico) de las semillas.

La toxicidad de estas plantas se debe a la presencia de ricino, una glicoproteína hidrosoluble que se concentra en el endospermo de la semilla pero que puede estar presente en bajas cantidades en el resto de la planta y que es considerada como uno de los venenos naturales más potentes. El modo de acción del ricino se basa en su capacidad para translocar en el citosol de las células la cadena de la toxina-A enzimáticamente activa, que inactiva los ribosomas (Wesche y col., 1999).

Existe una gran variabilidad en las especies animales en relación a la susceptibilidad frente al ricino, siendo los caballos los más sensibles. La dosis letal oral es de aproximadamente 0,1 g/kg p.c. en los caballos y de 1-2 g/kg p.c. para el resto de animales de producción, con la excepción de las cabras que es de 5,5 g/kg p.c. . Los principales signos clínicos que se observan son gastrointestinales (cólico, diarrea, vómito,...), aunque el animal podría llegar a sufrir convulsiones, colapso y finalmente la muerte.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------------------|---|--|
| Ricino— <i>Ricinus communis</i> L. | Todos los piensos. | 10 (expresado en cáscaras de ricino) |

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Bibliografía

- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.
- Wesche, J., Rapak, A. and Olsnes, S. 1999. Dependence of ricin toxicity on translocation of the toxin A-chain from the endoplasmic reticulum to the cytosol. *J. Biol. Chem.* 274, 34443-34449.

CROTALARIA SPP

Evaluación del riesgo

Las *Crotalaria* son hierbas anuales y perianuales con frutas parecidas a la pera y con muchas semillas que, cuando son secadas, emiten un sonido parecido al repiqueteo de una cascabel dando lugar a los nombres conocidos Rattlebox o Rattleweed.

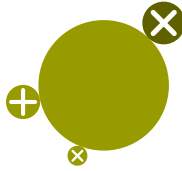
Aunque la *Crotalaria* es originaria de África, esta también fue cultivada en Estados Unidos a principios de siglo 20 como mejoradora del suelo, lo que dio lugar a episodios de intoxicación en ganado y aves (Mattocks, 1986).

Se han identificado entre 6 y 7 especies de *Crotalaria* tóxicas para los animales. Las dos especies que prevalecen en el sureste de Estados Unidos son *Crotalaria giant striata* y *Crotalaria spectabilis*, siendo esta última más tóxica para las aves. En este caso, la hierba y la semilla se consideran con el mismo potencial tóxico debido a que el alcaloide (monocrotalina pirrolizidina hepatotóxico) que produce su toxicidad se encuentra distribuido por toda la planta (Copple y col., 2002). Su principal efecto tóxico se centra en el hígado y las dosis observadas como tóxicas en las aves se sitúan entre un 0,01 y 0,1% de la hierba en la dieta.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|------------------------|---|--|
| <i>Crotalaria</i> spp. | Todos los piensos. | 100 |



Bibliografía

- Copple, B.L., Woolley, B., Banes, A., Ganey, P.E. and Roth, R.A. 2002. Anticoagulants prevent monocrotaline-induced hepatic parenchymal cell injury but not endothelial cell injury in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology* 180, 186-196.
- Mattocks, A.R. 1986. *Chemistry and Toxicology of Pyrrolizide Alkaloids*. Academic Press, London.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

ALBARICOQUE—PRUNUS ARMENIACA L

Evaluación del riesgo

El *Prunus armenica* es un árbol frutal que pertenece a la familia de las Rosaceae. Las semillas, hojas y raíces de las plantas que pertenecen a esta familia contienen glucósidos cianogénicos, de entre los cuales el amigdalín (D-mandelonitril-gentiobiosida) es el más común. El glucósido por sí mismo tiene una toxicidad muy baja y sólo es tóxico cuando las semillas se prensan y se humedecen, momento en el que ciertas enzimas se liberan y se produce la conversión del glucósido a cianuro (ácido cianhídrico).

Todos los mamíferos son susceptibles a la intoxicación por cianuro, siendo la dosis letal mínima para la mayoría de especies de 2 mg/kg p.c.. Los rumiantes son más susceptibles que los monogástricos.

Aunque las semillas y las cáscaras de este árbol se han utilizado históricamente en la alimentación animal, especialmente de rumiantes, en la actualidad debido a la conocida toxicidad de estos productos es poco frecuente su inclusión en los alimentos destinados a los animales.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---------------------------------|---|---|
| Albaricoque—Prunus armeniaca L. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

Bibliografía

– REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

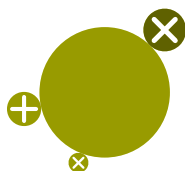
ALMENDRA AMARGA—PRUNUS DULCIS

Evaluación del riesgo

El *Prunus dulcis* es un árbol frutal que pertenece a la familia de las Rosaceae. Las semillas, hojas y raíces de las plantas que pertenecen a esta familia contienen glucósidos cianogénicos, de entre los cuales el amigdalina (D-mandelonitril-gentiobiosida) es el más común. El glucósido por sí mismo tiene una toxicidad muy baja y sólo es tóxico cuando las semillas se prensan y se humedecen, momento en el que ciertas enzimas se liberan y se produce la conversión del glucósido a cianuro (ácido cianhídrico).

Todos los mamíferos son susceptibles a la intoxicación por cianuro, siendo la dosis letal mínima para la mayoría de especies de 2 mg/kg p.c. Los rumiantes son más susceptibles que los monogástricos.

Aunque las semillas y las cáscaras de este árbol se han utilizado históricamente en la alimentación animal, especialmente de rumiantes, en la actualidad debido a la conocida toxicidad de estos productos es poco frecuente su inclusión en los alimentos destinados a los animales.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|---|
| Almendra amarga Prunus dulcis. (Mili.) D.A. Webb var. Amara. (DC.) Focke [=Prunus amygdalus Barsch var. amara (DC.)Focke]. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

Bibliografía

– REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

HAYUCO CON CÁSCARA. FAGUS SILVATICA (L)

Evaluación del riesgo

El hayuco es el nombre con el que se definió la fruta de los árboles de bosque como la haya que era utilizada para la alimentación de cerdos. En este sentido, la semilla de la haya se ha utilizado tradicionalmente para la alimentación de cerdos y pollos domésticos tanto en forma de harina como directamente como pasto. Además, los residuos restantes tras la extracción del aceite de la semilla del haya se utilizaban para hacer tortas para los piensos animales. Así, los casos de intoxicación parecen ser derivados de la utilización de dichas tortas que contenían niveles significativos de cáscara. La causa de dicha intoxicación no se conoce pero podría estar relacionada con el contenido de saponinas de la cáscara. Se cree que los caballos son particularmente sensibles, aunque en la mayoría de los casos de intoxicación detectados ha sido el ganado vacuno la especie animal involucrada (Cooper y Johnson, 1984).

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--|---|---|
| Hayuco con cáscara <i>Fagus silvatica</i> L. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

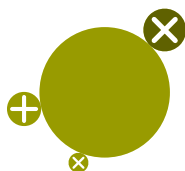
Bibliografía

- Cooper, M-R. and Johnson A.W. 1984. Poisonous plants in Britain and their effects on animals and man. Her Majesty's Stationery Office, London.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

CAMELINA

Evaluación del riesgo

La *Camelina* es una Brassica de siembra de primavera que ha sido cultivada en Europa desde la Edad de Bronce debido a su semilla oleaginosa, que produce un aceite muy parecido al del lino, y su contenido en fibra. Se cultivó ampliamente durante los años 40 pero su producción comercial se terminó con la introducción del cultivo de colza. La *Camelina* contiene un bajo nivel de glucosinatos comparado con otras especies de Brassica, por lo que su utilización como harina en los animales no se considera como algo potencialmente peligroso. En este sentido, debido a su baja presencia en Europa y su baja toxicidad, es poco probable que la planta o sus semillas provoquen en la actualidad cuadros de intoxicación en los animales.



GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--------------------------------------|---|---|
| Camelina—Camelina sativa (L) Crantz. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

Bibliografía

– REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

MOWRAH, BASSIA, MADHUCA MADHUCA LONGIFOLIA, MADHUCA INDICA

Evaluación del riesgo

La *Madhuca longifolia* es un árbol que se caracteriza por su densa y extensa corona y que se cultiva en zonas con clima templado por sus semillas oleaginosas. La distinción que se hace en el anexo del RD 465/2003 entre *Madhuca longifolia* y *Madhuca indica* Gmelin ya no existe en la actualidad y ambas especies se consideran sinónimas.

Tras la extracción del aceite, la harina de la semilla de este árbol puede llegar a concentrar un 9,8% de saponinas, las cuales pueden ser tóxicas y causar daños en la mucosa del tracto digestivo y hemólisis de la sangre. Aunque existen métodos de detoxificación (ej. tratamiento con isopropanol).

En la mayoría de estudios realizados en rumiantes domésticos para evaluar la toxicidad de la torta de la semilla no procesada de esta planta, no se han observado efectos adversos a niveles de inclusión de hasta un 20% en MS (Talpada y col., 1995; Tiwari y col., 1996). No existen estudios en el caso de los monogástricos. Sin embargo, y aunque la presencia de saponinas en

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

los alimentos destinados a los animales no es deseable, la presencia de semilla de *Madhuca longifolia* a las concentraciones asociados con una contaminación adventicia serían toleradas en los monogástricos y no tendrían un efecto detectable en los rumiantes.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|---|
| Mowrah, Bassia, Madhuca– Madhuca longifolia (L) Macbr. (=Bassia longifolia L. = Illipe malabarorum Eng.) Madhuca indica Gmelin [=Bassia latifolia (Roxb.)=Illipe latifolia (Roscb.) F. Mueller]. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

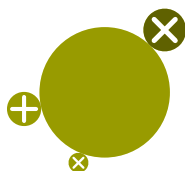
Bibliografía

- Talpada, P.M., Murthy, K.S., Gupta, R.S., Patel, D.C., Desai, H.B. and Desai M.C. 1995. Performance of dairy cows fed concentrate mixtures containing varying levels of Mahua (*Madhuca-Indica* J F Gmel) seed cake as unconventional feed source. *Ind. J. Anim. Sci.* 65, 548-555.
- Tiwari, D. P., Nema, R.K. and Chourasia, S.K. 1996. Nutritive evaluation of mahua (*Madhuca-Indica*) seed-cake in crossbred calves. *Ind. J. Anim. Sci.* 66, 304-306.

FRAILEJÓN–JATROPHA CURCAS L

Evaluación del riesgo

La *Jathropa curcas* es otro miembro de la familia Euphorbiaceae conocida por su toxicidad. Es una planta nativa de la América tropical, pero en la actualidad se cultiva de forma importante en todos los países tropicales del mundo. Esta planta, incluyendo las semillas, se utiliza para una gran variedad de usos domésticos así como en medicina tradicional. También existe un cierto interés comercial debido a su potencial como cultivo de oleaginosa, debido a que su aceite presenta cualidades parecidas al aceite de palma (Openshaw, 2000).



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



La toxicidad de esta planta es debida a la presencia en sus semillas de curcina, una glicoproteína tóxica muy parecida al ricino y con un modo de acción similar (Lin y col., 2003). Los signos clínicos debidos a la ingestión de semillas de la *Jatropha* incluyen gastroenteritis y nefritis, así como degeneración del miocardio. Las dosis letales varían enormemente según la especie animal. En este sentido, se ha observado que una misma dosis de 0,23 a 1 g/kg de pienso fue letal en pocas horas para un grupo de terneros mientras que en un grupo de cabras está no mostró efectos hasta los 7-21 días (Ahmed y Adam, 1979).

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|---|
| Frailajón— <i>Jatropha</i> presentes en los curcas L. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

Bibliografía

- Ahmed, O.M.M. and Adam, S.E.I. 1979. Effects of *Jatropha Curcas* on calves. Vet. Pathol. 16, 476-482.
- Lin, J., Yan, F., Tang, L. And Chen, F. 2003. Antitumor effects of curcin from seeds of *Jatropha curcas*. Acta Pharmacologica Sinica 24, 241-246.
- Openshaw, K. 2000. A review of *Jatropha curcas*: an oil plant of unfulfilled promise. Biomass & Bioenergy 19, 1-15.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES



CROTÓN–CROTON TIGLIUM L

Evaluación del riesgo

La *Croton tiglium* es nativa de la Asia tropical desde la India hasta Nueva Guinea, y la parte norte en Indonesia y China, donde se puede encontrar en forma de pequeños arbustos o árboles de 12 m de alto. El aceite de Crotón se produce en cantidades comerciales limitadas en Asia y Europa, siendo los principales productores Sri Lanka y la India. También se utiliza en Europa como planta ornamental.

Esta planta que también es miembro de la familia Euphorbiaceae es menos tóxica que el Fraji-léon o el Ricino. Su principal agente tóxico es la crotonina que corresponde al nombre colectiva que representa un grupo de glicoproteínas de la semilla, las cuales varían en su toxicidad pero tienen un modo de acción similar al del ricino (Sperti y col., 1976).

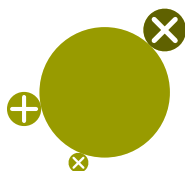
Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--------------------------|---|---|
| Crotón–Croton tiglium L. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

Bibliografía

- Sperti, S., Montanaro, L., Mattioli, A., Testoni, G. and Stirpe, F. 1976. Inhibition of protein synthesis in vitro by crotons and ricin. Effect on the steps of peptide chain elongation. *Biochem. J.* 156, 7-13.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.



SEMILLAS DE MOSTAZA

Evaluación del riesgo

La taxonomía de las especies de plantas identificadas como “mostaza” en el anexo del RD 465/2003 ha sufrido varias modificaciones desde su redacción. En concreto, la distinción entre varias sub-especies ya no se considera apropiada, por lo que las mostazas India, Sarepta y China se consideran simplemente como variedades de *Brassica juncea*.

El tóxico más importante de la semillas de mostaza es la sinigrina (2-propenilglucosinolato) que cuando se hidroliza da lugar al compuesto isotiocianato de alilo, un líquido volátil conocido como Esencia Volátil de Mostaza. Este compuesto se encuentra distribuido por toda la planta, aunque su mayor concentración se encuentra en la semilla. Es un irritante y su ingestión (10 mmoles/día) ha estado implicada en la generación del bocio (hipotirodismo y engrandecimiento del tiroides) en personas y animales. En los pocos estudios realizados en animales para evaluar su toxicidad se observó disminución en la ingestión y posible daño en el hígado en ovejas a las que se les suministraba (Duncan y Milne, 1993).

***Brassica juncea* (L) Czern, y Cross ssp (Mostaza India, China y Sarepta)**

Esta es una hierba perenne, generalmente con un crecimiento anual o bianual con un metro o más de alto que se originó de la hibridación entre *Brassica nigra* con *Brassica campestris*. Esta hierba se cultiva como semilla de aceite, en verde y como especie. Aunque parece originaria del suroeste de Asia y la India debido a sus conocidas cualidades también se está cultivando en países como EEUU.

La producción de isotiocianato de alilo es de 0,25-1,4% (normalmente 0,9%).

***Brassica nigra* (Mostaza negra)**

Esta es una hierba aromática, de un rápido crecimiento anual, con una altura de 4 m, y que produce unas semillas de un color negro marronáceo de 1 mm de diámetro. Actualmente, se encuentra diseminada por el centro y sur de Europa así como en otras regiones de clima templado. Es frecuente encontrarla como mala hierba en los campos cultivados.

Aparte de la sinigrina, la semilla de esta especie también contiene un potente inhibidor proteico termoestable de la tripsina y la subtilisina (Genou y col., 1977).

CLASIFICACIÓN DE LAS SUSTANCIAS INDESEABLES

Brassica carinata (Mostaza abisinia)

La *Brassica carinata* es un híbrido natural de *B. nigra* y *B. oleracea* que se encuentra casi exclusivamente en Etiopía, donde se utiliza como hoja y como semilla oleaginosa.

Marco legislativo

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

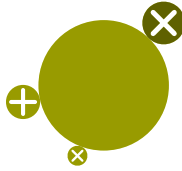
| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|--|---|---|
| Mostaza india <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern. y Coss. ssp. <i>Integrifolia</i> (West) Thell. | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

| SUSTANCIAS INDESEABLES | PRODUCTOS DESTINADOS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL | CONTENIDO MÁXIMO EN MG/KG (PPM) en alimentos para animales, referido a un contenido de humedad del 12% |
|---|---|---|
| Mostaza de Sarepta <i>Brassica hystrix</i> (L.) Czern. y Coss. ssp. <i>Juncea</i> . | Todos los piensos. | Las semillas y los frutos de las especies correspondientes, así como sus derivados procesados, pueden estar presentes en los piensos sólo en cantidades mínimas, no determinadas cuantitativamente. |

Métodos de análisis

Ver Método de Análisis de la Esencia de Mostaza.



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**

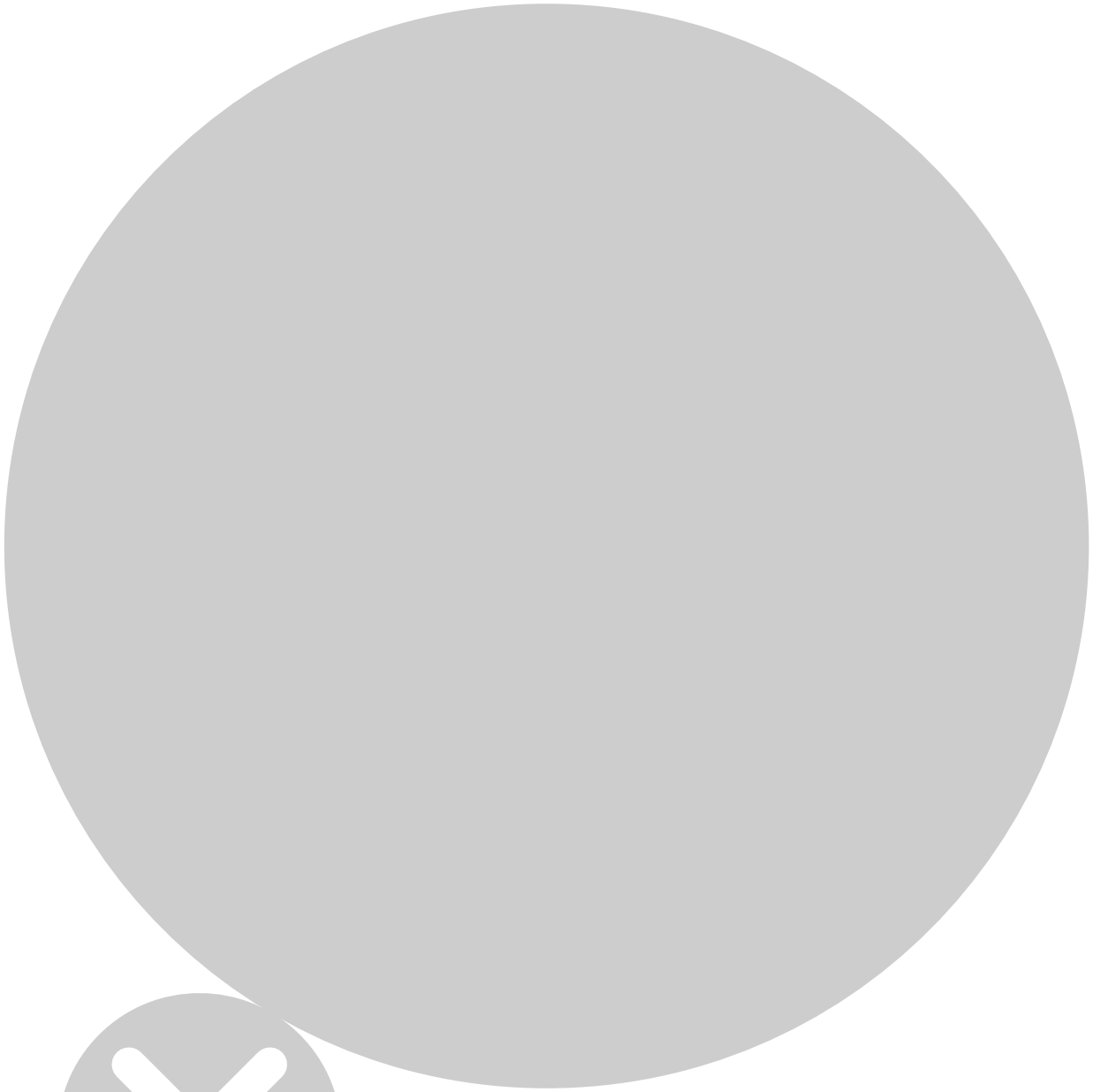


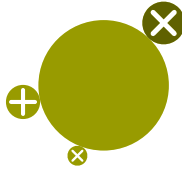
Bibliografía

- Duncan, A.J. and Milne, J.A. 1993. Effects of oral-administration of Brassica secondary metabolites, allyl cyanide, allyl isothiocyanate and dimethyl disulfide, on the voluntary food-intake and metabolism of sheep. *Brit. J. Nutr.* 70, 631-645.
- Genov, N., Goshev, I., Nikolova, D., Georgieva, D.N., Filippi, B. and Svendsen, I. 1997. A novel thermostable inhibitor of trypsin and subtilisin from the seeds of *Brassica nigra*: amino acid sequence, inhibitory and spectroscopic properties and thermostability. *Biochim Biophys Acta.* 1341, 157-164.
- REAL DECRETO 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal.

5

**PAUTAS DE INTERPRETACIÓN
Y ACTUACIÓN**





GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL



Siguiendo el método de muestreo establecido por la fábrica, nos vamos a encontrar una serie de boletines analíticos de las materias primas que hemos analizado. Estas analíticas van a contemplar una serie de datos respecto al contenido de sustancias indeseables en las materias primas.

Estos resultados pueden ser de tres tipos:

- **Los resultados se encuentran muy por debajo de los límites máximos fijados por la legislación.**

En este caso no es necesario seguir ningún tipo de procedimiento adicional.

- **Los resultados de las analíticas obtenidas superan los límites máximos establecidos por la normativa**

En este caso se deben seguir las pautas de actuación que se fijan en la legislación vigente: no se puede diluir el producto, avisar a las autoridades competentes, trazar a los clientes, etc.

- **Los resultados de las analíticas obtenidas son cercanos a los límites máximos establecidos, es necesario seguir las siguientes actuaciones:**

Medidas a tomar respecto al proveedor:

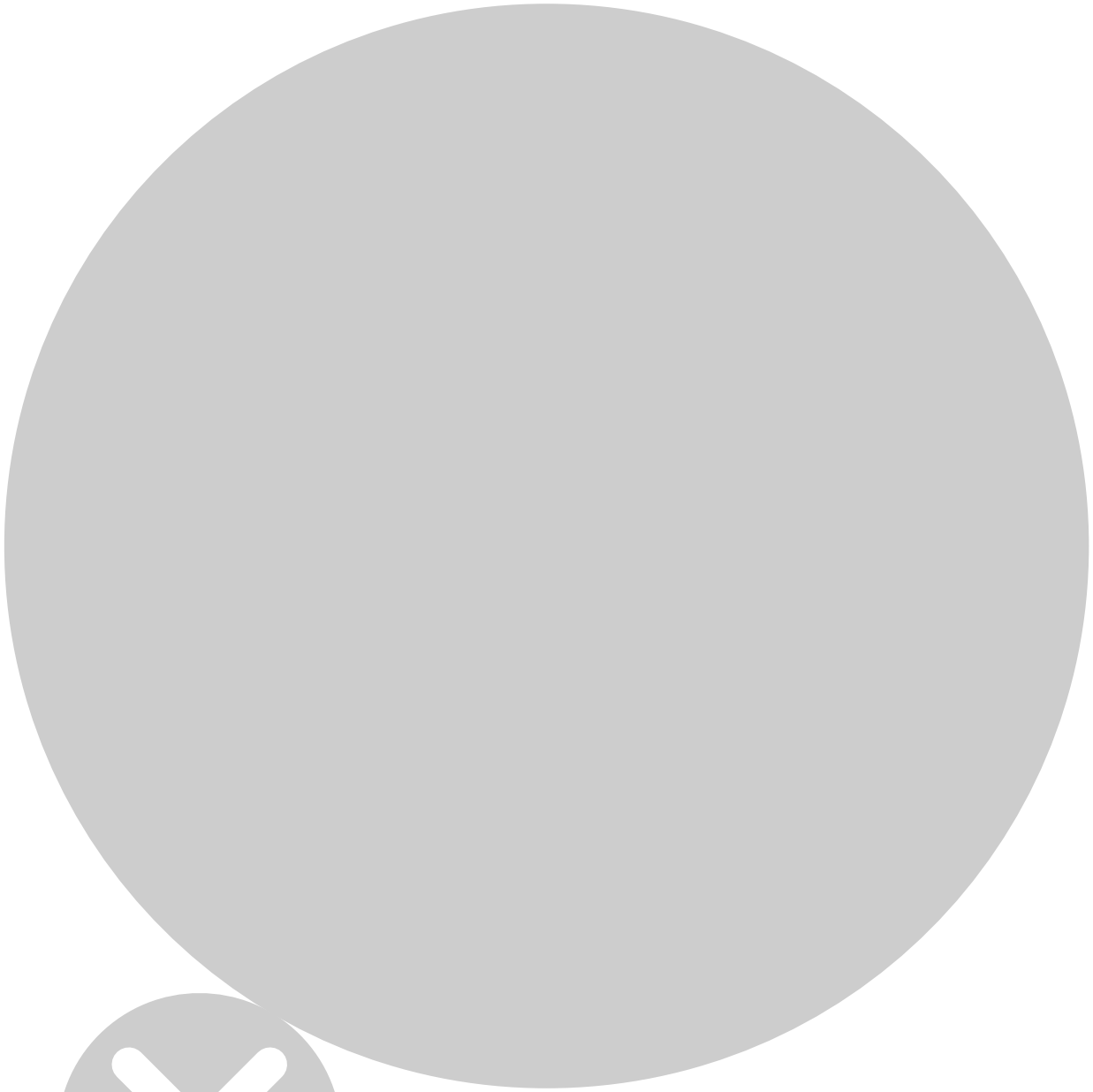
- Exigir más analíticas al proveedor;
- Investigar si ha existido alguna contaminación o algún problema en el transporte o en esa partida.
- Exigencia a los transportistas de limpieza de camiones, de programación de cargas que eviten la contaminación de productos (certificados de limpieza).
- Especificaciones de contrato más rigurosas.

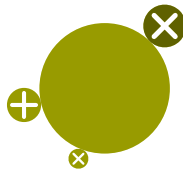
Medidas a tomar dentro de la fábrica:

- Minimizar o limitar la incorporación de esa materia prima en los piensos.
- Aplicar, en el caso correspondiente altas temperaturas con el objetivo de mejorar las condiciones de la materia prima.
- Si es posible, desviar la materia prima hacia la especie menos sensible a la sustancia indeseable que se encuentra mayoritariamente.
- Importante la presentación del pienso si es en harina, granulado, etc, por los diferentes tratamientos que pueda sufrir.

6

CUADRO RESUMEN





**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



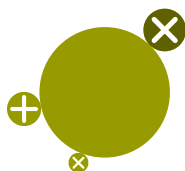
A continuación se recoge en un cuadro resumen la información más importante relativa a las sustancias indeseables, de manera que se pueda consultar de forma práctica cualquier dato relevante.

| CLASIFICACIÓN | SUSTANCIA | MATERIAS PRIMAS DE RIESGO | MÉTODO DE MUESTREO | METODOLOGÍA DE ANÁLISIS | CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO |
|-------------------|-----------|--|--|---|------------------------------------|
| Iones y elementos | Arsénico | Harina y productos derivados de pescado, minerales, forrajes | AOAC 942.17, AOAC 985.16, AOAC 952.13 y UIQPA 3.136. | Espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Cadmio | Minerales, forrajes | Real Decreto 256/2003 y su posteriores modificaciones | Espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Flúor | Minerales, materias primas de origen animal | Directrices generales método de muestreo | Electrodo de ión selectivo | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Mercurio | Harina y productos derivados de pescado, minerales | AOAC 977.15 Real Decreto 256/2003 y su posteriores modificaciones | Espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Nitritos | Harina de pescado, forrajes | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía líquida de alta resolución | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Plomo | Forrajes, minerales | AOAC 994.02 UIQPA 2.632 ISO 12193:1994 Real Decreto 256/2003 y su posteriores modificaciones | Espectrofotometría de absorción atómica (ETAAS) con cámara de grafito | Contenido máximo según RD 465/2003 |

+

CUADRO RESUMEN

| CLASIFICACIÓN | SUSTANCIA | MATERIAS PRIMAS DE RIESGO | MÉTODO DE MUESTREO | METODOLOGÍA DE ANÁLISIS | CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO |
|---------------|-----------------------|--|--|---|--|
| Micotoxinas | Aflatoxina B1 | Cereales, semilla de oleaginosas (algodón) | Método de muestreo específico de micotoxinas AOAC 991.31 AOAC 993.17 AOAC 979.18 Real Decreto 90/2001 y sus posteriores modificaciones | Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección por fluorescencia | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Deoxinivalenol | Cereales (maíz, trigo) | Método de muestreo específico de micotoxinas Reglamento N° 401/2006 y sus posteriores modificaciones | Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) | Recomendación de la Comisión de 17.08.06 |
| | Zearalenona | Cereales (maíz) | Método de muestreo específico de micotoxinas Reglamento N° 401/2006 y sus posteriores modificaciones | Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) | Recomendación de la Comisión de 17.08.06 |
| | Ocratoxina A | Cereales (trigo, cebada) | Método de muestreo específico de micotoxinas Reglamento N° 401/2006 y sus posteriores modificaciones | Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) | Recomendación de la Comisión de 17.08.06 |
| | Fumonisinias B1 + B2 | Cereales (maíz) | Método de muestreo específico de micotoxinas Reglamento N° 401/2006 y sus posteriores modificaciones | Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) | Recomendación de la Comisión de 17.08.06 |
| | Cornezuelo de centeno | Cereales | Directrices generales método de muestreo | Diferentes cromatografías | Contenido máximo según RD 465/2003 |



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**

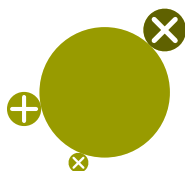


| CLASIFICACIÓN | SUSTANCIA | MATERIAS PRIMAS DE RIESGO | MÉTODO DE MUESTREO | METODOLOGÍA DE ANÁLISIS | CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO |
|---|--|---|---|---|------------------------------------|
| Componentes orgánicos: Pesticidas y dioxinas | Aldrin-Dieldrina | Productos derivados del pescado (aceite), grasa animal | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía capilar de gases junto con la detección del electrón capturado (GC/ECD) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Canfecloro (toxafeno) | Productos derivados del pescado (aceite) | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía capilar de gases junto con la detección del electrón capturado (GC/ECD) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Clordán | Productos derivados del pescado (aceite), grasa animal | Directrices generales método de muestreo | ELISA | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | DDT | Productos derivados del pescado (aceite), grasa animal | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía de gases de alta resolución (HRGC) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Dioxinas y PCBs | Productos derivados del pescado (aceite), productos de origen animal (grasa), minerales | Real Decreto 604/2006 y sus posteriores modificaciones | Cromatografía de gases de alta resolución y detectores de espectrometría de masas (HRGC/HRMS) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Endosulfán | Cereales, semillas oleaginosas | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía capilar de gases junto con la detección del electrón capturado (GC/ECD) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Endrín | Productos derivados del pescado (aceite), grasa animal | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía de gases de alta resolución (HRGC) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Heptacloro | Productos derivados del pescado (aceite), grasa animal | Directrices generales método de muestreo | ELISA | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Hexaclorobenceno | Productos derivados del pescado (aceite), grasa animal, semillas de calabaza | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía de gases de alta resolución con detección por electrón capturado (HRGC/ECD) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| Hexaclorociclohexano | Productos derivados del pescado (aceite), grasa animal | Directrices generales método de muestreo | Cromatografía de gases de alta resolución con detección por electrón capturado (HRGC/ECD) | Contenido máximo según RD 465/2003 | |

+ CUADRO RESUMEN



| CLASIFICACIÓN | SUSTANCIA | MATERIAS PRIMAS DE RIESGO | MÉTODO DE MUESTREO | METODOLOGÍA DE ANÁLISIS | CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO |
|--|---|---|--|--|------------------------------------|
| Plantas y productos naturales de plantas | Ácido cianhídrico | Semilla de lino, semilla de almendro, subproductos mandioca | Directrices generales método de muestreo | Real Decreto 2257/1994 nº 22 | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Esencia volátil de mostaza | Semillas de colza y mostaza | Directrices generales método de muestreo | Real Decreto 2257/1994 nº 24 | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Gospol libre | Semilla, harinas y tortas de algodón | Directrices generales método de muestreo | Real Decreto 2257/1994 nº 36 | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Teobromina | Alubias y cáscara de cacao | Directrices generales método de muestreo | Se extrae la Teobromina en medio acuoso ligeramente alcalino y se determina la concentración por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con detección ultravioleta visible (Detector DAD) | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Viniltiooxazolidona | Harina de colza | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Semillas de malas hierbas | Productos vegetales (según origen) | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Ricino <i>Rizinus communis</i> L. | Productos vegetales (según origen) | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | <i>Crotalaria</i> spp. | Productos vegetales (según origen) | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Albaricoque— <i>Prunus armeniaca</i> L. | Semillas y cáscaras de albaricoque | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Almendra amarga <i>Prunus dulcis</i> | Semilla de almendro | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |



**GUÍA DE PROCEDIMIENTOS DE CONTROL
PARA LA DETERMINACIÓN DE LA SEGURIDAD DE LAS MATERIAS PRIMAS
DESTINADAS A LA ALIMENTACIÓN ANIMAL**



| CLASIFICACIÓN | SUSTANCIA | MATERIAS PRIMAS DE RIESGO | MÉTODO DE MUESTREO | METODOLOGÍA DE ANÁLISIS | CRITERIOS DE ACEPTACIÓN/RECHAZO |
|--|---|--|--|------------------------------------|------------------------------------|
| Plantas y productos naturales de plantas | Hayuco con cáscara Fagus silvatica (L). | Semilla con cáscara de la haya | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Camelina Camelina sativa | Harina de camelina | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Mowrah, Bassia, Madhuca Madhuca longifolia, Madhuca longifolia | Semilla de Madhuca longifolia | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Frailejón —Jatropha curcas L. | Semilla de Jatropha curcas L. | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Crotón —Croton tiglium L. | Semilla de Croton tiglium L. | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Mostaza india Brassica juncea | Semilla de Brassica juncea | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Mostaza de Sarepta Brassica juncea | Semilla de Brassica juncea | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Mostaza china Brassica juncea | Semilla de Brassica juncea | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| | Mostaza negra Brassica nigra | Semilla de Brassica nigra | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 |
| Mostaza de Abisinia Brassica carinata | Semilla de Brassica carinata | Directrices generales método de muestreo | | Contenido máximo según RD 465/2003 | |

© 2006 CESFAC

CONFEDERACIÓN ESPAÑOLA DE FABRICANTES
DE ALIMENTOS COMPUESTOS PARA ANIMALES

PROHIBIDA LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL NO AUTORIZADA,
AÚN CITANDO LA FUENTE

DISEÑO Y ARTE FINAL

DAVID MUÑOZ _ BEM | BOECILLO EDITORA MULTIMEDIA I

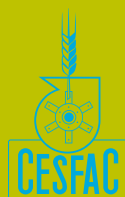
DEPÓSITO LEGAL: VA_1268_2006





**CONFEDERACIÓN ESPAÑOLA DE FABRICANTES
DE ALIMENTOS COMPUESTOS PARA ANIMALES**

www.cesfac.es



CON EL PATROCINIO DE:



MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN