Fuente : Diario Oficial de la Federación **Fecha de publicación:** 15 de Octubre de 2002

NOM-188-SSA1-2002

NORMA OFICIAL MEXICANA, PRODUCTOS Y SERVICIOS. CONTROL DE AFLATOXINAS EN CEREALES PARA CONSUMO HUMANO Y ANIMAL. ESPECIFICACIONES SANITARIAS.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

ERNESTO ENRIQUEZ RUBIO, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamente en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4o. y 69-H de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 3o. fracciones XXll y XXlV, 13 apartado A) fracciones l, ll y IX, 194 fracción I, 195, 199, 201, 205, 210, 214, 284, 401 bis, 401 bis-l y 401 bis-2 de la Ley General de Salud; 38 fracción ll, 40 fracciones l, V, Xll y Xlll, 41, 43 y 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 1o. fracción Vll, 4o., 8o., 15, 25, 112, 113, 116 y quinto transitorio del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios; 28 y 34 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 2 literal C fracción II, 34 y 36 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, y 2 fracciones II y lll, 7 fracción XVI, y 11 fracciones I y ll del Decreto por el que se crea la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** de la siguiente:

Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias, y

CONSIDERANDO

Que con fecha 11 de marzo de 1999, en cumplimiento de lo previsto en el artículo 46 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, la Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios presentó al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, el anteproyecto de la presente Norma Oficial Mexicana.

Que con fecha 14 de junio de 2000, en cumplimiento del acuerdo del Comité y lo previsto en el artículo 47 fracción l de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó en el **Diario Oficial de la Federación** el proyecto de la presente Norma Oficial Mexicana, a efecto de que dentro de los siguientes sesenta días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario.

Que con fecha previa, fueron publicadas en el **Diario Oficial de la Federación** las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado Comité, en términos del artículo 47 fracción lll de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente:

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-188-SSA1-2002, PRODUCTOS Y SERVICIOS. CONTROL DE AFLATOXINAS EN CEREALES PARA CONSUMO HUMANO Y ANIMAL. ESPECIFICACIONES SANITARIAS

PREFACIO

En la elaboración de la presente Norma participaron los siguientes Organismos e Instituciones:

SECRETARIA DE SALUD.

Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios.

Laboratorio Nacional de Salud Pública.

SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACION.

Dirección General de Agricultura.

Dirección General de Inspectoría Fitozoosanitaria.

Dirección General de Salud Animal.

Dirección General de Sanidad Vegetal.

Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal.

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias.

SECRETARIA DE ECONOMIA.

Dirección General de Política, Comercio Interior y Abasto.

Dirección General de Normas.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO.

Instituto de Biología.

ASOCIACION NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN NUTRICION ANIMAL, A.C.

CAMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE TRANSFORMACION.

Comité Técnico de Normalización Nacional de Alimentos Balanceados para Animales.

Sección de Fabricantes de Alimentos Balanceados para Animales.

COMPAÑIA NACIONAL DE SUBSISTENCIAS POPULARES.

PRODUCTOS DE MAIZ, S.A.

INDICE

1. Objetivo y campo de aplicación

2. Referencias

3. Definiciones

4. Símbolos y abreviaturas

5. Especificaciones sanitarias

6. Control documental

7. Muestreo

8. Métodos de prueba

9. Concordancia con normas internacionales y mexicanas

10. Bibliografía

11. Observancia de la Norma

12. Vigencia

13. Apéndices normativos

14. Apéndices informativos

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana, establece el límite máximo permisible de aflatoxinas en los cereales destinados para el consumo humano y animal, así como los lineamientos y requisitos sanitarios para el transporte y almacenamiento de los productos.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el Territorio Nacional para las personas físicas o morales que se dedican a su proceso o importación.

2. Referencias

Esta Norma se complementa con lo siguiente:

NOM-003-ZOO-1994	Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.
NOM-028-FITO-1995	Por la que se establecen los requisitos fitosanitarios y especificaciones para la importación de los granos y semillas, excepto para siembra.

3. Definiciones

Para fines de esta Norma se entiende por:

3.1 Aflatoxinas, a los metabolitos secundarios producidos por varios mohos, cuya estructura química es heterocíclica, pertenecientes al grupo de las bisfurano cumarinas. Poseen toxicidad aguda y crónica, así como efectos mutagénicos y carcinogénicos en animales y el hombre.

3.2 Agentes biológicos, a cualquier organismo capaz de actuar en forma adversa sobre los cereales.

3.3 Almacén, a las instalaciones donde se realizan las actividades como: recepción, almacenamiento, conservación y movilización de los cereales.

3.4 Almacenamiento en intemperie, a la forma de conservación fuera de las bodegas y silos, diseñado para evitar que los cereales entren en contacto con el suelo, agua y otros factores determinantes.

3.5 Cereales, a los granos o semillas comestibles de las plantas de las gramíneas, entre los que se incluyen: arroz, avena, cebada, centeno, maíz, sorgo, titricale y trigo.

3.6 Control, a todas las medidas y disposiciones establecidas con el propósito de prevenir la presencia o evitar el incremento de aflatoxinas en los cereales por encima de los límites permisibles.

3.7 Fauna nociva, a todos los animales capaces de contaminar o destruir los alimentos, por acción mecánica o sus excretas.

3.8 Fungistato, a la sustancia que tiene la propiedad de detener o evitar el crecimiento de los mohos.

3.9 Granel, a los cereales que se almacenan en bodegas o silos y que no están contenidos en un envase específico.

3.10 Instrumento de muestreo, al equipo necesario para la obtención de muestras, pudiendo ser manuales o mecánicos, por ejemplo: caladores cónicos, sonda de profundidad o bala, de alvéolos, los muestreadores Ellis (cucharón), de pelícano, de cangilones, desviador o neumático.

3.11 Limpieza, al conjunto de actividades que tienen por objeto eliminar la suciedad como: tierra, residuos, polvo, grasa u otros materiales extraños en almacenes o unidades de transporte.

3.12 Método de prueba, a los procedimientos analíticos, utilizados en el laboratorio para determinar la presencia de aflatoxinas en los cereales.

3.13 Muestra compuesta, a la que se obtiene reuniendo y mezclando las muestras primarias.

3.14 Muestra primaria, a la obtenida a partir de un punto o momento de muestreo.

3.15 Proceso, al conjunto de actividades relativas a la obtención, elaboración, fabricación, preparación, conservación, mezclado, acondicionamiento, envasado, manipulación, transporte, distribución, almacenamiento y comercialización o suministro al público de los productos.

3.16 Silo, a la construcción cilíndrica de lámina o concreto en donde permanecen los cereales en almacenamiento.

3.17 Suelo, a la capa superior de la tierra, constituida por la fragmentación de la roca y materia orgánica.

3.18 Técnico de muestreo, a la persona encargada de tomar directamente la muestra de cereal de acuerdo con los procedimientos e instrumentos señalados en esta Norma y enviarla al laboratorio o entregarla directamente al verificador.

3.19 Unidades de transporte, a los vehículos en que se traslada el cereal desde el lugar de cosecha hasta el centro de acopio, planta de procesamiento o punto de ingreso al país.

3.20 Verificador, al personal oficial o aprobado por las Secretarías de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y de Salud para desempeñar las acciones de control sanitario.

3.21 Zonas de calentamiento, a la parte de masa de los cereales con la temperatura y humedad más elevada, provocada por un secado inadecuado, humedecimiento accidental, respiración del grano o interacción con agentes biológicos.

4. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta Norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

%	por ciento
	más, menos
	menor o igual a

/	por
°C	grados Celsius
µg	microgramo
µL	microlitro
µm	micrómetro
AF	aflatoxinas
g	gramo
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
kg	kilogramo
M	molar
min	minuto
mL	mililitro
MM	milimolar
mm	milímetro
N	normalidad
ng	nanogramo
nm	nanómetro
Ø	diámetro
PBS	solución amortiguadora de fosfatos
pH	potencial de hidrógeno
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SSA	Secretaría de Salud
t	toneladas
t/min	toneladas por minuto

Cuando en la presente Norma se haga referencia a las Secretarías debe entenderse que se trata de las Secretarías de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación y de Salud.

Cuando en la presente Norma se mencione al Reglamento, debe entenderse que se trata del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios.

Cuando en la presente Norma se mencione a CICOPLAFEST, debe entenderse que se trata de la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas.

5. Especificaciones sanitarias

5.1 Unidades de transporte.

5.1.1 Cereales de importación.

5.1.1.1 Deben sujetarse a lo que se establece en la NOM-028-FITO-1995 señalada en el apartado de referencias.

5.1.2 Movilización dentro del Territorio Nacional.

5.1.2.1 Deben someterse a limpieza, hasta eliminar suciedad, residuos vegetales, suelo, excretas, restos de animales, fauna nociva, telarañas, productos químicos, sus envases, o cualquier producto o sustancia nociva para el producto.

5.1.2.2 En caso de que se apliquen plaguicidas, deben estar autorizados por CICOPLAFEST.

5.2 Almacenamiento de cereales destinados para consumo humano.

Los cereales objeto de esta Norma, además de cumplir con lo establecido en el Reglamento, deben ajustarse a las siguientes disposiciones:

5.2.1 Disposiciones previas a la recepción.

Las bodegas y almacenamiento en intemperie deben:

5.2.1.1 Notificar la apertura a la SSA.

5.2.1.2 Establecer un programa de control de fauna nociva.

5.2.1.3 Someterse a limpieza.

5.2.1.4 En caso de que se apliquen plaguicidas, éstos deben estar autorizados para estos fines por CICOPLAFEST.

5.2.1.5 Establecer por escrito, en su caso, los lugares en los que se almacenarán cereales que rebasen el límite máximo de AF señalado en esta Norma.

5.2.1.6 En el caso de los almacenamientos en intemperies, deben contar con dispositivos que eviten el contacto de los cereales con el suelo y contar con termopares. No deben presentar filtraciones o roturas.

5.2.1.7 Las bodegas deben ser edificios provistos de paredes, pisos y puertas, techados o que puedan ser cubiertos, en los que no deben existir goteras, nidos, fisuras o puertas en mal estado. Asimismo deben contar con termopares.

5.2.2 Durante el almacenamiento.

5.2.2.1 No deben almacenarse en la misma bodega cereales con concentraciones 20 g/kg de AF y los que rebasen este valor.

5.2.2.2 Durante la recepción, el grano debe ser secado a la brevedad hasta alcanzar una humedad 14,5 %, misma que se debe conservar o disminuir durante todo el tiempo que permanezca almacenado.

5.2.2.3 Se permite la aplicación a los cereales de fungistato, siempre y cuando se emplee de acuerdo con las instrucciones del fabricante especificadas en la etiqueta.

5.2.2.4 Los cereales no podrán estar en contacto con el suelo.

5.3 Contaminantes.

5.3.1 Los cereales no deben exceder de 20 µg/kg de aflatoxinas totales.

5.3.2 En el caso de observarse concentraciones desde 21 y hasta 300 µg/kg, el cereal únicamente podrá utilizarse para consumo animal, de acuerdo con el Apéndice Normativo A.

6. Control documental

6.1 El proceso de los productos objeto de esta Norma, debe documentarse en bitácoras o registros de manera que garantice los requisitos establecidos en la Tabla 1. Los registros o bitácoras incluyendo los que se elaboren por medios electrónicos deben:

a) Contar con respaldos que aseguren la veracidad de la información y un procedimiento para la prevención de acceso y correcciones no controladas.

b) Conservarse por lo menos durante 1 año y estar a disposición de la autoridad sanitaria cuando así lo requiera.

c) El diseño del formato queda bajo la responsabilidad del particular.

Tabla 1. Información mínima de las bitácoras o registros de las diferentes etapas del proceso y de las buenas prácticas de fabricación.

REGISTRO DE:	INFORMACION:
Control o erradicación de fauna nociva.	a) Por contratación: - Fecha. - Comprobante de fumigación proporcionado por la empresa responsable. - Sustancias usadas. - Número de licencia de la empresa que aplica. - Responsable. b) Autoaplicación: - Fecha. - Aprobación del responsable técnico. - Sustancias usadas. - Responsable.

Limpieza y desinfección de las instalaciones y equipo.	- Fecha. - Productos usados. - Concentraciones. - Tiempos de contacto. - Procedimiento para evitar la presencia de residuos antes de la llegada de los productos. - Responsable.
Mantenimiento de instalaciones y equipo.	- Tipo de mantenimiento (preventivo o correctivo). - Operación realizada. - Fecha. - Responsable.
Proceso.	a) Diagramas de bloque en los que se describa de manera esquemática el proceso de los productos. b) Lugares donde se almacenarán los cereales que rebasen el límite máximo. c) Origen de los productos. d) Fechas de recepción y de movilización de los productos. e) Localización de los puntos de calentamiento (en su caso).
Análisis del producto.	a) Físicos del grano: - Porcentaje de humedad. - Porcentaje de grano dañado. - Porcentaje de plagas. - Temperatura. - Resultados. - Fechas. b) Aflatoxinas: - Resultados. - Zonas muestreadas. - Fechas. - Método(s) utilizado(s).

7. Muestreo

El muestreo de los cereales objeto de esta Norma además de cumplir con lo que establece la Ley General de Salud, se sujetará a lo siguiente:

7.1 Cereales de importación.

El muestreo de estos productos en los puntos de entrada al país, debe sujetarse a lo que se establece en la NOM-028-FITO-1995 del apartado de referencias.

7.2 Cereales dentro del Territorio Nacional.

Generalidades

7.2.1 Se debe poner a disposición del verificador a un técnico de muestreo con un instrumento de muestreo que permita obtener la muestra. En el caso de producto en costales, el instrumento debe llegar al centro de cada costal muestreado.

7.2.2 Adicionalmente, en el caso de establecimientos, el verificador debe solicitar la toma de muestras provenientes de las zonas de calentamiento. Si no existen durante la visita, las tomará de las últimas zonas de calentamiento registradas.

7.2.3 En los establecimientos, el verificador debe solicitar que se tome la temperatura y la humedad de las muestras.

7.2.4 El verificador levantará un acta en la que haga constar, según sea el caso, el área, número de costales o unidades de transporte muestreadas.

7.2.5 Las bodegas y almacenamientos en intemperie, se dividen en zonas o áreas que contengan hasta 2000 t, obteniéndose de cada una, la muestra compuesta.

7.2.6 Se tomarán una o más muestras primarias en cada uno de los puntos de muestreo que se establecen en 7.3.1 cuando se trate de producto a granel, o en 7.3.2 cuando se trate de producto en costales.

7.2.7 De la suma de las muestras primarias, se constituirá una muestra compuesta, la que se homogeneizará, no debiendo ser menor a 5 kg.

7.2.8 Dependiendo de la altura del volumen almacenado, será el número de extracciones para cada punto de muestreo.

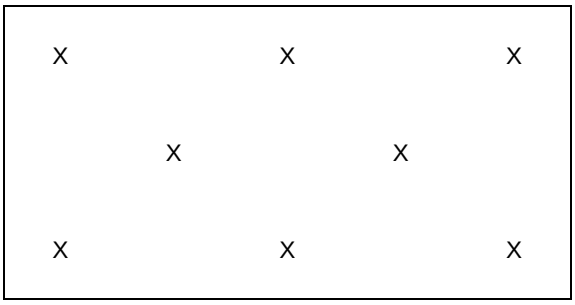
Tabla 2. Profundidad con que se efectúe el muestreo.

Profundidad m.	Instrumento de muestreo	No. de extracciones
1	Sonda de alvéolos	1
2	Sonda de bala, sonda de alvéolos.	3*
3	Sonda de bala, sonda de alvéolos.	3*
4	Sonda de bala.	3*
5	Sonda de bala.	3*

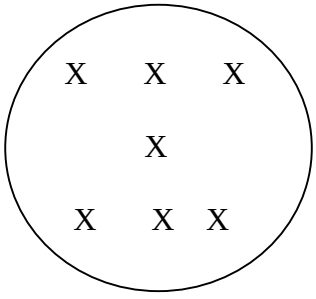
* Las muestras primarias deben obtenerse de diferentes profundidades.

7.3 Puntos de muestreo.

7.3.1 Cereales almacenados a granel en bodegas o almacenamientos en intemperie. Vista superior.



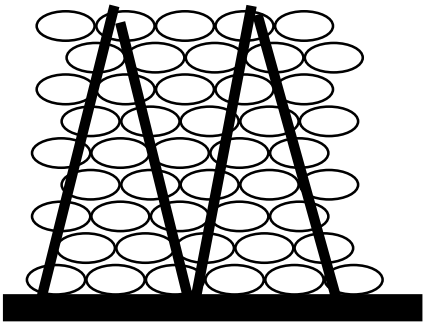
7.3.2 Cereales almacenados a granel en silos. Vista superior.



7.3.2.1 Cuando debido al diseño del silo no sea posible tomar las muestras primarias de la parte superior, se tomarán de las escotillas.

7.3.3 Cereales almacenados en costales.

7.3.3.1 Se deben identificar las estibas, cada una de las cuales se debe muestrear en forma de "M" imaginaria, la que debe ir del primero al último tendido, el ancho máximo de la parte inferior de la "M" no debe ser mayor a 5 m.



Esquema 3. Puntos de muestreo para producto en costales.

7.3.3.2 Debe tomarse una muestra de cada uno de los costales por donde pasen las líneas de la "M" trazada de acuerdo a lo señalado en el esquema anterior.

7.3.3.3 El número mínimo de costales a muestrear por lote, se ajustará a lo señalado en la tabla 2, si el número de sacos almacenados es mayor que el número máximo considerado en la tabla, se muestrearán los restantes como si fuera otro lote.

Tabla 3. Número mínimo de sacos a muestrear por lote

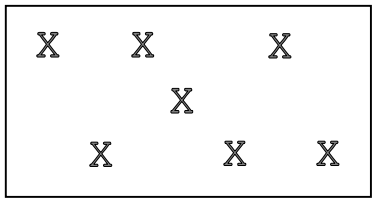
Número de costales

En lote	A muestrear
hasta 99	10
100-199	15
200-299	20
300-499	30
500-799	40
800-1299	55
1300-3199	75
3200-7999	115
8000-21999	150
22000-49999	225

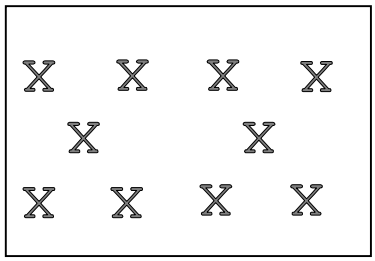
7.3.4 Muestreo de cereales en transportes.

7.3.4.1 Las Secretarías están facultadas para efectuar el muestreo en unidades de transporte en cualquier momento y lugar.

7.3.4.2 Puntos de muestreo.



Esquema 4. Contenedores terrestres de hasta 30 toneladas. Vista superior.



Esquema 5. Contenedores terrestres mayores de 30 toneladas. Vista superior.

7.3.5 Muestreo en movimiento.

7.3.5.1 Las muestras deben tomarse de los lugares o áreas donde el grano se encuentre en movimiento, como durante las operaciones de carga y descarga de las bodegas, almacenamientos en intemperie o durante los movimientos de transferencia entre silos.

7.3.5.2 La cantidad de muestra a obtener, será aproximadamente de 1 muestra primaria de aproximadamente 500 g por cada 12,5 t hasta obtener una muestra compuesta no menor de 5 kg, pudiendo calcularse la frecuencia de introducción del instrumento de muestreo con la siguiente ecuación:

$$M = t/c$$

Donde:

M = frecuencia en min con que se debe introducir el instrumento de muestreo.

t = toneladas representadas por cada muestra primaria (t/muestra).

c = capacidad de la banda transportadora o capacidad de descarga del vehículo (t/min).

7.4 Envío de muestras.

Las muestras deben depositarse en bolsas nuevas de papel kraft, evitando su ruptura y etiquetarse al momento de la toma de muestra, las etiquetas se ajustarán a lo establecido en el Apéndice Normativo B.

8. Métodos de prueba

8.1 Para la verificación sanitaria de las especificaciones que se establecen en esta Norma, se debe aplicar cualquiera de los métodos de prueba señalados en el Apéndice normativo C.

8.2 El particular, para su control interno, podrá utilizar el método de prueba que más se ajuste a sus necesidades.

9. Concordancia con normas internacionales y mexicanas

Esta Norma no es equivalente a ninguna norma internacional ni mexicana, por no existir al momento de su elaboración.

10. Bibliografía

10.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. **Diario Oficial de la Federación**, México, D.F.

10.2 Secretaría de Salud. 1984. Ley General de Salud. **Diario Oficial de la Federación**, México, D.F.

10.3 Secretaría de Salud. 1988. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios. **Diario Oficial de la Federación**, México, D.F.

10.4 Secretaría de Salud. 1999. Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. **Diario Oficial de la Federación**, México, D.F.

10.5 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1993. NOM-008-SCFI-1993. Sistema General de Unidades de Medida, **Diario Oficial de la Federación**, México, D.F.

10.6 Almacenes Nacionales de Depósito. Dirección de Operaciones. 1989. "Almacenamientos temporales". México, D.F. p. 1-16.

10.7 Anderson, H.W. et al. 1975. "Aflatoxin contamination of corn in the field". J. Agr. Food Chem. 23(4): 775-782.

10.8 Auburn University. "Mycotoxins and mycotoxicosis". Alabama Cooperative Extension Service System. www.aces.edu/departament/grain.

10.9 Davis, L. et al. 1980. "Protocols for surveys, sampling, postcollection handling, and analysis of grain samples involved in mycotoxin problems". J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63(1): 95-102.

10.10 Dickens, J.W. "Sampling and detection techniques for aflatoxin in maize" en: Zuber, M.S.; Lillehoj, E.B.; Renfro, B.L. (eds). 1987. "Aflatoxin in maize. A proceedings of the workshop". CIMMYT, M, México, D.F. p. 92-99.

10.11 Diener, U.L.; Davis, N.D. "Biology of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus*". en: Zuber, M.S.; Lillehoj, E.B.; Renfro, B.L. (eds). 1987. "Aflatoxin in maize. A proceedings of the workshop". CIMMYT, M, México, D.F. p. 33 -41.

10.12 Federal Grain Inspection Service. 1988. "Grain inspection handbook. Book I" U.S. Government Printing Office, USA. p. 3-1, 3-2, 4-1, 5-1, 5-2.

10.13 Flores, L.J.; Tapia, P.R. 1993. "Guía para la autoverificación de buenas prácticas de higiene en sus establecimientos". Secretaría de Salud, México, D.F.

10.14 Fennema, O.R. 1991. "Handbook of cereal science and technology". Marcel Dekker Inc. USA. p. 56-59.

10.15 Jones, J.K. et al. 1980. "Factors influencing infection by *Aspergillus flavus* in silk inoculated corn". Plant Disease: p. 859-862.

10.16 Koeltzow, D. et al. 1990. "Comparative evaluation of commercially available aflatoxin test methods". J. Assoc. Off. Anal. Chem (4): 548-589.

10.17 Medina, J.C. et al. "Problemas en la cuantificación de micotoxinas y niveles de contaminación en México" en: "Control de calidad de insumos y dietas acuícolas". Aquilla 2, México, D.F. p. 115-129.

10.18 Ortiz, C.A. 1992. "Manual de procedimientos para el análisis de aflatoxinas". Almacenes Nacionales de Depósito, México, D.F. p. 40-42; 47-61.

10.19 Ortiz, C.A. "Manual de procedimientos para el muestreo de granos". Almacenes Nacionales de Depósito, México, D.F. p. 34-41; 58-73, 78, 79.

10.20 Sauer, D.B. et al. "Conditions that affect growth of *Aspergillus flavus* and production of aflatoxins in stored maize". in: Zuber, M.S.; Lillehoj, E.B. and Renfro, B. (eds). 1987. "Aflatoxin in maize. A proceedings of the workshop". CIMMYT, México, D.F. p. 42-50.

10.21 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1981. NORMA-Z-013/02. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas". **Diario Oficial de la Federación**, México, D.F.

10.22 United States Department of Agriculture. 1999. "Grain fungal diseases & mycotoxin reference". GIPSA, Kansas City, USA p. 2-6.

10.23 Van Egmond, H. 1989. "Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerances and status of standar methods of sampling and analysis". Food Add. Cont. 6(2): 139-188.

10.24 World Health Organization. 1993. "Sampling plans for afltoxin analysis in peanuts and corn". FAO. Food and Nutrition Paper No. 55; Rome, Italy.

11. Observancia de la Norma

La vigilancia en el cumplimiento de la presente Norma corresponde a SAGARPA y SSA en sus ámbitos de competencia.

12. Vigencia

La presente Norma Oficial Mexicana entrará en vigor a los 90 días naturales siguientes al de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

México, D.F., a 1 de agosto de 2002.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **Ernesto Enríquez Rubio**.- Rúbrica.

APENDICE NORMATIVO A

A. De los límites permitidos para consumo animal.

Los cereales con una concentración mayor de 20 µg/kg de aflatoxinas y que se destinen para consumo directo o como parte de alimentos procesados, deberán ajustarse a lo dispuesto en la siguiente tabla.

Especie/etapa de producción	**Límite máximo µg/kg**
Aves (excepto pollos de engorda)	100
Cerdos en engorda: Entre 25 y 45 kg	100
Mayores de 45 kg	200
Maduros destinados a reproducción	100
Rumiantes: Maduros destinados a reproducción	100
De engorda en etapa de finalización	300

APENDICE NORMATIVO B

B.1 Del etiquetado de muestras.

B.1.1 Para muestras de bodega.

Tipo de producto _____

Centro: _____

Ubicación: _____

Bodega No.: _____ Sección: _____

Fecha toma de muestra: _____ Hora: _____

Observaciones: _____

Identificación de la muestra:

B.1.2 Para muestras durante la movilización.

Tipo de producto: _____

Centro de envío: _____

Ubicación: _____

Centro de destino: _____

Ubicación: _____

Nombre o Cía.: _____

Fecha y hora de la toma de muestra: _____

Datos del vehículo: _____

Identificación de la muestra:

B.2 Reporte de laboratorio.

Identificación de la muestra:

Centro: _____

Ubicación: _____

Tipo de producto: _____

Nombre de bodegas muestreadas: _____

Número de muestras compuestas por bodega: _____

Concentración en cada muestra compuesta: _____

Concentración promedio de AF en cada bodega: _____

Identificación de la muestra:

Fecha de realización del análisis:

Vehículo muestreado: _____

Centro de origen: _____

Centro de destino: _____

Concentración de AF: _____

En caso de resultar la concentración de AF mayor o igual a 20 µg/kg reportar a:_____

_____

Fecha de realización del análisis:

APENDICE NORMATIVO C

C. Del método de prueba para la determinación de aflatoxinas en cereales.

C.1 Preparación de la muestra.

Moler la totalidad de la muestra compuesta hasta que pase por un tamiz con una abertura de 850 µm (No. 20).

C.2 Extracción por columnas de inmunoafinidad.

C.2.1 Fundamento.

Las AF son extraídas de la muestra, con metanol al 80%, el extracto es filtrado y diluido con agua, filtrado y pasado a través de una columna de inmunoafinidad la cual contiene un anticuerpo monoclonal específico para AF. En este estado la aflatoxina se liga al anticuerpo de la columna. La columna es entonces lavada con agua para eliminar impurezas. Posteriormente, después de pasar metanol a través de la columna, las AF son removidas del anticuerpo, esta solución es medida en un fluorómetro previa derivatización con solución diluida de bromo. Las AF son cuantificadas en forma total.

C.2.2 Materiales.

C.2.2.1 Columnas de inmunoafinidad.

C.2.2.2 Papel filtro aflautado de 24 cm Ø Whatman No. 1 o equivalente.

C.2.2.3 Papel filtro fibra de vidrio de 11 cm Ø Whatman No. 934AH o equivalente.

C.2.2.4 Matraces Erlenmeyer de 125 mL.

C.2.2.5 Vasos de precipitados de 100 mL.

C.2.2.6 Embudos de plástico de 100 mm Ø.

C.2.2.7 Embudos de plástico de 60 mm Ø.

C.2.2.8 Dosificador de 1 a 5 mL.

C.2.2.9 Dosificador de 5 a 10 mL.

C.2.2.10 Dosificador de 20 a 100 mL.

C.2.2.11 Probeta de 1000 mL.

C.2.2.12 Pipetas volumétricas de 10 mL.

C.2.2.13 Pipetas volumétricas de 5 mL.

C.2.2.14 Pipetas volumétricas de 1 mL.

C.2.2.15 Auxiliar de macropipeteado.

C.2.2.16 Jeringas de vidrio de 10 mL.

C.2.2.17 Estándares de calibración de 3 niveles.

C.2.2.18 Celdas de borosilicato de 12x75 mm.

C.2.2.19 Gradilla de plástico para celdas de 12x75 mm.

C.2.2.20 Preparación de patrones de calibración. De no contar con los estándares provistos por el fabricante, preparar el estándar de calibración de la siguiente manera: use como testigo ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.1N. Como patrón de AF de 20 ng, use 34 mg de sulfato de quinina dihidratada/mL de H_2SO_4 0.1N.

C.2.3 Equipo.

C.2.3.1 Licuadora de alta velocidad con vaso de acero inoxidable o de vidrio de 250 mL.

C.2.3.2 Bomba manual.

C.2.3.3 Mezclador tipo vórtex.

C.2.3.4 Fluorómetro con lámpara pulsada de Xenón o cuarzo-halógeno y filtros de excitación de 360 nm y de emisión de 450 nm.

C.2.4 Reactivos.

C.2.4.1 Solución de metanol al 80%.

Medir 800 mL de metanol grado analítico y mezclar con 200 mL de agua destilada en probeta graduada de 1000 mL.

C.2.4.2 Cloruro de sodio.

C.2.4.3 Metanol grado HPLC.

C.2.4.4 Solución reveladora de bromo al 0,03%.

C.2.4.5 Solución de bromo al 0,03%.

Se mide 1 mL de solución reveladora de concentración al 0,03% y se añaden 9 mL de agua destilada. Preparar el día de su uso.

C.2.4.6 Solución PBS pH 7.3 *.

* En caso que se requiera por parte del fabricante de la columna.

C.2.4.6.1 Preparación PBS pH 7.3. En caso de ser necesaria la preparación de la solución se tienen las siguientes alternativas:

a) Pesar las siguientes sales:

Cloruro de potasio	1 g.
Ortofosfato dihidrogenado de potasio	1 g.
Ortofosfato hidrogenado de sodio (anhidro)	5,8 g.
Cloruro de sodio	40,0 g.

Disolver las sales en aproximadamente 4,5 litros de agua destilada.

Ajustar el pH de la solución a 7.3 utilizando ácido clorhídrico (HCl) o hidróxido de sodio (NaOH), según corresponda.

Completar el volumen final a 5 litros y volver a verificar el pH.

b) Tomar una tableta de PBS y disolver en 100 mL de agua destilada.

Las soluciones permanecen estables durante un mes.

C.2.5 Preparación de la muestra analítica.

C.2.5.1 Pesar 50 g de la muestra molida e introducirla en el vaso de la licuadora.

C.2.5.2 Adicionar 5 g de cloruro de sodio y 100 mL de metanol al 80%.

C.2.5.3 Licuar durante un minuto a alta velocidad.

C.2.5.4 Filtrar a través de papel aflautado de 24 cm de Ø. (Filtrado 1).

C.2.6 Extracción de las AF por medio de columnas de inmunoafinidad.

C.2.6.1 Medir 10 mL del filtrado 1 y adicionar 40 mL de agua destilada. Mezclar y filtrar a través de papel fibra de vidrio (filtrado 2).

C.2.6.2 Medir 5 mL del filtrado 1 y adicionar 35 mL de agua destilada. Mezclar y filtrar a través de papel fibra de vidrio (filtrado 2).

C.2.6.3 Conectar una columna de inmunoafinidad a la punta de una jeringa de vidrio colocada en la bomba manual. En caso de ser necesario pasar a través de la columna 20 mL de PBS.

C.2.6.4 En el caso de seguir el procedimiento descrito en C.2.6.1, medir 10 mL filtrado 2 en la jeringa.

C.2.6.5 En el caso de seguir el procedimiento descrito en C.2.6.2, medir 15 mL del filtrado 2 en la jeringa.

C.2.6.6 Quitar la tapa de la columna de inmunoafinidad y pasar el filtrado 2 a través de ella a razón de un flujo de dos gotas por segundo. Colectar en el frasco para residuos.

C.2.6.7 Lavar la columna dos veces, con 10 mL de agua cada vez.

C.2.6.8 Pasar aire por la columna llevándola a sequedad.

C.2.6.9 En caso de seguir el procedimiento descrito en C.2.6.4., añadir 1 mL de metanol grado HPLC, eluir y recibir en una celda de borosilicato.

C.2.6.10 En caso de seguir el procedimiento descrito en C.2.6.5., añadir 2,3 mL de metanol grado HPLC, eluir y recibir en una celda de borosilicato.

C.3 Cuantificación por fluorometría.

C.3.1 Calibración de los fluorómetros.

La calibración del fluorómetro debe hacerse de acuerdo con la que señale el "Manual del fabricante".

C.3.2 Procedimiento de cuantificación.

C.3.2.1 Una vez separadas las AF de conformidad con lo señalado en el punto C.2.6, proceder con los siguientes pasos:

C.3.2.1.1 Adicionar solución reveladora 1 mL (si se siguió el procedimiento C.2.6.1) o 2 mL (si se siguió el procedimiento C.2.6.2).

C.3.2.1.2 Agitar la celda en el agitador tipo vórtex (eliminar las burbujas que se forman).

C.3.2.1.3 Colocar la celda en el fluorómetro previamente calibrado.

C.3.2.1.4 Leer la concentración de AF totales después de 60 segundos, directamente en µg/kg.

C.4 Método HPLC.

C.4.1 Fundamento.

Las AF son extraídas de la muestra, con metanol al 80%, el extracto es filtrado, diluido con agua y pasado a través de una columna de inmunoafinidad la cual contiene un anticuerpo monoclonal específico para AF B_1, B_2, G_1 y G_2. Las AF son aisladas, purificadas y concentradas en la columna y posteriormente son eluidas con acetonitrilo. El eluido es derivatizado con ácido trifluoroacético. Las AF son cuantificadas en forma individual por cromatografía en fase reversa y detectadas por fluorometría.

C.4.2 Materiales.

C.4.2.1 Columnas de inmunoafinidad.

C.4.2.2 Papel filtro aflautado de 24 cm Ø.

C.4.2.3 Papel filtro fibra de vidrio de 11 cm Ø.

C.4.2.4 Matraces Erlenmeyer de 125 mL.

C.4.2.5 Vasos precipitados de 100 mL.

C.4.2.6 Embudos de plástico de 100 mm Ø.

C.4.2.7 Embudos de plástico de 60 mm Ø.

C.4.2.8 Dosificador de 1 a 5 mL.

C.4.2.9 Dosificador de 10 a 50 m.

C.4.2.10 Micropipetas digitales de 10 a 100 µL; 100 a 1000 µL.

C.4.2.11 Filtros para solventes orgánicos de 47 mm y poro de 0,45 µm.

C.4.2.12 Filtros para solventes acuosos de 47 mm y poro de 0,45 µm.

C.4.2.13 Equipo de filtración Millipore o similar.

C.4.2.14 Dosificador de 20 a 100 mL.

C.4.2.15 Probeta de 1000 mL.

C.4.2.16 Pipetas volumétricas de 10 mL.

C.4.2.17 Pipetas volumétricas de 5 mL.

C.4.2.18 Pipetas volumétricas de 1 mL.

C.4.2.19 Auxiliar de macropipeteado.

C.4.2.20 Jeringas de vidrio de 10 mL.

C.4.2.21 Probeta graduada de 100 mL.

C.4.2.22 Frascos vial de vidrio ámbar con tapón de rosca capacidad de 4 mL.

C.4.2.23 Frascos de vidrio de 1 litro para almacenamiento de fase móvil.

C.4.2.24 Viales de vidrio ámbar de 1,8 mL con septum de rosca.

C.4.2.25 Filtros para muestras de politetrafluoretileno de 13 mm y poro de 0,45 µm.

C.4.2.26 Matraces aforados color ámbar de 50 y 100 mL.

C.4.2.27 Matraces volumétricos de 1 y 2 L.

C.4.2.28 Jeringas desechables de 5 mL con aguja.

C.4.2.29 Frascos color ámbar de 100 mL con tapón.

C.4.2.30 Celdas de cuarzo para espectrofotómetro de 1 cm de paso de luz.

C.4.2.31 Pipetas Pasteur.

C.4.2.32 Pipetas volumétricas de 25 mL.

C.4.3 Equipo.

C.4.3.1 Sistema de degasificación de solventes por membrana de vacío, inyección de helio u otro equivalente.

C.4.3.2 Bombas de gradiente con válvula para mezclado de cuatro solventes o sistema isocrático de bombas.

C.4.3.3 Inyector automático o manual de muestras con loop de 50 µL o más y sistema de autolimpieza.

C.4.3.4 Columna HPLC C-18 de 4,6 x 250 mm o 4,6 x 150 mm, 5 µm de tamaño partícula.

C.4.3.5 Detector de fluorescencia con lámpara pulsada de Xenón y filtros de excitación a 360 nm y de emisión de 450 nm.

C.4.3.6 Graficador, integrador de datos o computadora personal con el software adecuado para el control del equipo y procesamiento de datos.

C.4.3.7 Balanza granataria con una precisión de 0,1 g.

C.4.3.8 Baño de agua con temperatura controlada 65°C.

C.4.3.9 Molino para granos.

C.4.3.10 Licuadora a alta velocidad con jarra de acero inoxidable de 250 mL.

C.4.3.11 Espectrofotómetro de Ultravioleta - visible capaz de hacer barrido de 330 a 370 nm.

C.4.4 Preparación de reactivos.

C.4.4.1. Agua grado HPLC filtrada a través de poro de 0,45µm.

C.4.4.2 Acetonitrilo grado HPLC filtrado a través de poro de 0,45µm.

C.4.4.3 Metanol grado HPLC filtrado a través de poro de 0,45µm.

C.4.4.4. Fase móvil: agua 60%, acetonitrilo 20%, metanol 20%, para columna de 4,6 x 250 mm y agua 70%, acetonitrilo 12% y metanol 18% para columna de 4,6 x 150 mm. Las proporciones de la fase móvil pueden ajustarse a fin de obtener una buena resolución de las AF.

C.4.4.5 Acido trifluoroacético.

C.4.4.6 Agua destilada.

C.4.4.7 Acido acético glacial.

C.4.4.8 Solución derivatizadora.

Mezclar 10 mL de ácido trifluoroacético, 5 mL de ácido acético glacial y 35 mL de agua destilada. Filtrar a través de poro de 0,45µm.

C.4.4.9 Benceno grado espectrométrico.

C.4.4.10 Acetonitrilo grado espectrométrico.

C.4.4.11 Patrones individuales certificados de AFB_1, B_2, G_1 y G_2 en cristales o películas.

C.4.4.12 Mezcla de benceno-acetonitrilo (98+2).

Medir 98 mL de benceno y mezclar con 2 mL de acetonitrilo. Guardar en frasco color ámbar bien tapado.

C.4.4.13 Acido sulfúrico concentrado.

C.4.4.14 Dicromato de potasio.

C.4.4.15 Solución de ácido sulfúrico 0,018 N.

Disolver 1 mL de ácido sulfúrico concentrado y aforar a 2 L con agua.

Soluciones patrón de dicromato de potasio.

Aproximadamente 0,25 mM. Pesar exactamente 78 mg de dicromato de potasio previamente secado en estufa a 100 - 105C durante 2 h, y aforar a 1 L con ácido sulfúrico 0,018 M.

C.4.4.16.1 Aproximadamente 0,125 mM. Diluir 25 mL de la solución de 0,25 mM a 50 mL con ácido sulfúrico 0,018 M.

C.4.4.16.2 Aproximadamente 0,0625 mM. Diluir 25 mL de la solución de 0,125 mM a 50 mL con ácido sulfúrico 0,018 M.

C.4.5 Preparación de soluciones patrón de AF.

C.4.5.1 Inyectar con jeringa desechable y sin abrir los frascos que contienen la aflatoxina, aproximadamente 4 mL de mezcla de benceno: acetonitrilo 98+2. Agitar en mezclador vórtex hasta completar disolución.

C.4.5.2 Abrir con mucho cuidado cada uno de los frascos y, trasvasar analíticamente a un matraz aforado de 100 mL. Aforar con mezcla de benceno: acetonitrilo (concentración aproximada de 100 µg/mL).

C.4.5.3 Medir exactamente 10 mL de esta solución y aforar a 100 mL con benceno: acetonitrilo 98+2 (concentración aproximada de 10 µg/mL).

C.4.5.4 Trasvasar las soluciones anteriores a un frasco color ámbar con tapón y debidamente identificado, y guardar en congelación hasta su uso.

C.4.6 Obtención del espectro de absorción.

C.4.6.1 Dejar equilibrar a temperatura ambiente cada una de las soluciones estándar de aproximadamente 10 µg/mL.

C.4.6.2 Calibrar el espectrofotómetro a 0 de absorbancia utilizando una solución de benceno: acetonitrilo 98+2 como blanco.

C.4.6.3 Efectuar un barrido de 330 a 370 nm de cada una de las soluciones y obtener el valor de absorbancia a la longitud de máxima absorción, la cual debe estar cercana a 350 nm.

Aflatoxina	Absorbancia máxima (A)	Peso molecular (PM)	Coeficiente de extinción ()
B_1		312	19,800
B_2		314	20,900
G_1		328	17,100
G_2		330	18,200

C.4.6.4 Regresar las soluciones de cada una de las AF a su frasco original.

C.4.6.5 Cálculo de la concentración.

g AF/mL = A x PM x 1000 x FC

donde:

FC = Factor de corrección (confrontar instrucciones para el cálculo de factor de corrección).

Cada una de las soluciones debe presentar una concentración entre 8 y 10 µg/mL.

C.4.7 Cálculo del factor de corrección (FC).

C.4.7.1 Calibrar el espectrómetro a 0 de absorbancia utilizando ácido sulfúrico 0,018 N como blanco.

C.4.7.2 Leer la absorbancia de las tres soluciones de dicromato de potasio de menor a mayor concentración, a la longitud de onda de máxima absorción, la cual debe ser cercana a 350 nm.

C.4.7.3 Llenar la siguiente tabla con los valores de absorbancia obtenidos y los cálculos realizados:

Sol. Dicromato de potasio (mM)	Absorbancia a 350 nm (A)	= A x 1000/mM
0,25		
0,125		
0,0625		
		promedio =

C.4.7.4 Calcular el factor de corrección (FC) aplicando la siguiente ecuación:

$$FC = \frac{\mathcal{E}\ \text{promedio}}{3160}$$

donde:

3160 es el coeficiente de extinción () para soluciones de dicromato de potasio.

El valor de FC debe estar en el intervalo de 0,95 a 1,05, de no ser así verificar el instrumento o la técnica para determinar y eliminar la causa.

C.4.8 Preparación de la solución madre de AF de 1000 ng/mL.

De las soluciones madre de AF individuales y de concentración conocida (10 µg/mL), medir las cantidades en microlitros que correspondan a 500 ng de B_1, 300 ng de B_2, 100 ng de G_1 y 100 ng de G_2 para preparar 50 mL de la misma. Aforar a 50 mL con solución de benceno: acetonitrilo (98+2) y agitar. Guardar en frasco vial de vidrio color ámbar perfectamente identificado y en congelación. Cada µL de solución equivale a un ng de AF totales.

C.4.9 Preparación de las soluciones patrón de trabajo.

Medir 20, 50, 100, 150 y 200 µL de la solución madre (1000 ng/mL) en viales de vidrio ámbar. Evaporar a sequedad con nitrógeno. Añadir 1 mL de acetonitrilo grado HPLC. Agitar y guardar en congelación hasta su uso.

C.4.10 Curva estándar de AF en ng/mL.

AF	B_1	B_2	G_1	G_2	Totales
Conc. 1	10	2	6	2	20

Conc. 2	25	5	15	5	50
Conc. 3	50	10	30	10	100
Conc. 4	75	15	45	15	150
Conc. 5	100	20	60	20	200

C.4.11 Preparación de las muestras.

Una vez separadas las AF de conformidad con lo señalado en el punto C.2.6, proceder con los siguientes pasos:

C.4.11.1 Añadir acetonitrilo 1 mL (si se siguió el procedimiento descrito en C.2.6.1) o 1,5 mL (si se siguió el procedimiento descrito en C.2.6.2).

C.4.11.2 Eluir y colectar en un frasco vial color ámbar. Guardar en congelación hasta su uso.

C.4.12 Derivatización de las AF B_1 y G_2.

C.4.12.1 Sacar del congelador las mezclas patrón de trabajo y las muestras preparadas. Llevar a temperatura ambiente.

C.4.12.2 Medir 200 µL de cada una de ellas y adicionar 700 µL de solución derivatizadora, todo en un frasco vial de 1,8 mL. Mezclar por 30 seg.

C.4.12.3 Incubar a 65°C durante 10 min en baño de agua.

C.4.12.4 Enfriar al chorro de agua. Filtrar a través de filtro para muestras de 0,45 L.

C.4.12.5 Guardar en congelación hasta su uso.

C.4.13 Acondicionamiento del cromatógrafo de líquidos.

C.4.13.1 Encender todos los componentes del sistema de cromatografía.

C.4.13.2 Fijar los siguientes parámetros cromatográficos de acuerdo con las instrucciones de operación del equipo:

Fase móvil:
Para columna de 4,6 x 250 mm: agua 60%, acetonitrilo 20%, metanol 20%.
Para columna de 4,6 x 150 mm: agua 70%, acetonitrilo 12%, metanol 18%.

Flujo: 1 mL/min.
Volumen de inyección: 50 L.
Tiempo de análisis: 15 min.
Detector de fluorescencia:
Excitación: 360 nm.
Emisión: 440 nm.

C.4.13.3 Ajustar la atenuación y el factor de respuesta del detector a fin de obtener una sensibilidad óptima.

C.4.13.4 Purgar las bombas del sistema con cada uno de los componentes de la fase móvil usando un flujo de 10 mL/min. Colectar aproximadamente 20 mL.

C.4.13.5 Correr la fase móvil a través de todo el sistema a un flujo de 1 mL/min, hasta obtener una línea base estable (aproximadamente 30 min).

C.4.14 Acondicionamiento del método.

C.4.14.1 Inyectar 50 µL de la mezcla estándar de trabajo derivatizada equivalente a 100 ng/mL de AF totales.

C.4.14.2 Verificar una buena resolución de las 4 AF así como optimizar el tiempo de corrida (aproximadamente 15 min). Las AF eluyen en el siguiente orden: G_1, B_1, G_2 y B_2. Considerar el tiempo de retención de cada aflatoxina.

C.4.14.3 Inyectar por triplicado 50 L de cada una de las cinco mezclas patrón de trabajo.

C.4.14.4 Obtener e imprimir el cromatograma de cada una de ellas.

C.4.14.5 Graficar la concentración de cada aflatoxina contra el área promedio del pico obtenida. Calcular mediante regresión lineal la pendiente, el factor de correlación y la ordenada al origen de cada uno de los gráficos.

1. L solución madre de 1000 ng/mL totales.
2. Cantidad de AFG_1 en ng.
3. Area promedio de pico de AFG_1 en ng.
4. Cantidad de AFB_1 en ng.
5. Area promedio de pico de AFB_1 en ng.
6. Cantidad de AFG_2 en ng.
7. Area promedio de pico de AFG_2 en ng.
8. Cantidad de AFB_2 en ng.
9. Area promedio de pico de AFB_2 en ng.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
20	6		10		2		2	
50	15		25		5		5	
100	30		50		10		10	
150	45		75		15		15	
200	60		100		20		20	

C.4.15 Inyección de muestras.

C.4.15.1 Inyectar 50 L de cada una de las muestras derivatizadas.

C.4.15.2 Obtener e imprimir el cromatograma de cada una de ellas.

C.4.15.3 Identificar cada una de las AF comparando el tiempo de retención contra el obtenido para cada uno de los patrones.

C.4.15.4 Obtener el valor del área de cada AF en la muestra.

C.4.16 Expresión de resultados.

g/kg de AF en la muestra =

$$\frac{\text{Area de pico - ordenada al origen x 1 o 1,5 x dilución}}{\text{pendiente}}$$

Se utilizará 1 o 1,5 dependiendo de la cantidad de acetonitrilo que se agregó al eluato.

El resultado será la sumatoria de los valores de las distintas AF.

C.4.17 Limpieza del sistema de cromatografía.

C.4.17.1 Al terminar los análisis, apagar el detector y el inyector automáticos.

C.4.17.2 Bombear acetonitrilo o metanol por espacio de media hora.

C.4.17.3 Posteriormente apagar el sistema de bombas y la computadora.

C.4.18 Descontaminación de material.

Para la descontaminación del material y equipo utilizado en la determinación de AF, se recomienda seguir el procedimiento establecido en el Apéndice informativo B.

APENDICE INFORMATIVO A

A. De las prácticas de campo.

A.1 Para disminuir el riesgo de contaminación de los cereales con AF, se recomienda lo siguiente:

- Durante la siembra, evitar que la densidad de población sea tan elevada que provoque competencia por los nutrientes entre las plantas. En caso de existir, seleccionar las variedades de semillas que sean menos susceptibles a la colonización por *Aspergillus spp*.

- Tener especial cuidado en el control de las plagas durante las etapas tardías de desarrollo.

- Cosechar cuando la humedad del grano se encuentre entre 20 y 25%.En caso de utilizar trilla mecánica ajustarla de manera que no provoque un elevado porcentaje de grano dañado. Una vez cosechado, enviarlo en unidades de transporte limpios y que no permitan el sobrecalentamiento del grano.

- Enviar el grano a almacenadoras cercanas o cuyo proceso de recepción sea rápido.

APENDICE INFORMATIVO B

B. Del procedimiento de limpieza y descontaminación del material de vidrio y área de trabajo para la determinación de aflatoxinas.

B.1 Objetivo.

Establecer directrices para la descontaminación del material, equipo y área de trabajo utilizados, así como los procedimientos a seguir en caso de derrames y remanentes de extractos de las muestras.

B.2 Generalidades.

El trabajo de limpieza y descontaminación será realizado por personal capacitado y que cuente con equipo protector como bata, guantes impermeables y lentes de seguridad.

B.3 Descontaminación del material de laboratorio.

Todo el material de vidrio que haya sido utilizado durante el análisis, debe sumergirse en una solución de hipoclorito de sodio, la cual se prepara diluyendo una parte de solución comercial de hipoclorito (con una concentración entre 5 y 6%), con diez partes de agua.

Después del tratamiento, el material debe enjuagarse abundantemente con agua corriente, seguido de agua destilada, y secar por escurrimiento o en estufa de 90-100°C.

B.4 Descontaminación del área de trabajo.

Después del análisis, las superficies de las áreas de trabajo deben limpiarse con una toalla desechable impregnada en solución de hipoclorito de sodio.

B.5 Descontaminación de material desechable.

Todo el material desechable, debe sumergirse durante un mínimo de 5 min en la solución de hipoclorito de sodio. La solución descontaminante usada debe eliminarse por el drenaje y los materiales desechables tratados, deben empacarse en una bolsa de plástico sellada para colocarse en el depósito de desechos.

B.6 Tratamiento de derrames.

Los derrames de soluciones de AF deben tratarse inmediatamente con hipoclorito de sodio, vertiéndolo directamente del envase, recoger los líquidos con un papel absorbente, el cual también se colocará en una bolsa de plástico.

B.7 Tratamiento de remanentes de extracto de muestras.

Una vez que se ha separado una alícuota del extracto de la muestra es frecuente que permanezca un remanente del mismo. Estos restos de extractos deben tratarse con una cantidad de hipoclorito de sodio equivalente a la unidad de volumen del residuo a tratar. Los líquidos resultantes se deben acumular en un recipiente para desechos líquidos y eliminarse en un lugar destinado especialmente para éstos.