



Tema 11(a) del programa

CX/CF 12/06/2018  
Febrero 2012**PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS  
COMITÉ DEL CODEX SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS**

Sexta reunión

Maastricht, Países Bajos, 26 – 30 de marzo de 2012

**DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE EL ANTEPROYECTO DE NIVELES MÁXIMOS PARA EL CONTENIDO DE FUMONISINAS EN  
EL MAÍZ Y PRODUCTOS DEL MAÍZ Y PLANES DE MUESTREO ASOCIADOS****INFORMACIÓN GENERAL**

1. La 3ª reunión del Comité del Codex sobre Contaminantes de los Alimentos (CCCCF) acordó iniciar los trabajos para establecer niveles máximos y planes de muestreo asociados para las fumonisinas (FB<sub>1</sub> y FB<sub>2</sub>) en el maíz y algunos productos a base de maíz<sup>1</sup>. Este trabajo fue aprobado por el 32º período de sesiones de la Comisión del Codex Alimentarius.<sup>2</sup> En la 4ª reunión del CCCC, la Delegación del Brasil presentó el documento del *Anteproyecto de niveles máximos para el contenido de fumonisinas en el maíz y productos del maíz y planes de muestreo* (CX/CF 10/4/8), que fue objeto de debate en el Comité.
2. Si bien hubo acuerdo general sobre la necesidad de establecer niveles máximos para las fumonisinas (B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>) en el maíz y los productos del maíz, muchas delegaciones no estuvieron de acuerdo con los niveles propuestos. Las delegaciones africanas expresaron su preocupación en torno a la exposición alimentaria a las fumonisinas, ya que el maíz es un alimento básico en sus países. Una delegación sugirió que se incluyeran las FB<sub>3</sub> en la definición de los NM y algunas delegaciones cuestionaron el plan de muestreo propuesto. En el informe del Comité figuran más detalles sobre el debate de este tema.<sup>3</sup> En vista del debate, el Comité decidió que se suspendiera este trabajo y retener el anteproyecto de NM y planes de muestreo en el Trámite 4 hasta la finalización de la evaluación de las fumonisinas por el JECFA.<sup>3</sup>
3. El presente documento actualiza el que se presentó anteriormente al Comité (CX/CF 10/4/8), e incluye la información y las recomendaciones de la última evaluación de las fumonisinas realizada por el JECFA, en junio de 2011, que figuran en el informe de la 74ª reunión del JECFA (FAO/WHO, 2011). En la elaboración de este documento también se tuvieron en cuenta las observaciones presentadas en la 4ª reunión del CCCC por Corea (CRD 8) y Egipto, la Unión Europea, Guana, el Japón, Kenya, Noruega, las Filipinas, Tailandia, COCERAL y la OIEA (CX/CF 0/4/8 Add.1).
4. Se invita al Comité a examinar las conclusiones y las recomendaciones, en particular los niveles máximos y los planes de muestreo que se proponen, con el fin de establecer el procedimiento a seguir. Al examinar las propuestas, el Comité deberá tener debidamente en cuenta los resultados de la 74ª reunión del JECFA (véase el tema 3a del programa).

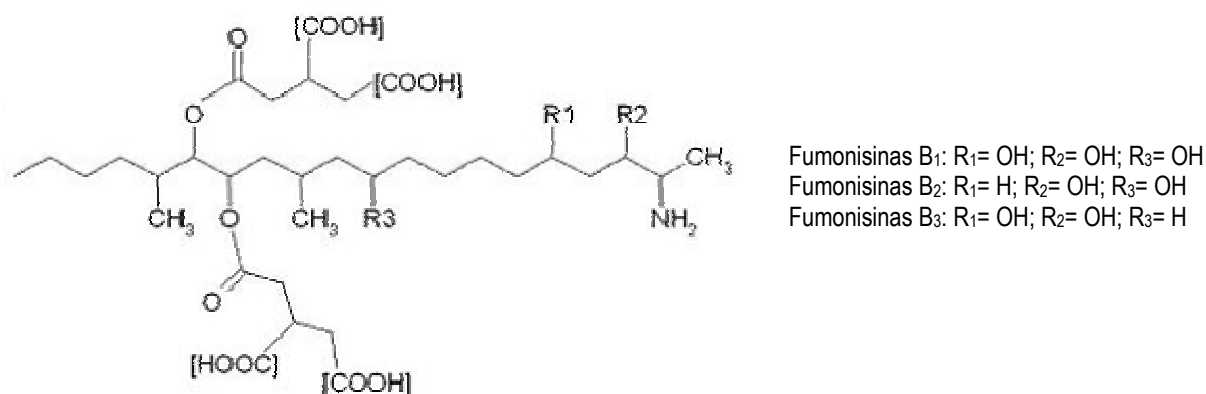
**INTRODUCCIÓN**

5. Las fumonisinas son micotoxinas relacionadas estructuralmente con un grupo de diésteres del ácido propano-1, 2, 3-tricarboxílico y varios 2-amino-12, 16-dimetilpolihidroieicosanos, en los que los grupos hidroxilos C14 y C15 están esterificados con el grupo carboxilo terminal del ácido tricarboxílico (Gráfico 1). Se han identificado por lo menos 18 análogos de las fumonisinas que se han clasificado en las series A, B, C y P, por su estructura química (Sewram *et al.*, 2005, Torres *et al.*, 2007, Kumar *et al.*, 2008). La serie B, que consta principalmente de fumonisinas B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>), y la fumonisinas B<sub>2</sub> (FB<sub>2</sub>), son consideradas los análogos más abundantes en forma natural (WHO, 2011). Recientemente se detectaron 28 isómeros de las FB<sub>1</sub> en un cultivo de arroz en medio sólido infectado con *Fusarium verticillioides*, por RP-HPLC/ESI-TOFMS y RP-HPLC/ESI-ITMS (Bartok *et al.*, 2010)

<sup>1</sup> ALINORM 09/32/41, párr. 101, Ap.VII.

<sup>2</sup> ALINORM 09/32/REP, Ap. VI.

<sup>3</sup> ALINORM 10/33/41 párrs. 85-94.



**Gráfico 1.** Estructura química de FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> y FB<sub>3</sub>

6. Las fumonisinas son producidas principalmente por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (sinónimo *F. moniliforme* Sheldon) (teleomorfo, *Gibberella moniliformis*), *Fusarium proliferatum* (Matsushima) y *Fusarium nygamai* (Marasas *et al.*, 2001; Rheeder *et al.*, 2002.).

7. Frisvad *et al.* (2007) encontraron por primera vez FB<sub>2</sub> en cultivos de *Aspergillus niger*. Posteriormente, se demostró que las cepas de *A. niger* pueden producir FB<sub>2</sub> y FB<sub>4</sub> en las uvas pasas y las pasas (Morgensen *et al.*, 2010) y también FB<sub>2</sub> en el café (Noonim *et al.*, 2010). Månsson *et al.* (2010) aislaron unas nuevas fumonisinas, FB<sub>6</sub>, junto con las FB<sub>2</sub> de cultivos estacionarios del hongo *A. niger* NRRL 326. 2010).

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

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

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

## ASPECTOS BIOLÓGICOS

11. El JECFA evaluó las fumonisinas en sus reuniones 56<sup>a</sup> (2001) y 74<sup>a</sup> (2011). Estudios de laboratorio con animales e *in vitro* han mostrado una perturbación del metabolismo de los lípidos como el sitio inicial de la actividad de las fumonisinas. El mecanismo propuesto basado en los lípidos supone la inhibición de la ceramida sintasa, una enzima clave para la biosíntesis de los esfingolípidos, así como modificaciones del ácido graso poliinsaturado y los grupos de fosfolípidos. Ambos conducen por último a alteraciones mediadas por los lípidos que indican el crecimiento, la muerte y la diferenciación de las células y a vías metabólicas decisivas para dicho crecimiento, muerte y diferenciación de las células (FAO/WHO, 2001; FAO/WHO, 2011).

12. En estudios experimentales con animales se observó que la medida de la perturbación del metabolismo de los esfingolípidos se correlaciona bien con la toxicidad y se ha usado con buenos resultados para demostrar las relaciones entre la estructura y la actividad, la especificidad tisular, la susceptibilidad de la especie y el sexo y la eficacia de las estrategias de intervención en aves de corral, peces, ratas, ratones, cerdos y caballos. Sin embargo, no se conoce el nivel de acumulación de metabolitos de lípidos bioactivos o el agotamiento de los lípidos que constituye una medida cuantitativa de efectos fisiológicos adversos y el JECFA concluyó que la interrupción del metabolismo de los lípidos no se puede utilizar como un punto final toxicológico para la evaluación final (FAO/WHO, 2011).

13. En estudios con animales revisados en ambas reuniones del JECFA, se observó que el hígado y el riñón son los órganos que atacan las FB<sub>1</sub>. En su 56<sup>a</sup> el JECFA asignó una ingesta diaria tolerable máxima provisional (IDTMP) de 2 µg/kg pc/día a las FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> y FB<sub>3</sub>, solas o mezcladas, sobre la base de un NOEL de 0,2 mg/kg pc/día (toxicidad renal en ratones) y un coeficiente de incertidumbre de 100.

14. En su 74ª reunión el JECFA señaló cuatro estudios realizados en animales como adecuados para proporcionar datos para estimar la BMD (dosis de referencia). Se hicieron modelos con el programa de BMD de USPA y los modelos que produjeron correspondencias aceptables ( $P > 0,05$ ) fueron seleccionados para obtener la BMD<sub>10</sub> el BMDL<sub>10</sub> y los valores de una BMR (respuesta de referencia) de 10% de riesgo adicional. El BMDL<sub>10</sub> más bajo fue de 165 µg/kg pc al día para las FB<sub>1</sub> puras (hepatocitos megalocíticos en ratones machos). Con un factor de incertidumbre de 100, la reunión obtuvo una IDTMP de 2 µg/kg pc/d, manteniendo la IDTMP de grupo establecida previamente.

15. Los estudios de epidemiología humana examinados en las dos evaluaciones de las fumonisinas realizadas por el JECFA indicaron una asociación entre la presencia de *Fusarium verticillioides* en el maíz y la incidencia de cáncer de esófago en diversas regiones del mundo. Sin embargo, no se ha establecido todavía una relación dosis-respuesta, ni se ha dilucidado un mecanismo toxicológico. Además, las diferencias geográficas de demografía, grupos étnicos, susceptibilidad genética, cultura, economía y condiciones nutricionales repercuten en las tasas de cáncer de esófago.

16. Un estudio de la relación entre la exposición a las fumonisinas y el retraso del crecimiento en los niños en la República Unida de Tanzania, evaluado en la 74ª reunión del JECFA indicó que los lactantes cuyas exposición estimada a la fumonisinas superaba la IDTMP de 2 µg/kg pc eran significativamente más pequeños y con menos peso que aquellos cuya exposición fue inferior a esta IDTMP. Estos resultados están de acuerdo con los estudios en animales en los que se asoció la exposición a las fumonisinas con un aumento reducido de peso y la eficiencia de conversión de los piensos (FAO/WHO, 2011).

17. La evaluación del JECFA incluyó informes de índices más altos de defectos en el tubo neural (DTN) en zonas de Sudáfrica, China y los Estados Unidos, en momentos en que los alimentos consumidos a base de maíz contenían concentraciones relativamente elevadas de fumonisinas. Dado que la deficiencia de folato se ha asociado con la formación de DTN, la obstrucción de la ingesta de folato por las fumonisinas puede haber sido un factor a este respecto. Un nuevo estudio de la incidencia de defectos del tubo neural entre los mexicano-americanos en la frontera de Texas con México, junto con los estudios toxicológicos y epidemiológicos anteriores, confirma que la exposición a las fumonisinas en mujeres gestantes puede ser un factor que contribuye a un mayor riesgo de defectos del tubo neural en sus bebés (FAO/WHO, de 2011).

18. El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) clasificó las FB<sub>1</sub> como posibles carcinógenos para los seres humanos (Grupo 2B) (IARC, 2002).

## MÉTODOS DE ANÁLISIS

19. Los métodos ELISA han recibido mucha atención recientemente porque se pueden utilizar con fines de análisis rápido sobre el terreno o en laboratorio (Castells *et al.*, 2008). Sin embargo, estos métodos por lo general sobreestiman la concentración de fumonisinas presente en las muestras a consecuencia de la reactividad cruzada de los anticuerpos con los compuestos que están estructuralmente relacionados con las fumonisinas (Bird *et al.*, 2002; Jackson y Jablonski, 2004).

20. Las fumonisinas son moléculas polares, solubles en agua y en disolventes polares y, por tanto, son idóneas para su determinación mediante HPLC de fase inversa. Dado que carecen de un importante cromóforo UV se pueden detectar concentraciones bajas de fumonisinas después de obtener extractos de muestras con posterior detección por fluorescencia (Ndube *et al.*, 2011). En general, las fumonisinas pueden extraerse del maíz o de los productos a base de maíz con agua metanol o agua acetonitrilo. Por lo general se utilizan cartuchos de limpieza C18, SAX o columnas de inmunoafinidad (Sydenham *et al.*, 1996; Solfrizzo *et al.*, 2001; Caldas and Silva, 2007). El límite de cuantificación (LOQ) de los métodos HPLC/fluorescencia oscila entre 0,02 µg/kg y 0,5 µg/kg. La HPLC/fluorescencia es el método oficial [995.15] de la AOAC-IUPAC para los granos de maíz en concentraciones de 0,5 µg/g a 8 µg/g de FB<sub>1</sub> o de 0,8 µg/g a 12,8 µg/g del total de fumonisinas (Sydenham *et al.*, 1996). Wang *et al.* (2008) analizaron las fumonisinas FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub>, FB<sub>3</sub> y FB<sub>4</sub> con HPLC acoplada a un detector de dispersión de evaporación láser sin ninguna derivatización previa de las muestras, con un LOQ de 0,3 mg/kg.

21. En los últimos años se han utilizado mucho los métodos de LC/MS o LC/MS-MS porque proporcionan un análisis cuantitativo, así como confirmación de la identidad de las fumonisinas. Silva *et al.* (2009) demostraron que la LC/MS-MS ofrece una sensibilidad mayor (12 µg/kg para las fumonisinas FB<sub>1</sub> y FB<sub>2</sub>) en comparación con la LC/MS (40 µg/kg para ambas fumonisinas), y detección por fluorescencia (20 µg/kg para las fumonisinas FB<sub>1</sub> y 15 µg/kg para las fumonisinas FB<sub>2</sub>), y también demostró tener más precisión. Senyuva *et al.* (2010) documentaron un estudio de validación interlaboratorios para las fumonisinas B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> en maíz, con participación de 12 laboratorios en 11 países. La muestra se extrajo con acetonitrilo, metanol y agua, se limpió en una columna de inmunoafinidad y las fumonisinas se analizaron con LC/MS. Los valores relativos de la desviación estándar para la repetibilidad en laboratorio (RSD<sub>r</sub>) varió de 1,9% a 12,6% y la reproducibilidad entre laboratorios (RSD<sub>R</sub>) de 18,2% a 25,5%. Los valores HorRat para la r y la R fueron inferiores a 2, lo que indica que el método es un método adecuado de regulación para el cumplimiento de los límites del contenido de fumonisinas en el maíz. Monbaliu *et al.* (2010) informaron de un método de LC-MS/MS para la detección de toxinas en 23 muestras de piensos, incluidas las fumonisinas FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> y FB<sub>3</sub>.

22. Fodor *et al.* (2008), Pagliuca *et al.* (2005) y Gazotti *et al.* (2011) documentaron métodos para la cuantificación de las fumonisinas y sus metabolitos hidrolizados en matrices de origen animal. Con el método de Gazotti *et al.* (2011) se extrajeron muestras de hígado de cerdo en metanol con agua, se limpiaron en cartuchos HLB Oasis y se analizaron las fumonisinas FB<sub>1</sub> y FB<sub>2</sub> y sus metabolitos hidrolizados con LC-MS/MS. El LOQ fue de 10 µg/kg para todos los analitos.

23. Las fumonisinas enlazadas con almidones y proteínas observadas en alimentos sometidos a tratamiento térmico durante la elaboración, como los cereales para el desayuno y las tortillas, no se pueden detectar por medio de los análisis ordinarios. En un método descrito por Kim *et al.* (2003), se extrajeron fumonisinas FB<sub>1</sub> enlazadas a proteínas con dodecilsulfato de sodio (SDS) al 1%, las fumonisinas enlazadas se hidrolizaron con 2 N de KOH, el extracto se limpió con un cartucho polimérico OASIS y las fumonisinas se determinaron por HPLC como HFB<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub> hidrolizadas). Este método fue mejorado posteriormente por Park *et al.* (2004) añadiendo al SDS azul de metileno, con lo que se eliminó su interferencia en el análisis por HPLC. Dall'Asta *et al.* (2008) informaron de un método de LC/MS/MS para la cuantificación simultánea de las fumonisinas libres y las encubiertas en el maíz y los productos de maíz.

24. El JECFA determinó en su 74<sup>a</sup> reunión que los problemas actuales relacionados con los métodos de análisis incluyen la falta de materiales de referencia adecuados para la validación del método y la falta de normas, en particular para las fumonisinas hidrolizadas (HFB<sub>1</sub>, HFB<sub>2</sub>, HFB<sub>3</sub>) y FB<sub>6</sub>.

## PLANES DE MUESTREO

25. Un método para evaluar el funcionamiento de un plan de muestreo para las fumonisinas se basa en conocer la variabilidad asociada a un procedimiento de análisis dado para las fumonisinas y a la distribución entre los resultados repetidos de las muestras tomadas de un lote de maíz contaminado. Los planes de muestreo para las fumonisinas se definen por el procedimiento de análisis y los niveles máximos para las fumonisinas. La elección del número y el tamaño de la muestra de laboratorio es una transacción entre minimizar los riesgos (falsos positivos y falsos negativos) y los costos relacionados con el muestreo y la limitación del comercio (Whitaker *et al.*, 2007).

26. En un estudio realizado por Whitaker *et al.* (1998) sobre las fumonisinas en maíz sin cáscara, se tomó una muestra global de cerca de 45 kg de cada uno de los 24 lotes de maíz sin cáscara cosechado en 24 campos de Carolina del Norte (Estados Unidos). Cada muestra global se dividió con un divisor en 32 muestras de análisis de 1,1 kg, que se trituraron en un molino Romer. En un lote dado con un nivel de contaminación de 2 mg/kg, el coeficiente de variación (CV) asociado con el muestreo (muestra de maíz sin cáscara de 1,1 kg) fue del 17%, el CV asociado con la preparación de la muestra (molino Romer y porción de ensayo de 25 g) fue del 9,1%, y el CV de análisis (HPLC y 1 alícuota cuantificada) fue del 9,7%. Estos valores son independientes del tipo de fumonisinas. El coeficiente de variación asociado con el procedimiento de ensayo total era del 45%, que era del mismo orden de magnitud que en la medición del contenido de aflatoxinas en el maíz sin cáscara en un procedimiento de ensayo similar.

27. En un estudio de muestreo llevado a cabo con maíz sin cáscara de calidad alimentaria, comercializado en Nigeria en 2002, se tomó un promedio de 17 muestras de análisis, de 100 g cada una, de cada uno de los 86 lotes de maíz (Whitaker *et al.*, 2007). Cada muestra de ensayo se molió finamente con un molino Romer y se tomó una submuestra de análisis de 25 g para analizar las fumonisinas FB<sub>1</sub> por HPLC. La varianza, la desviación estándar y el coeficiente de variación entre muestras de 100 g para detectar las fumonisinas en un cargamento de maíz con una concentración real de 2 µg/g fueron 1,91%, 1,38% y 69%, respectivamente. La incertidumbre asociada con el procedimiento de análisis de las fumonisinas fue similar en magnitud a la incertidumbre encontrada previamente por los autores en los Estados Unidos (Whitaker *et al.*, 1998).

28. En la actualidad no hay estudios disponibles que evalúen los planes de muestreo para las fumonisinas en el maíz/harinas/sémolas de maíz. En CX/CF 10/4/8 se propuso a la 4<sup>a</sup> reunión del CCCF un plan de muestreo para el maíz/harinas/sémolas de maíz. En ese documento se presentaron varias curvas de operación (CO) para que las examinara el Comité. Las preparó el Dr. Thomas Whitaker utilizando los datos de laboratorio empleados en su estudio realizado en los Estados Unidos con maíz en grano (Whitaker *et al.*, 1998). Se utilizó la distribución normal para calcular las curvas CO (Thomas Whitaker, comunicación personal).

29. La variabilidad total del procedimiento de análisis de las fumonisinas para el maíz y las harinas de maíz (o cualquier material triturado) es la suma de la varianza del muestreo y la varianza analítica. Como el material se tritura, no hay varianza en la preparación de la muestra. Aunque no hay datos de laboratorio disponibles es probable que la variabilidad del muestreo para la harina (V<sub>sf</sub>) fuera muy inferior a la variabilidad del muestreo en el grano triturado con el molino Romer (V<sub>sr</sub>) porque el tamaño de la partícula de la harina elaborada es mucho menor que la triturada con el molino Romer (V<sub>sf</sub> << V<sub>sr</sub>). La variabilidad analítica sería aproximadamente la misma para ambos, la harina elaborada y los granos triturados con el molino Romer. La varianza del muestreo sería un componente mayor del total de la varianza cuando el muestreo es con cereal triturado con el molino Romer. El tamaño de partícula repercute en el funcionamiento del plan de muestreo. Para un determinado tamaño de muestra, mientras más pequeñas sean las partículas (más partículas por unidad de masa), menor será la variabilidad del muestreo, menos serán los lotes buenos rechazados (riesgo del exportador), y menos los lotes malos aceptados (riesgo del importador) (Whitaker BT, comunicación personal, 2012).

30. Al utilizar los datos de maíz en grano triturado en un molino Romer, se preverá una muestra más grande que la necesaria para la harina elaborada para los mismos niveles de riesgo, es decir, se requiere menos cantidad de muestra de harina elaborada para los mismos niveles de riesgo (Whitaker BT, comunicación personal, 2012).

## ASPECTOS AGRICOLAS, TECNOLÓGICOS Y COMERCIALES

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

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

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

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

### Estabilidad de las fumonisinas durante la elaboración

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

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

37. Un estudio realizado en tres molinos comerciales de maíz mostró que las fumonisinas se distribuyen en el caudal del molino aproximadamente de acuerdo con su incidencia en la estructura de la semilla de maíz (Scudamore & Patel, 2009). Las concentraciones de micotoxinas que se encuentran en los granos y harinas, que comúnmente se obtienen sobre todo del endospermo, contienen los niveles más bajos de micotoxinas y las concentraciones están más estrechamente relacionadas con el tamaño de partícula. El contenido de fumonisinas presente en los productos triturados varía mucho con las condiciones de la molturación y el tipo y condición de cada lote de maíz. Los niveles encontrados en la harina de maíz podrían representar del 26% al 310% de las cantidades presentes en el maíz en grano inicial.

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

39. Los efectos de la aplicación de calor en la estabilidad de las fumonisinas dependen de los distintos procedimientos, las temperaturas y la duración de la aplicación de calor. Muchos estudios han documentado una reducción significativa de los niveles de fumonisinas durante la elaboración a temperaturas  $>150^{\circ}\text{C}$ , como las utilizados para la producción en seco o en húmedo de sémolas de maíz (Scott & Lawrence, 1995), al freír totopos de maíz (Jackson *et al.*, 1997), hornear, asar y con cocción alcalina (Castelo *et al.*, 1998, Jackson *et al.*, 1997, Katta *et al.*, 1999) así como en la fabricación de hojuelas, la cocción y el tostado (de Girolamo *et al.*, 2001). En todos estos estudios, las fumonisinas se analizaron con el método tradicional, que no detecta las fumonisinas enlazadas (ocultas, encubiertas).

40. Bullerman *et al.*, (2008) demostraron que con glucosa se extruyen  $\text{FB}_1$  *N*-(desoxi-D-fructos-1-il), además de  $\text{FB}_1$  hidrolizadas ( $\text{HFB}_1$ ) y  $\text{FB}_1$  *N*-carboximetil. Seefelder *et al.* (2003) mostraron que las  $\text{FB}_1$  y  $\text{HFB}_1$  se pueden unir a los polisacáridos y las proteínas a través de sus dos cadenas secundarias de ácido tricarbálico. Actualmente hay métodos de análisis para detectar esas fumonisinas enlazadas en la matriz de los alimentos.

41. Voss *et al.* (2006) evaluaron la toxicidad de maíz granulado con fumonisinas FB<sub>1</sub> extruidas con el 10% de glucosa y suministrado a ratas. Con una excepción, los productos extruidos a los que se añadieron fumonisinas B<sub>1</sub> y se fermentaron causaron lesiones renales moderadas y reducción del peso de los riñones, efectos comúnmente observados en ratas expuestas a fumonisinas. Las lesiones en ratas alimentadas con gránulos contaminados después de la extrusión con glucosa fueron considerablemente menos graves y no presentaron modificaciones del peso de los riñones. Los autores concluyeron que la extrusión complementada con glucosa puede ser útil para reducir de forma inocua la toxicidad de las fumonisinas en los productos a base de maíz. Lu *et al.* (2002) llegaron a la misma conclusión y mostraron que la glucosa se une a las fumonisinas a través del grupo amino. Dall'Asta *et al.* (2010), sin embargo, observaron una cantidad más elevada del total de las fumonisinas detectables en alimentos digeridos *in vitro* en comparación con la matriz sin digerir, una cantidad aun mayor que la calculada a través de la aplicación del procedimiento de hidrólisis.

42. La nixtamalización es un procedimiento para elaborar masa para tortillas y otros productos de maíz, que consiste en hervir y remojar el maíz en una solución de hidróxido de calcio. Este procedimiento puede reducir la concentración de fumonisinas de 50% a 80%, y en su forma hidrolizada se detecta del 35% al 60% de fumonisinas (Burns *et al.*, 2008; Dombink-Kurtzman *et al.*, 2000). Se ha señalado que un procedimiento modificado de nixtamalización que incorpora diversas combinaciones de peróxido de hidrógeno y bicarbonato de sodio además del hidróxido de calcio produce una reducción del 100% de las FB<sub>1</sub>, sin embargo, con un procedimiento de análisis con artemia salina, el producto de masa presentó alrededor del 60% de la toxicidad del maíz sin tratar (Park *et al.*, 1996). Burns *et al.* (2008) indicaron que la matriz de interacción del maíz con micotoxinas durante la nixtamalización reduce la biodisponibilidad y la toxicidad de las FB<sub>1</sub> en las ratas.

43. Palencia *et al.* (2003) observaron que las tortillas preparadas con el método tradicional de nixtamalización de las comunidades mayas contenían FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> y FB<sub>3</sub>, y sus contrapartes hidrolizadas. Hubo cantidades equimolares de FB<sub>1</sub> y HFB<sub>1</sub> en las tortillas, pero el total de fumonisinas se redujo un 50%. También se observó una elevación reducida de esfinganina en las células tratadas con extractos de tortillas, en comparación con las células tratadas con extractos de maíz contaminado.

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

45. Visconti *et al.* (1996) observaron que las radiaciones gama (15 kGy) esterilizan efectivamente la harina de maíz, pero sólo producen una reducción de alrededor del 20% de su contenido de fumonisinas. Ferreira-Castro *et al.* (2007) observaron que es posible disminuir la concentración de fumonisinas aplicando radiaciones al maíz de 5 ó 10 kGy; sin embargo, a 2 kGy, los hongos sobrevivientes (36%) pueden producir más fumonisinas que los hongos en las muestras de control. Aziz *et al.* (2007) descubrieron que el cómputo de viables de *Fusarium* en las semillas disminuyó aumentando las dosis de radiación; 7 kGy fue suficiente para destruir por completo las fumonisinas FB<sub>1</sub> en el trigo y el maíz.

## PRESENCIA EN LOS ALIMENTOS

46. La presencia de fumonisinas en el maíz y en otros cultivos en todo el mundo varía considerablemente de acuerdo con muchos factores, que incluyen las condiciones ambientales, el grado de daños causados por los insectos, los híbridos de maíz utilizados y las prácticas agronómicas empleadas.

47. Esta presencia está bien documentada y examinada en la bibliografía y por el JECFA (FAO/WHO, 2001; FAO/WHO, 2011). Debido a que son solubles en agua es improbable que se acumulen fumonisinas en los tejidos animales, por lo cual no se han detectado o se han encontrado en concentraciones en extremo bajas en la leche, huevos y carne (Prelusky *et al.*, 1996; Miller *et al.*, 1996). Se han detectado concentraciones bajas de fumonisinas en cerveza comercial, probablemente a causa de la utilización de maíz granulado en vez del uso común de cebada o además del uso de ésta en el proceso de elaboración de la cerveza (Scott and Lawrence, 1995; Hlywka and Bullerman, 1999; Maenetje *et al.*, 2007).

48. El JECFA en su 74ª reunión (FAO/WHO, 2011) recibió información sobre la presencia natural de fumonisinas de una serie de países (Argentina, Australia, Brasil, Canadá, China, Ghana, el Japón, la República de Corea, Singapur, la República Unida de Tanzania, Uruguay, los Estados Unidos) y algunos estados miembros de la UE (Austria, Bélgica, Chipre, la República Checa, Estonia, Francia, Alemania, Hungría, Lituania, Luxemburgo, los Países Bajos, Eslovaquia y España) presentaron resultados a través de la EFSA. Además, en la evaluación también se examinaron datos publicados en bibliografía de 47 países. La mayor parte de los datos de presencia correspondían a las fumonisinas FB<sub>1</sub>, FB<sub>2</sub> y FB<sub>3</sub>, con estudios recientes que muestran algunas muestras contaminadas naturalmente con 3-*epi*-FB<sub>3</sub>, FB<sub>4</sub> y FB<sub>6</sub>. Todos los datos de presencia se clasificaron de acuerdo con los grupos de consumo de alimentos del SIMUVIMA/Alimentos (WHO, 2006).

49. En el Cuadro 1 se presentan los datos de 10.354 muestras analizadas para cuantificar el contenido de FB<sub>1</sub> en los alimentos (43% de América, 34% de Asia, 12% de África, 10% de Europa y 0,1% de Oceanía) (FAO/WHO, de 2011). Más del 80% de las muestras analizadas se refieren al maíz. La media de los niveles de FB<sub>1</sub> en el maíz varía ampliamente entre y dentro de los grupos del SIMUVIMA/Alimentos, con niveles del límite inferior mínimo y el límite superior máximo de 84 y 4.323 µg/kg, respectivamente. El límite superior de la media del total general del contenido de FB<sub>1</sub> en el maíz fue de 1.260 µg/kg y en todos los demás productos no excedió los 100 µg/kg.

**Cuadro 1: Niveles de fumonisinas en productos alimentarios (FAO/WHO, 2011)**

Producto	Núm. de muestras individuales	% de la muestra <LOD o LOQ	Media del total* general (µg/kg)		Media (µg/kg) en los grupos del SIMUVIMA/Alimentos (estimaciones de los límites inferior y superior)	
			Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Cebada	175	82	35	44	0	212
Trigo sarraceno	95	100	0	3	0	3
Higos secos	230	25	238	250	238	250
Cacahuets sin cáscara	16	81	97	105	97	105
Maíz	8.569	30	1.237	1.260	84	4.323
Mijo	42	86	0	8	0	8
Avena	17	88	1	10	1	10
Arroz	242	96	2	31	0	100
Sorgo	17	76	35	74	0	151
Soja (seca)	137	53	33	34	0	84
Maíz dulce, en grano	740	66	84	94	0	397
Trigo	74	80	38	48	0	221

\* La media del total general del límite inferior y el límite superior se obtuvo reuniendo los datos de los grupos del SIMUVIMA/Alimentos; al calcular los valores medios, se atribuyó un valor de cero a las muestras en las que la concentración estaba por debajo del LOQ o el LOD (estimaciones del límite inferior) o del propio límite (estimaciones del límite superior).

50. En el Cuadro 2 se presentan los datos del total de fumonisinas de 12.392 muestras (49% de América, 27% de Asia, 13% de Europa, 11% de África y 0,1% de Oceanía). Más del 80% de las muestras se refieren al maíz. La media de los niveles de FB<sub>1</sub> en el maíz varía ampliamente entre y dentro de los grupos del SIMUVIMA/Alimentos, con los niveles del límite inferior mínimo y el límite superior máximo de 174 y 5.921 µg/kg, respectivamente.

51. Los niveles más bajos de contaminación de fumonisinas encontrados en alimentos tratados térmicamente, tales como muestras de harinas de maíz precocidas, aperitivos y hojuelas de maíz que figuran en muchos estudios se pueden explicar por las fumonisinas enlazadas que se forman durante la elaboración y que no se pueden detectar con los métodos analíticos ordinarios (Seefelder *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2002). Kim *et al.* (2003) encontraron un promedio de 2,6 veces más FB<sub>1</sub> presentes en fase enlazada en hojuelas de maíz que con el método convencional. Park *et al.* (2004) encontraron cerca de 1,3 veces más FB<sub>1</sub> en forma enlazada que las FB<sub>1</sub> extraíbles en las 15 muestras de alimentos a base de maíz elaborados con álcalis, como los totopos de tortillas y las hojuelas de maíz analizados.

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

**Cuadro 2: Niveles del total de fumonisinas en los productos alimentarios (FAO/WHO, 2011)**

Producto	Núm. de muestras individuales	Media del total* general (µg/kg)		Media (µg/kg) en los grupos del SIMUVIMA/Alimentos (estimaciones de los límites inferior y superior)	
		Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Cebada	123	51	102	0	340
Trigo sarraceno	96	0	10	0	10
Maíz	10.759	1.651	1.681	174	5.921
Mijo	42	0	18	0	18
Avena	26	1	23	0	200
Arroz	207	1	59	0	104
Soja (seca)	106	6	11	0	30
Maíz dulce, en grano	939	131	164	0	549
Trigo	94	0	29	0	200

\* La media del total general del límite inferior y el límite superior se obtuvo reuniendo los datos de los grupos del SIMUVIMA/Alimentos; al calcular los valores medios, se atribuyó un valor de cero a las muestras en las que la concentración estaba por debajo del LOQ o el LOD (estimaciones del límite inferior) o del propio límite (estimaciones del límite superior).

**53. La información sobre la presencia natural de fumonisinas en las materias primas se elaboró con los datos proporcionados por** varios países (Brasil, China, el Japón, Noruega, Sudáfrica y Uruguay), los resultados presentados por los Estados miembros de la UE a través de la EFSA (Bélgica, Estonia, Francia, Hungría, Lituania, Países Bajos y Eslovaquia), un proveedor comercial de piensos y los estudios publicados. Se seleccionaron para la evaluación los datos de 7.060 muestras procedentes de África (4,5%), América (13,3%), Asia (69,8%), Europa (4,5%) y Australia y Nueva Zelanda (7%) (Cuadro 3). Los niveles encontrados en los piensos de maíz están dentro del mismo rango que los que se encuentran en el maíz para consumo humano (Cuadro 2).

**Cuadro 3: Niveles de fumonisinas (B1+ B2+ B3) enpiensos (FAO/WHO, 2011)**

Producto	Núm. de muestras individuales	% de la muestra <LOD o LOQ	Concentración media*	
			Límite inferior	Límite superior
Cereales	384	87	97	313
Harina de gluten de maíz	18	-	3.807	3.807
Granos secos de destilería con solubles	185	14	1.077	1.110
Granos de destilería más solubles	78	23	825	883
Pienso terminados	2353	30	691	765
Maíz	1.927	24	1.565	1.625
Otros piensos	1.391	75	339	524
Arroz	20	95	38	275
Ensilado	248	79	184	383
Soja y productos de soja	362	93	52	283
Trigo	88	89	28	250

\*Se atribuyó un valor de cero a las muestras con una concentración inferior al LOQ o al LOD (estimaciones del límite inferior) o el propio límite (estimaciones del límite superior).

54. En el Cuadro 4 figura un resumen de los datos sobre el maíz y los productos de maíz presentados por los gobiernos en la 4ª reunión del CCCF. Se analizó una gran variedad de productos y sólo se muestran los resultados de los más comunes. El mayor número de muestras analizadas fueron de maíz, harinas y sémolas de maíz. Son productos con diferente tamaño de grano obtenido después de retirarse el germen y moler el maíz. Por lo menos el 61% de las muestras de maíz, sémolas y harinas de maíz dieron resultados positivos para las fumonisinas, y en la mayoría de los casos, los niveles medios fueron <10.000 µg/kg. En un mismo país, el contenido de fumonisinas observado en el maíz y las sémolas de maíz es superior al encontrado en el maíz/harina flor de maíz. Los cereales para el desayuno, las tortillas y las palomitas de maíz presentaron niveles medios de 0,20 a 0,60 mg/kg en la mayoría de los casos. No se encontraron fumonisinas o se observaron en niveles muy bajos en las muestras analizadas de alimentos para lactantes.

**Cuadro 4: Contenido de fumonisinas (µg/kg) en productos de maíz documentado por los gobiernos en la 4ª reunión del CCCF (modificado y revisado del documento CX/CF 10/4/8)**

Producto	País	Muestras analizadas	% de positivas <sup>a</sup>	Resultado	Máx.	Media <sup>b</sup>	De
Sémolas de maíz	EE UU	268	62,7	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	4070	530	..c
Harinas de maíz	EE UU	130	615	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	3.600	520	..d
Maíz/harinas de maíz	Finlandia	7	857	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	1680	510	720
Maíz /sémolas de maíz y polenta	Reino Unido	41	100	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	20.435 <sup>e</sup>	2824	4.765
Maíz/harinas de maíz	Reino Unido	51	854	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	2.696	468	692
Polenta	Bélgica	20	90	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	10.850	590	580
Hojuelas de maíz/ cereales para el desayuno	Australia	12	0	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	<100	-	-
Hojuelas de maíz/ cereales para el desayuno	Bélgica	51	392	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	6.700	238	930
Hojuelas de maíz/ cereales para el desayuno	Finlandia	9	667	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	640	70	80
Hojuelas de maíz	Japón	101	406	B <sub>1</sub>	103	15	12
				B <sub>2</sub>	190	10	1
Hojuelas de maíz	Reino Unido	44	723	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	440	104	984
Hojuelas de maíz/ cereales para el desayuno	EE UU	21	571	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	2.300	510	-
Totopos	Bélgica	28	536	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	300	170	290
Totopos	Finlandia	9	667	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	200	70	70
Aperitivos de maíz	Japón	90	856	B <sub>1</sub>	1.670	68	180
				B <sub>2</sub>	600	19	64
Aperitivos de maíz	Reino Unido	48	761	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	300	90	60
Palomitas	Bélgica	60	20	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	260	87	34
Palomitas	China	3	100	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	246	105	120
Palomitas	Finlandia	2	0	B <sub>1</sub> + B <sub>2</sub>	-	-	-

Producto	País	Muestras analizadas	% de positivas <sup>a</sup>	Resultado	Máx.	Media <sup>b</sup>	De
Palomitas	Japón	69	768	B1	354	49	70
				B2	94	12	16
Palomitas	Reino Unido	9	444	B1 + B2	580	130	190
Palomitas	EE UU	109	165	B1 + B2	1.630	590	-
Tacos	Finlandia	1	100	B1 + B2	300	-	-
Tortillas	Bélgica	30	367	B1 + B2	840	200	270
Tortillas/totopos/ tacos	Reino Unido	62	82	B1 + B2	1.370	247	238
Alimentos para lactantes	Bélgica	40	0	B1 + B2	<75	-	-
Alimentos para lactantes	Finlandia	1	0	B1 + B2	<30	-	-
Alimentos para lactantes	Reino Unido	47	26	B1 + B2	320	60	50

<sup>a</sup> Para las FB<sub>1</sub>; <sup>b</sup> las muestras <LOQ están en el nivel del LOQ, <sup>c</sup> 9,6% de las muestras con niveles superiores a 2 mg/kg, <sup>d</sup> 6,4% de las muestras con niveles superiores a 2 mg/kg, <sup>e</sup> los niveles más altos (> 10.000 µg/kg) se observaron en las muestras orgánicas de sémolas de maíz RASS del Reino Unido.

55. Aunque el CCCF pidió al JECFA que evaluara la presencia conjunta de las fumonisinas con otras micotoxinas, esta evaluación no se pudo realizar porque no hubo información de los niveles de fumonisinas concurrentes y otras micotoxinas en muestras individuales (FAO/WHO, 2011).

## EXPOSICIÓN HUMANA Y EVALUACIÓN DE RIESGOS

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

57. El JECFA revisó en su 74ª reunión las evaluaciones nacionales realizadas por la Unión Europea (en conjunto), los Países Bajos, Portugal, China, México, los Estados Unidos, España, la República de Corea, Sudáfrica, la República Unida de Tanzania, el Brasil, Italia, Francia y Guatemala. Con frecuencia el maíz sin elaborar fue la única fuente de fumonisinas examinada, pero en algunos estudios también se tuvieron en cuenta otros cereales y productos a base de cereales. La mayoría de estos informes sólo contiene las estimaciones de la exposición alimentaria a las fumonisinas B<sub>1</sub>. La mayoría de las estimaciones estuvieron por debajo de 1 µg/kg pc/d para la población en general, pero se registraron niveles de exposición a las fumonisinas B<sub>1</sub> particularmente altos (hasta 7,6 y 33,3 µg/kg pc/d para las personas de consumo medio y alto, respectivamente) y el total de fumonisinas (hasta 10,6 y 44,8 µg/kg pc/d para las personas de consumo medio y alto, respectivamente) en algunas regiones y grupos específicos de la población (FAO/WHO, 2011).

58. En la 74ª reunión del JECFA se hicieron estimaciones internacionales de la exposición con los grupos del SIMUVIMA/Alimentos (FAO/WHO, 2011). Se reunieron los datos de las concentraciones de fumonisinas FB<sub>1</sub> y del total de cada grupo para obtener concentraciones resumidas representativas de cada grupo. Los productos considerados en la evaluación de la alimentación fueron: cebada, trigo sarraceno, higos secos, cacahuetes sin cáscara, maíz, mijo, arroz, soja (seca), maíz dulce, granos y trigo. Para cada producto, cuando no se contaba con datos de las concentraciones de algún grupo, se evaluó la exposición con las medias del total general del límite inferior y el límite superior (cuadros 2 y 3). Se utilizó en la evaluación un peso corporal estándar de 60 kg.

59. Para la hipótesis del límite superior, se estimó que el total de la exposición alimentaria a las FB<sub>1</sub> se oscilaba entre 0,3 µg/kg pc/d (grupo L) y 6,2 µg/kg pc/d (Grupo A). El total de la exposición alimentaria a las fumonisinas fue superior a 2,0 µg/kg pc/d (la IDTMP para las fumonisinas) en los grupos A y C (los países del centro y el norte de África), G (Asia), y H y K (países de América Central y América del Sur). Se obtuvieron resultados análogos con la hipótesis del límite inferior.

60. La contribución del maíz al total de la exposición al total de las fumonisinas fue del 18% (grupo E, hipótesis del límite superior) al 99% (grupo H, hipótesis del límite inferior). Sólo en la hipótesis del límite superior el trigo contribuyó al total de la exposición a las fumonisinas con porcentajes que van del 1% (grupos A, H y M) al 44% (grupo D).

## CONSIDERACIONES SOBRE LA GESTIÓN DE RIESGOS Y LA SALUD PÚBLICA

61. Los niveles de referencia para las fumonisinas ( $FB_1+FB_2+FB_3$ ) en los alimentos en los Estados Unidos son de 2 mg/kg para los productos de maíz sin germen molidos en seco (<2,5% de contenido de grasa) y 3 mg/kg para el maíz para las palomitas (USFDA, 2001). En la Comunidad Europea, el límite máximo ( $FB_1+FB_2$ ) es de 4 mg/kg para el maíz sin elaborar, 1 mg/kg para el maíz destinado al consumo humano directo, 0,8 mg/kg para los cereales para el desayuno a base de maíz y los aperitivos a base de maíz, 0,2 mg/kg para los alimentos elaborados a base de maíz y los alimentos para lactantes y niños pequeños; los niveles máximos en las fracciones trituradas de maíz dependen del tamaño de las partículas: 1,4 mg/kg para  $>500 \mu m$  y 2 mg/kg para  $\leq 500 \mu m$  (EC No 1126/2007).

62. La Administración de Alimentos y Medicamentos de Corea (KFDA) adoptó en 2009 un NM para las fumonisinas ( $FB_1+FB_2$ ) de 4 mg/kg para el maíz y 2 mg/kg para sus productos elaborados simples (molidos, cortados) y sus harinas. La KFDA notificó a la Organización Mundial del Comercio (G/SPS/N/KOR/334, 8 de julio de 2009) que establecería un nivel máximo ( $FB_1 + FB_2$ ) de 1 mg/kg para los productos elaborados de cereales en los que el contenido de maíz, productos elaborados simples de maíz o harinas combinadas de maíz constituyera al menos el 50% del contenido total del producto; las galletas con al menos 50% de maíz, cereales y productos de maíz para palomitas con 4 mg/kg para el maíz y 2 mg/kg para las sémolas y las harinas de maíz (exceptuado el germen) (CRD 18, 4a CCCF).

63. El JECFA evaluó en su 74ª reunión las repercusiones de que se establecieran niveles máximos para el maíz y los productos de maíz en la evaluación de la exposición alimentaria (FAO/WHO, 2011). Para ello, se excluyeron del cálculo todas las muestras en las que la concentración media del límite superior del total de fumonisinas superaba su NM.

64. En el Cuadro 5 se presentan los porcentajes de muestras rechazadas tras la aplicación de los NM propuestos en el documento CX/CF 10/4/8 en la 4ª reunión del CCCF. Los NM no produjeron muestras rechazadas en la mayoría de los productos básicos y grupos. En general, sólo se excluyó el 11% de las muestras.

65. Hubo rechazo de muestras de maíz en grano en 6 de los 13 grupos y el rechazo más alto fue en el grupo A (88%). Hubo rechazo de harinas y sémolas de maíz en 4 grupos, con valores más altos superiores al 50%, en los grupos G y K. El rechazo de palomitas y cereales para el desayuno a base de maíz y aperitivos de maíz sólo se produjo en el grupo K. No hubo rechazo en ningún grupo a una dosis máxima de 500  $\mu g/kg$  en alimentos a base de maíz para lactantes.

**Cuadro 5: Efectos de la aplicación del proyecto de NM del Codex en las categorías de alimentos propuestas en el rechazo de muestras en los grupos del SIMUVIMA/Alimentos (modificado por FAO/WHO, 2011)**

Producto	NM propuesto ( $\mu g/kg$ )	Grupo del SIMUVIMA/Alimentos	Número de muestras	% de muestras rechazadas después de la aplicación de los NM
Maíz en grano, sin elaborar	5.000	Grupo A	280	88%
Maíz en grano, sin elaborar	5.000	Grupo D	172	28%
Maíz en grano, sin elaborar	5.000	Grupo K	2.296	12%
Maíz en grano, sin elaborar	5.000	Grupo J	337	2%
Maíz en grano, sin elaborar	5.000	Grupo H	805	2%
Maíz en grano, sin elaborar	5.000	Grupo M	1.047	1%
Maíz / harinas / sémolas de maíz	2.000	Grupo G	331	57%
Maíz / harinas / sémolas de maíz	2.000	Grupo K	721	53%
Maíz / harinas / sémolas de maíz	2.000	Grupo B	554	16%
Maíz / harinas / sémolas de maíz	2.000	Grupo M	781	4%
Maíz para palomitas	2.000	Grupo K	70	17%
Cereales para el desayuno y aperitivos de maíz	1.000	Grupo K	102	11%

66. El JECFA, en su 74ª reunión, también evaluó las repercusiones de una serie de NM hipotéticos para la categoría "Maíz en grano, sin elaborar" y "Harinas/sémolas de maíz" en el rechazo de las muestras (cuadros 6 y 7). No se percibió efecto alguno, o hubo poco en las estimaciones de la exposición internacional, producto de la aplicación de la NM más altos de lo que se propuso en el documento CX/CF 10/4/8 para las dos categorías (5.000 y 2000  $\mu g/kg$ , respectivamente)

**Cuadro 6: Efecto de la aplicación de una serie de NM hipotéticos para “Maíz en grano, sin elaborar” en el rechazo de muestras en el SIMUVIMA/Alimentos (FAO/WHO, 2011)**

Grupo del SIMUVIMA/Alimentos	Número de muestras	% de muestras rechazadas después de la aplicación de los NM (µg/kg)					
		500	1.000	2.500	5.000	7.000	10.000
Grupo A	280	100%	96%	88%	<b>88%</b>	3%	
Grupo B	300	31%	31%	31%			
Grupo C	20	100%	100%				
Grupo D	172	51%	51%	40%	<b>28%</b>	28%	6%
Grupo E	96	58%	58%				
Grupo F	0						
Grupo G	431	60%	49%	27%			
Grupo H	805	90%	31%	31%	<b>2%</b>		
Grupo I	572	29%	22%				
Grupo J	337	27%	27%	9%	<b>2%</b>		
Grupo K	2.296	100%	95%	32%	<b>12%</b>	3%	
Grupo L	339	8%	8%				
Grupo M	1.047	88%	33%	33%	<b>1%</b>	1%	1%

**Cuadro 7: Efecto de la aplicación de una serie de NM hipotéticos para “Maíz en grano, sin elaborar” en el rechazo de muestras en el SIMUVIMA/Alimentos (FAO/WHO, 2011)**

Grupo del SIMUVIMA/Alimentos	Número de muestras	% de muestras rechazadas después de la aplicación de los NM (µg/kg)					
		250	500	1.000	2.000	3.000	4.000
Grupo A	0						
Grupo B	554	63%	42%	16%	<b>16%</b>		
Grupo C	0						
Grupo D	0						
Grupo E	70	53%	53%				
Grupo F	0						
Grupo G	331	85%	85%	85%	<b>57%</b>	57%	43%
Grupo H	3	100%	100%				
Grupo I	101	9%	9%				
Grupo J	0						
Grupo K	721	87%	85%	76%	<b>53%</b>	32%	11%
Grupo L	878	15%	13%	4%			
Grupo M	781	90%	12%	4%	<b>4%</b>	4%	2%

67. En su 74ª reunión el JECFA evaluó el efecto de la aplicación de diversos NM para el maíz en grano y las harinas/sémolas de maíz en la exposición alimentaria crónica al total de fumonisinas en los grupos del SIMUVIMA/Alimentos (Cuadro 8). En 9 grupos se observó una reducción de la exposición en todos los productos (del 6% al 68%). La aplicación de NM de 5.000 y 2.000 µg/kg para maíz en grano y harinas/sémolas de maíz, respectivamente, redujo considerablemente la exposición en los grupos A (de 8,4 a 2,7 µg/kg pc/d) y G (de 2,9 a 1,2 µg/kg pc/d). En el grupo H, el mayor efecto en la exposición se produjo cuando se fijó el NM del maíz en grano en 2.500 µg/kg, pero ningún NM hipotético bajaría la exposición en este grupo por debajo de la IDTMP de 2 µg/kg pc/d. Con el fin de bajar la exposición de todos los grupos, excepto el grupo H, por debajo de la IDTMP, se debe establecer el NM para el maíz en grano en 1.000 µg/kg.

68. En su 74ª reunión el JECFA concluyó que la exposición a las fumonisinas puede producir efectos nocivos y que es muy deseable que se reduzca la exposición a éstas y a otras toxinas producidas por el hongo *F. verticillioides*, sobre todo en las zonas del mundo donde el maíz es un importante alimento básico de la dieta y donde puede haber una elevada contaminación. Como las fumonisinas no se pasan de los piensos a los productos de origen animal en cantidades significativas, la presencia de fumonisinas en los piensos no está considerada un problema para la salud humana.

69. En su 74ª reunión el JECFA concluyó que la aplicación del proyecto de NM presentado en el documento CX/CF 10/4/8 (5.000 y 2.000 µg/kg para el maíz en grano, sin elaborar, y las harinas/sémolas de maíz, respectivamente), podría reducir significativamente la exposición (más del 20%) al total de fumonisinas en seis grupos (A, B, D, F, G, K). La principal contribución a la reducción se debió a la propuesta del NM para el “maíz en grano, sin elaborar”. No se percibió efecto alguno o fue escaso en las estimaciones internacionales de la exposición por la aplicación de NM más altos que los propuestos en CX/CF 10/4/8. Se observó que la aplicación de los NM propuestos daría lugar al rechazo del 1% al 88% de “maíz en grano, sin procesar” y del 4% al 57% de “harinas/sémolas de maíz” en los diversos grupos.

**Cuadro 8: Efectos de la aplicación de una serie de NM hipotéticos y del proyecto de NM del Codex, en la estimación internacional de la exposición alimentaria crónica al total de fumonisinas (FAO/WHO, 2011)**

NM <sup>a</sup> para el maíz en grano sin elaborar (µg/kg)	NM <sup>a</sup> para las harinas/sémolas de maíz (µg/kg)	Regiones de los grupos del SIMUVIMA/Alimentos (µg/kg pc/d)												
		A	B	C	D	S	F	G	H	I	J	K	L	M
Sin límites	Sin límites	8,4	19	23	19	12	04	29	73	20	10	30	04	20
10 + 000	4.000	84	19	23	16	12	04	13	73	20	10	29	04	18
10 + 000	2.000	84	14	23	16	12	04	12	73	20	10	28	04	18
7.000	3.000	83	19	23	08	12	04	12	73	20	10	26	04	18
5.000	2.000	27	14	23	08	12	03	12	69	20	09	23	04	18
2.500	1.000	27	08	23	04	12	03	08	31	20	07	20	04	09
1.000	500	14	05	15	03	11	02	06	30	11	05	08	03	09
500	250	04	04	15	03	11	02	05	22	10	05	05	03	06
5.000	4.000	27	19	23	08	12	03	13	69	20	09	24	04	18
5.000	3.000	27	19	23	08	12	03	12	69	20	09	23	04	18
5.000	1.000	27	14	23	08	12	03	12	69	20	09	23	04	18
5.000	500	27	13	23	08	12	03	12	69	20	09	23	03	18
5.000	250	27	13	23	08	12	03	12	69	20	09	24	03	23
7.000	2.000	83	14	23	08	12	04	12	73	20	10	26	04	18
2.500	2.000	27	08	23	04	12	03	09	31	20	07	20	04	09
1.000	2.000	14	08	15	03	11	03	08	31	11	05	13	04	09
500	2.000	06	08	15	03	11	02	07	22	10	05	13	04	07

<sup>a</sup> Proyecto de NM presentado en CX/CF 10/4/8 en la 4ª reunión del CCCF: 5.000 µg/kg para el “maíz en grano, sin elaborar”, 2.000 µg/kg para las “harinas/sémolas de maíz”.

## CONCLUSIONES

- (a) Los datos proporcionados por los gobiernos a la 74ª reunión del JECFA pusieron de manifiesto que, en la mayoría de los países, hay una incidencia elevada (70%) de fumonisinas en el maíz en grano, con un nivel mundial medio del total de fumonisinas de alrededor de 1.700 µg/kg y una media del límite superior máximo que llega casi a 6.000 µg/kg entre los grupos del SIMUVIMA/Alimentos.
- (b) La aplicación de un NM de 5.000 µg/kg al maíz en grano daría lugar al 88% y el 28% de muestras rechazadas en los grupos A y D del SIMUVIMA/Alimentos., respectivamente. La aplicación de un NM de 2.500 µg/kg no daría lugar a un cambio en la tasa de rechazo en el grupo A y aumentaría el rechazo al 40% en el grupo D. Reducir el valor recomendado de 5.000 a 2.500 µg/kg aumentaría el nivel de rechazo de 2% a 31% en el grupo H, del 12% al 32% en el grupo K y de 1% al 33% en el grupo M.
- (c) La aplicación del NM para las fumonisinas en el maíz en grano produce importantes efectos en la exposición alimentaria. Este impacto fue más significativo en la hipótesis de un límite de 5.000 µg/kg, sobre todo en los grupos A, D y G, con efectos adicionales significativos en la mayoría de los grupos cuando el NM se estableció en 2.500 µg/kg.
- (d) El maíz en grano es un producto que se someterá a una elaboración adicional antes de estar listo para el consumo, que incluye molturación y tratamiento térmico, los que reducen los niveles de fumonisinas presentes. Por lo tanto, la evaluación de la exposición a través del consumo de maíz en grano, sin elaborar, llevada a cabo por el JECFA sobrestima la exposición real a las fumonisinas a través del consumo de productos de maíz listos para el consumo.
- (e) Los datos presentados en la 4ª reunión del CCCF sobre las harinas y sémolas de maíz mostraron que, en tres o cuatro países, los niveles medios y máximos de fumonisinas (FB1 + FB2) eran de alrededor de 500 µg/kg y > 2000 µg/kg, respectivamente. Los datos evaluados por el JECFA en su 74ª reunión indican que un NM de 2.000 µg/kg para las harinas y sémolas de maíz conducen a un 57% y 53% de muestras rechazadas en los grupos G y K, respectivamente. Este nivel de rechazo aumentaría al 85% y 76% si el NM bajara a 1.000 µg/kg.
- (f) Un NM de 2.000 µg/kg en las harinas y sémolas de maíz, además de un NM para el maíz en grano de 5.000 µg/kg haría superar la IDTMP en el grupo A (un 35%), en los grupos C y K (15%) y en el grupo H (más del triple). Los NM propuestos de 2.500 y 1.000 µg/kg para el maíz en grano y las harinas y sémolas de maíz, respectivamente, repercutirían sobre todo en el consumo del grupo H, lo que conduciría a que se excediera la IDTMP un 55%.
- (g) Se encuentran fumonisinas en palomitas y productos de maíz, como los cereales para el desayuno a base de maíz y alimentos para lactantes. Sin embargo, los datos disponibles todavía son limitados para permitir hacer un proyecto de NM para esos productos.
- (h) Es importante señalar que las fumonisinas enlazadas que hay en productos de maíz extruido (como los cereales para el desayuno) y en algunos productos de maíz fermentado (como el *kenkey* y el *banku*) no se detectan mediante los procedimientos de extracción ordinarios y la exposición a las fumonisinas por este medio no se puede apreciar plenamente. Los estudios disponibles han mostrado que los niveles encontrados en la forma enlazada son más altos que lo que se encuentran en forma libre.
- (i) Es necesario ampliar el estudio de las fumonisinas enlazadas y generar los datos de consumo internacional en productos de maíz extruido a fin de poder hacer una evaluación completa de riesgos en materia de fumonisinas.
- (j) Se dispuso de estudios de muestreo para las fumonisinas en el maíz en grano que permitieron proponer un plan de muestreo para este producto.
- (k) Aunque no hay estudios de muestreo para las harinas y sémolas de maíz, los datos del cereal triturado en molino Romer permitieron elaborar las curvas de operación y proponer un plan de muestreo para las fumonisinas en las harinas y sémolas de maíz.

## RECOMENDACIONES

Se presentan al Comité los siguientes niveles máximos (NM) para las fumonisinas (FB<sub>1</sub> + FB<sub>2</sub>) para que los examine.

Producto	Niveles máximos para las fumonisinas (FB <sub>1</sub> + FB <sub>2</sub> ), µg/kg
Maíz en grano, sin elaborar	5.000
Harinas y sémolas de maíz	2.000

Se presentan al Comité los siguientes planes de muestreo para las fumonisinas (FB<sub>1</sub>+ FB<sub>2</sub>) para que los examine. Las curvas características de operación que describen el funcionamiento de este plan de muestreo y otros se muestran a continuación.

**Plan de muestreo para maíz en grano, sin elaborar**

Nivel máximo	5.000 µg/kg de FB <sub>1</sub> + FB <sub>2</sub>
Incrementos	50 x 100 g
Tamaño de la muestra global	5 kg
Preparación de la muestra	molido en seco con un molino apropiado (molino Romer)
Tamaño de la muestra de laboratorio	1 kg
Número de muestras de laboratorio	1
Porción de análisis	porción de análisis de 25 g
Método	HPLC
Regla para las decisiones	Si el resultado del análisis de fumonisinas de la muestra para las muestras de laboratorio es igual o inferior a 5.000 mg/kg, se acepta el lote. De lo contrario, se rechaza el lote.

**Harinas y sémolas de maíz**

Nivel máximo	2.000 µg/kg de FB <sub>1</sub> + FB <sub>2</sub>
Incrementos	10 x 100 g
Tamaño de la muestra global	1 kg
Preparación de la muestra	Ninguna
Tamaño de la muestra de laboratorio	porción de análisis de 25 g
Número de muestras de laboratorio	1
Porción de análisis	igual que la muestra de laboratorio
Método	HPLC
Regla de decisión	Si el resultado del análisis de fumonisinas de la muestra es igual o inferior a 2.000 µg/kg, se acepta el lote. De lo contrario, se rechaza el lote.

## PLANES DE MUESTREO PARA LAS FUMONISINAS EN MAÍZ EN GRANO Y EN HARINAS Y SÉMOLAS DE MAÍZ

### DEFINICIÓN

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

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

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

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

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

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

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

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

### CONSIDERACIONES SOBRE LA ESTRUCTURA DEL PLAN DE MUESTREO

1. Las estadísticas de muestreo se basan en la variabilidad y distribución de las fumonisinas entre las muestras de laboratorio de maíz descascarado (Whitaker *et al.*, 1998; Whitaker *et al.*, 2007). El tamaño de la muestra de laboratorio se expresa en el número de granos de maíz con fines estadísticos. El recuento de los granos de maíz con cáscara se hipotizó en 3.000 granos por kg. El recuento de granos por kg se puede utilizar para convertir el tamaño de la muestra de laboratorio del número de granos a la masa y viceversa.
2. Estimaciones de la variabilidad asociadas al muestro, la preparación de muestras y el análisis, así como la distribución binomial negativa (Whitaker *et al.*, 2007) se utilizan para calcular las curvas características de operación (CO) que describen el desempeño de los planes propuestos de muestreo para las fumonisinas. La varianza analítica refleja la variabilidad analítica en un único laboratorio, que es inferior que la variabilidad analítica entre laboratorios.

#### Material del que se van a tomar las muestras

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

### La muestra incremental

7. Son de importancia extrema los procedimientos que se utilizan para tomar las muestras incrementales de los lotes de maíz sin cáscara. Cada grano del lote deberá tener las mismas posibilidades de resultar seleccionado. Los métodos de selección introducirán sesgos si el equipo y los procedimientos usados para escoger las muestras incrementales prohíben o reducen las posibilidades de que se elija cualquier grano del lote.
8. Dado que no hay forma de saber si los granos de maíz contaminados están distribuidos uniformemente en el lote, es indispensable que la muestra agregada sea el conjunto de muchas muestras incrementales pequeñas del producto tomadas de distintos puntos de todo el lote. Si la muestra agregada es más grande de lo conveniente, deberá mezclarse y subdividirse hasta obtener el tamaño deseado de muestra de laboratorio.
9. El número de muestras elementales que deben tomarse de un lote (sublote) depende del peso del lote y el tamaño de la muestra global. El peso mínimo recomendado de la muestra incremental será de 100 gr aproximadamente para los lotes de 50 toneladas (50 000 kg).

### Lotes estáticos

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

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

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

### Lotes dinámicos

14. Es más fácil producir muestras agregadas representativas seleccionando las muestras incrementales de un volumen de maíz descascarado en movimiento, durante el traslado de un lote de un lugar a otro. Al tomar muestras de un volumen en movimiento, tómense muestras incrementales pequeñas del producto todo a lo largo del volumen en circulación; súmense las muestras incrementales para obtener una muestra agregada; si ésta es más grande que las muestras de laboratorio necesarias, entonces mézclese y subdivídase la muestra agregada para obtener las muestras de laboratorio del tamaño deseado.
15. Existe en el comercio equipo automático para la toma de muestras, como los muestreadores de tomas transversales con cronómetro, que pasan automáticamente un recipiente de desviación a través del producto en movimiento a intervalos predeterminados y uniformes. Si no hay equipo de muestreo automático disponible, se puede asignar a una persona la tarea de pasar manualmente un recipiente a través del producto en movimiento a intervalos periódicos para recoger muestras elementales. Con métodos automáticos o manuales, las muestras elementales se recogerán y sumarán a intervalos frecuentes y uniformes durante todo el tiempo en que circule el maíz por el punto donde se toman las muestras.
16. Los muestreadores de tomas transversales se deberán instalar de la siguiente manera: (1) el plano de la abertura del recipiente de desviación deberá ser perpendicular a la dirección en que circula el producto; (2) el recipiente de desviación deberá atravesar todo el volumen en circulación; y (3) la abertura del recipiente de desviación deberá ser suficientemente amplia para recoger todos los elementos de interés del lote. En general, lo ancho de la abertura del recipiente de desviación deberá ser dos o tres veces del tamaño más grande de los elementos del lote.
17. El tamaño de la muestra agregada (S) en kg, tomada de un lote por un muestreador de tomas transversales, es:

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

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

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

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

### Envasado y transporte de las muestras

19. Todas las muestras de laboratorio se depositarán en un contenedor limpio e inerte que ofrezca la protección adecuada contra la contaminación, la luz del sol y la posibilidad de sufrir daños durante el tránsito. Se tomarán todas las precauciones necesarias para evitar cualquier cambio en la composición de la muestra de laboratorio, que podría producirse durante el transporte o el almacenamiento. Las muestras se almacenarán en un lugar oscuro y fresco.
20. Toda muestra de laboratorio tomada para uso oficial se sellará en el lugar de muestreo y se identificará. Deberá llevarse un registro de cada toma de muestras, que permita identificar sin ambigüedad cada lote e indique la fecha y el lugar del muestreo, así como toda información adicional que pueda resultar útil al analista.

### PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

21. Deberá evitarse la luz del sol todo lo posible durante la preparación de las muestras ya que las fumonisinas pueden descomponerse gradualmente por influencia de la luz ultravioleta. Además, la temperatura del medio ambiente y la humedad relativa se controlarán para que no favorezcan la formación de mohos y de fumonisinas.
22. Dado que la distribución de las fumonisinas es en extremo heterogénea, las muestras de laboratorio se homogenizarán triturando toda la muestra que se entregue al laboratorio. La homogeneización es un procedimiento que reduce el tamaño de las partículas y dispersa las partículas contaminadas en forma uniforme en toda la muestra triturada de laboratorio.
23. La muestra de laboratorio se molerá finamente y se mezclará bien con un procedimiento que consiga la máxima homogeneización posible. La homogeneización total significa que el tamaño de las partículas es muy pequeño y la variabilidad asociada a la preparación de la muestra se aproxima a cero. Después de la molturación, se debe limpiar el molino para evitar la contaminación cruzada de fumonisinas.

### Porción de análisis

24. Los procedimientos de selección de las porciones de análisis de la muestra triturada de laboratorio deberán ser aleatorios. Si la mezcla se produjo durante o después del proceso de trituración, la porción de análisis se puede tomar en cualquier parte de toda la muestra triturada de laboratorio. De lo contrario, la porción de análisis deberá ser la acumulación de varias pequeñas porciones seleccionadas de toda la muestra de laboratorio.
25. Se recomienda seleccionar tres porciones de análisis de cada muestra triturada de laboratorio. Las tres porciones se utilizarán para aplicación, apelación y confirmación, si fuera necesario.

### MÉTODOS DE ANÁLISIS

26. Conviene aplicar un enfoque basado en criterios, por el cual se establece una serie de criterios de acción a los que deberá ajustarse el método de análisis utilizado. Este tipo de enfoque tiene la ventaja de que como no se establecen detalles específicos del método utilizado se pueden aprovechar las novedades metodológicas sin tener que volver a examinar o modificar el método especificado. En el Cuadro 1 figura una lista de posibles criterios y niveles de rendimiento (Reglamento CE N.º 401/2006). Con este enfoque, los laboratorios tendrían la libertad de utilizar el método de análisis más adecuado para sus instalaciones.

**Cuadro 1: Criterios de funcionamiento para las fumonisinas B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>.**

Nivel (µg/kg)	Precisión		Recuperación (%)
	RSDr (%)	RSD <sub>R</sub> (%)	
≤500	≤30	≤60	60 a 120
> 500	≤20	≤30	70 a 110

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

27. El funcionamiento de cada modelo de plan de muestreo se describe mediante una curva característica de operación (CO). Todas las CO se determinaron utilizando las relaciones de variabilidad para la toma de muestras, la preparación de las muestras y el análisis (ecuaciones 1, 2, 3 y 4) y la distribución binomial negativa (Whitaker *et al.*, 1998 y Whitaker *et al.*, 2007). Las ecuaciones 1, 2 y 3 representan, respectivamente, la varianza del muestreo ( $S^2_s$ ) para cualquier tamaño de muestra  $n_s$  en el número de granos, la varianza de la preparación de la muestra ( $S^2_{sp}$ ) para el molino Romer y cualquier tamaño de porción de análisis  $n_{ss}$  en g, así como la varianza analítica ( $S^2_a$ ) para LC utilizando cualquier número de alícuotas  $n_a$ , como función de la concentración de fumonisinas  $C$  en mg/kg.

$$\text{Muestreo} \quad S^2_s = (3,300/n_s) 0,033 C^{1,75} \quad (1)$$

$$\text{Prep. de la muestra} \quad S^2_{sp} = (25/n_{ss}) 0,011 C^{1,59} \quad (2)$$

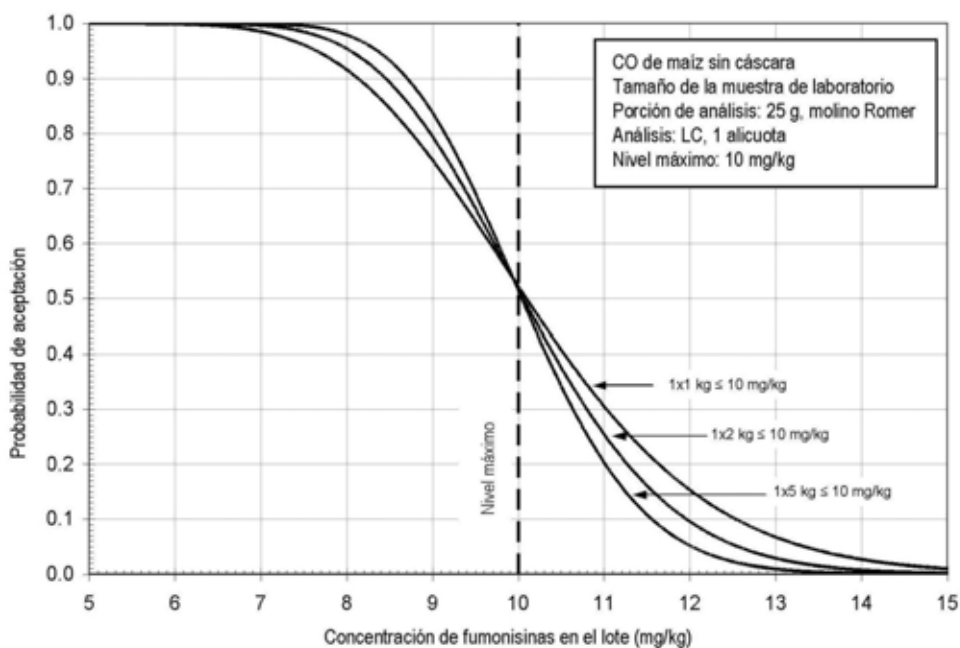
$$\text{Analítica} \quad S^2_a = (1/n_a) 0,014 C^{1,44} \quad (3)$$

$$\text{Total de la varianza} \quad S^2_t = S^2_s + S^2_{sp} + S^2_a \quad (4)$$

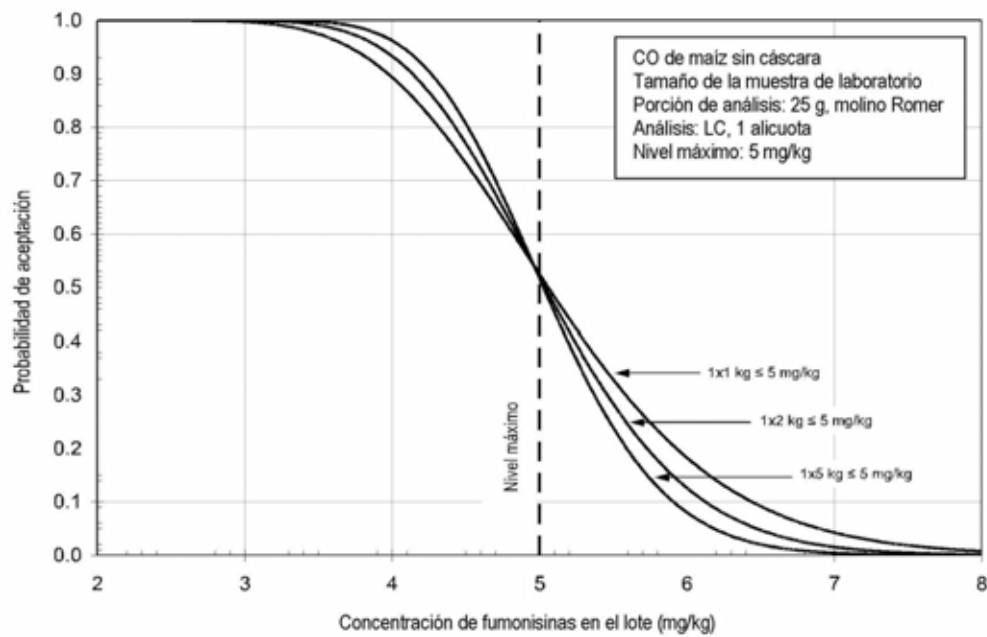
Efecto del incremento del tamaño de una sola muestra de laboratorio analizada por lote

28. En los gráficos 1, 2, 3 y 4, respectivamente, se muestran las CO que describen el funcionamiento del plan de muestreo para las fumonisinas en maíz sin cáscara con muestras de laboratorio de 1, 2 y 5 kg de tamaño y niveles máximos (NM) de 10, 5, 2 y 1 mg/kg. Conforme aumenta el tamaño de la muestra, las posibilidades de que se rechacen los lotes (posibilidades de que se rechace un lote =  $1,0 -$  posibilidades de que se acepte un lote) con concentraciones inferiores al NM disminuyen (se reducen los falsos positivos) y las posibilidades de que se acepten lotes con concentraciones por encima del NM disminuyen (se reducen los falsos negativos).<sup>1</sup>
29. El gráfico 5 representa la OC del efecto de una muestra de 10 kg con un NM de 5 mg/kg.

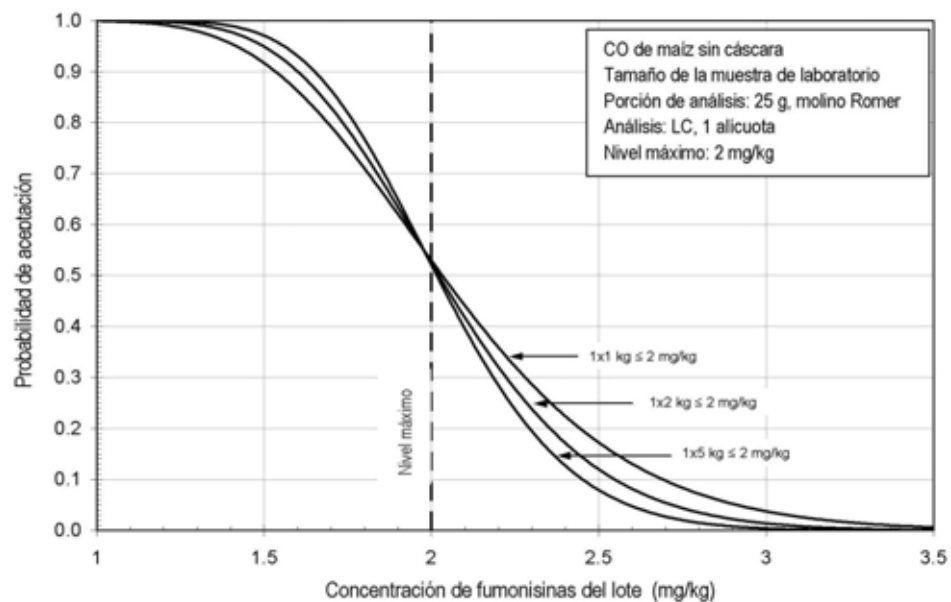
**Gráfico 1.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 1, 2 y 5 kg para detectar las fumonisinas in lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 10 mg/kg.



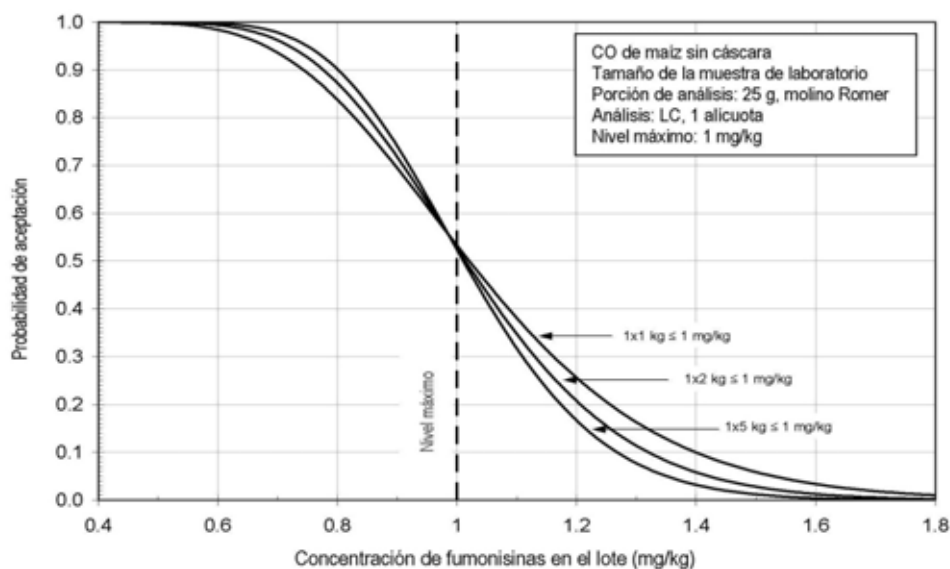
**Gráfico 2.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 1, 2 y 5 kg para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 5 mg/kg.



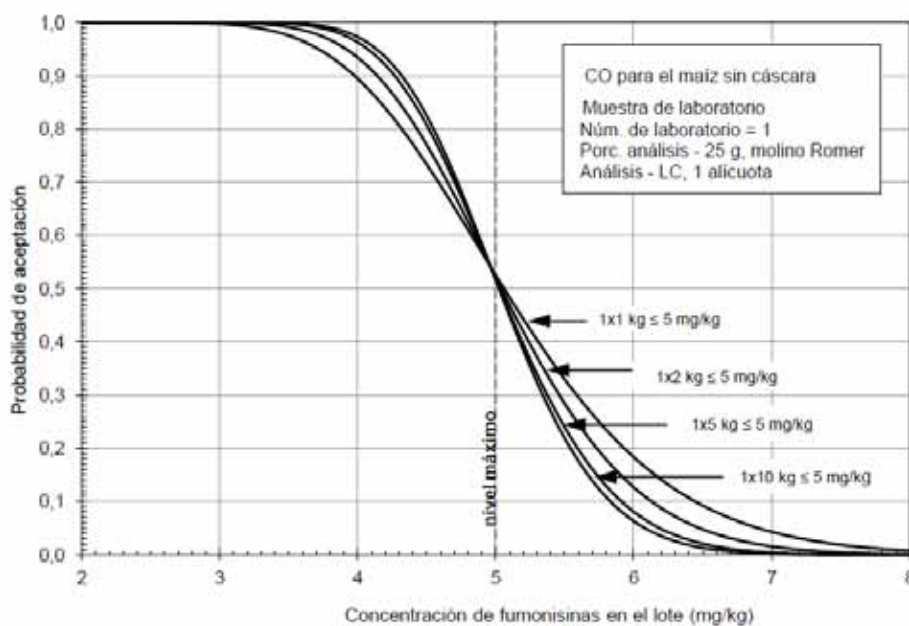
**Gráfico 3.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 1, 2 y 5 kg para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 2 mg/kg.



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



**Gráfico 5.** Curvas OC del efecto de utilizar muestras de 1, 2, 5 y 10 kg con un nivel máximo de 5 mg/kg en las posibilidades de aceptación (rechazo) de lotes con diversas concentraciones en los mismos.

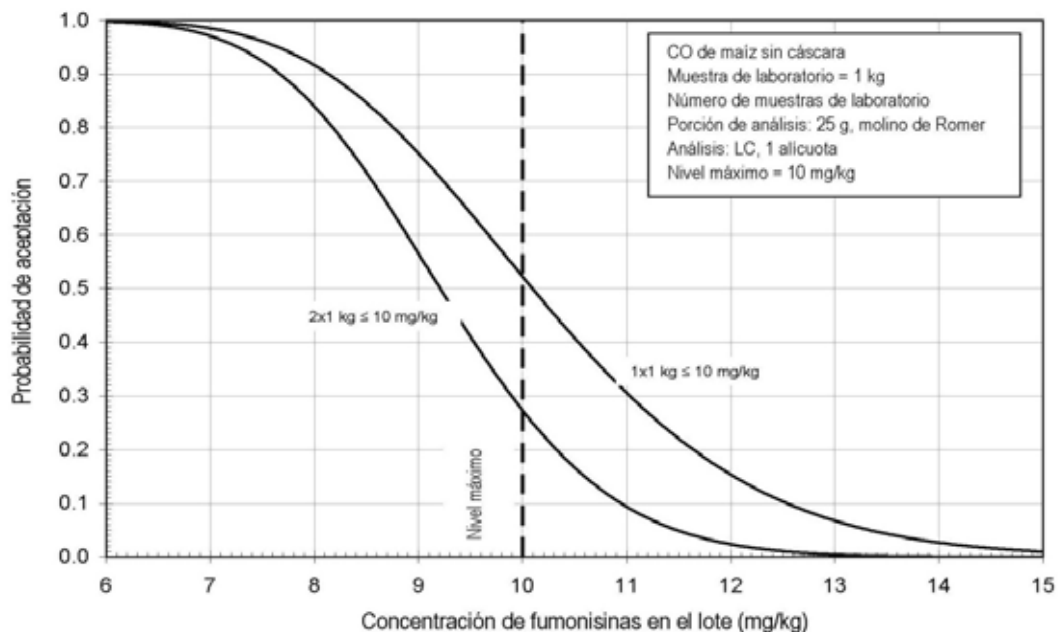


30. Cada plan de muestreo de los gráficos 1, 2, 3, 4 y 5 muestra el efecto de aumentar el tamaño de una sola muestra de laboratorio en las posibilidades de aceptación y rechazo de lotes con una gran variedad de concentraciones de fumonisinas en ellos. Conforme aumenta el tamaño de la muestra, las posibilidades de que se rechacen los lotes (posibilidades de que se rechace un lote =  $1,0 - \text{posibilidades de que se acepte un lote}$ ) con concentraciones inferiores al NM disminuyen (se reducen los falsos positivos) y las posibilidades de que se acepten lotes con concentraciones por encima del NM disminuyen (se reducen los falsos negativos). Aumentar el tamaño de la muestra tiene el conveniente efecto de reducir los falsos positivos y los falsos negativos al mismo tiempo.

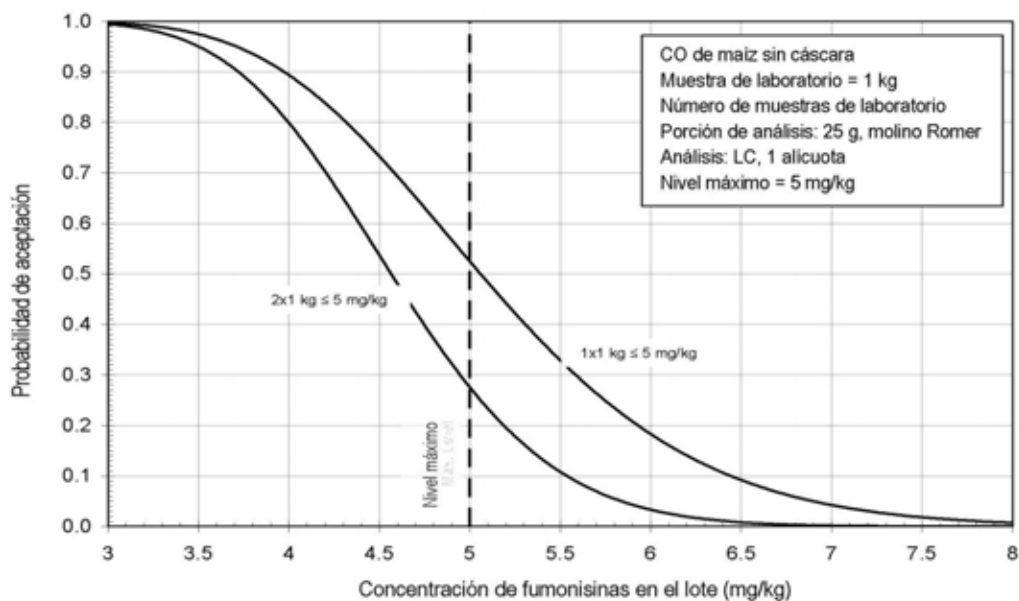
Efecto de incrementar el número de muestras de laboratorio analizadas por lote

31. En los gráficos 6, 7, 8 y 9 se muestran, respectivamente, las curvas características de operación que describen el funcionamiento del plan de muestreo para las fumonisinas en maíz sin cáscara, donde el número de muestras de laboratorio de 1,0 kg aumenta de 1 a 2 muestras y los niveles máximos varían de 1, 2, 5 y 10 mg/kg. Los resultados de ambas muestras de laboratorio deben ser inferiores que el NM para que se acepte el lote. La curva característica de operación refleja la incertidumbre asociada al uso de 1 o 2 muestras de laboratorio de 1,0 kg de tamaño, la muestra triturada en un molino Romer, porción de análisis de 25 g y la cuantificación de las fumonisinas en la porción de análisis mediante HPLC.

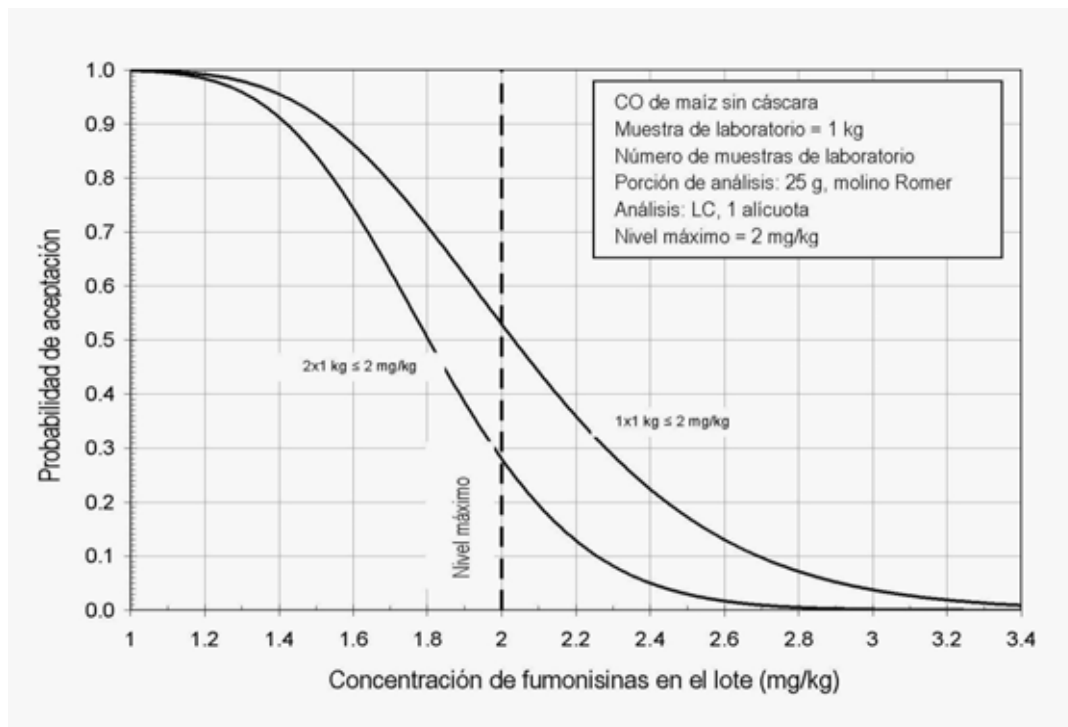
**Gráfico 6.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 1,0 kg cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 10 mg/kg.



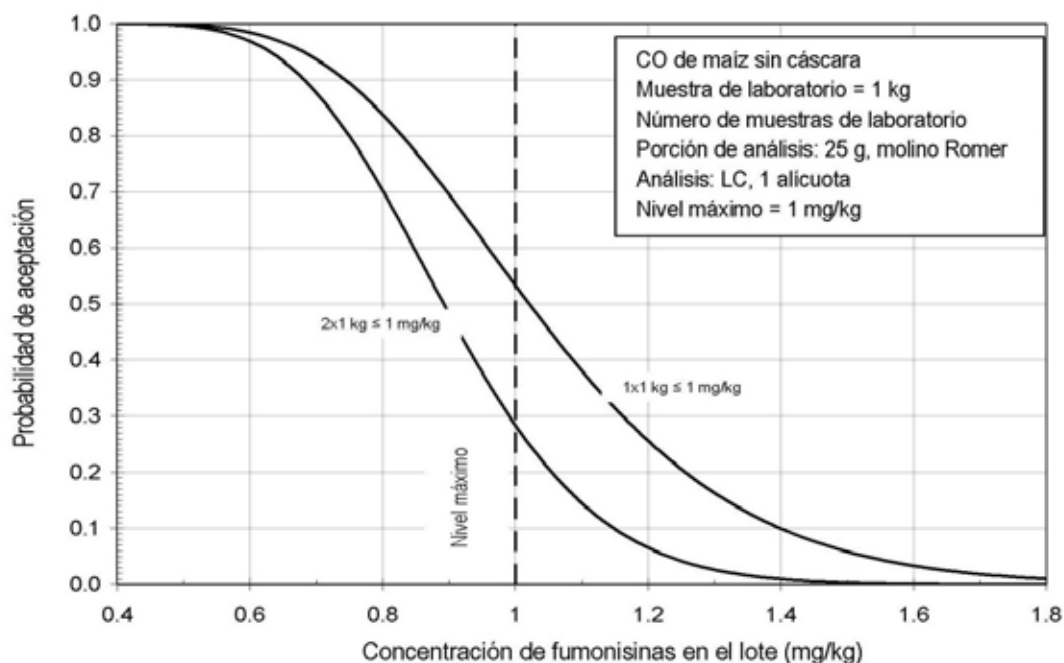
**Gráfico 7.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 1,0 kg cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 5 mg/kg



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



**Gráfico 9.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 1,0 kg cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 1 mg/kg.



32. Para cada nivel máximo, conforme aumenta el número de muestras de 1 a 2 (cada una de 1,0 kg), aumentan las posibilidades de que se rechacen los lotes con concentraciones inferiores al NM (aumentan los positivos falsos) y disminuyen las posibilidades de que se acepten lotes con concentraciones por encima del NM (se reducen los negativos falsos). Aumentar el número de muestras analizadas por lote es un método eficaz para reducir las posibilidades de obtener negativos falsos, pero tiene un costo elevado para el exportador porque incrementa las posibilidades de obtener positivos falsos.
33. Las CO de los gráficos 1 al 9 indican la interacción entre el nivel máximo, el tamaño de la muestra de laboratorio y el número de muestras de laboratorio que se puede utilizar para reducir al mínimo las posibilidades de que se acepten lotes con concentraciones de fumonisinas superiores a un determinado nivel. Por ejemplo, si se fuera a trazar un plan de muestreo que no aceptara más del 10% de los lotes a 6 mg/g o más, entonces  $1 \times 5 \text{ kg} \leq 5 \text{ mg/kg}$  (Gráfico 2) o  $2 \times 1 \text{ kg} \leq 5 \text{ mg/kg}$  (Gráfico 7) satisfarían ese criterio.

#### FUNCIONAMIENTO DE VARIOS PLANES DE MUESTREO PARA LAS FUMONISINAS EN HARINAS Y SÉMOLAS DE MAÍZ

34. Dado que no hay datos de muestreo sobre las fumonisinas en las harinas y las sémolas de maíz, se utiliza la variabilidad asociada a seleccionar una porción de análisis de una muestra triturada con un molino Romer (ecuación 2) para estimar la varianza del muestreo de harinas y sémolas de maíz. La variabilidad total del procedimiento de análisis de las fumonisinas para el maíz y las harinas de maíz (o cualquier material triturado) es la suma de la varianza del muestreo y la varianza analítica. Como el material está triturado, por lo general no hay varianza de la preparación de las muestras. Aunque no hay datos de laboratorio disponibles es probable que la variabilidad del muestreo para la harina ( $V_{sf}$ ) sea muy inferior a la variabilidad del muestreo en el grano triturado con el molino Romer ( $V_{sr}$ ) porque el tamaño de partícula de la harina elaborada es mucho menor que el maíz triturado con el molino Romer ( $V_{sf} \ll V_{sr}$ ). Se supone que la variabilidad analítica sería aproximadamente la misma para ambos, la harina elaborada y los granos triturados con el molino Romer. La varianza del muestreo sería un componente mayor del total de la varianza cuando el muestreo es con cereal triturado con el molino Romer. El tamaño de partícula repercute en el funcionamiento del plan de muestreo. Con la ecuación 5 que figura abajo para la varianza del muestreo se podría predecir la necesidad de una muestra más grande que se prevería si se utilizó una menor varianza del muestreo que refleje con mayor precisión el tamaño de la partícula de la harina de maíz. Para un determinado tamaño de muestra, mientras más pequeñas sean las partículas (más partículas por unidad de masa), menor será la variabilidad del muestreo, serán menos los lotes buenos rechazados (riesgo del exportador), y menos los lotes malos aceptados (riesgo del importador) (Whitaker BT, comunicación personal, 2012).
35. Se calcularon las curvas características de operación trazadas para el muestreo de maíz sin cáscara triturado (harinas/sémolas de maíz) con tamaños específicos de las muestras y métodos analíticos utilizando las diferencias descritas en las ecuaciones 2 y 3, medidas por Whitaker *et al.*, 1998. Las variaciones del muestreo y de analíticas son:

$$\text{Varianza del muestreo} = (25/ns) 0,011 C^{1,59} \quad (5)$$

$$\text{Varianza analítica} = (1/na) 0,014 C^{1,44} \quad (6)$$

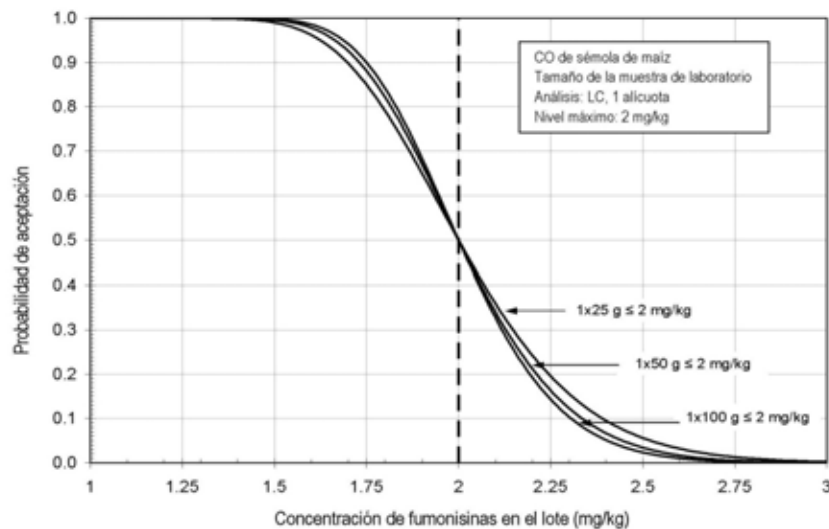
Donde ns es el tamaño de la muestra en gramos y na es el número de alícuotas cuantificadas por LC.

La varianza del muestreo (ecuación 5) refleja una distribución del tamaño de las partículas congruente con triturar el maíz sin cáscara con el molino Romer, y es la varianza de la preparación de la muestra para el maíz sin cáscara (ecuación 2).

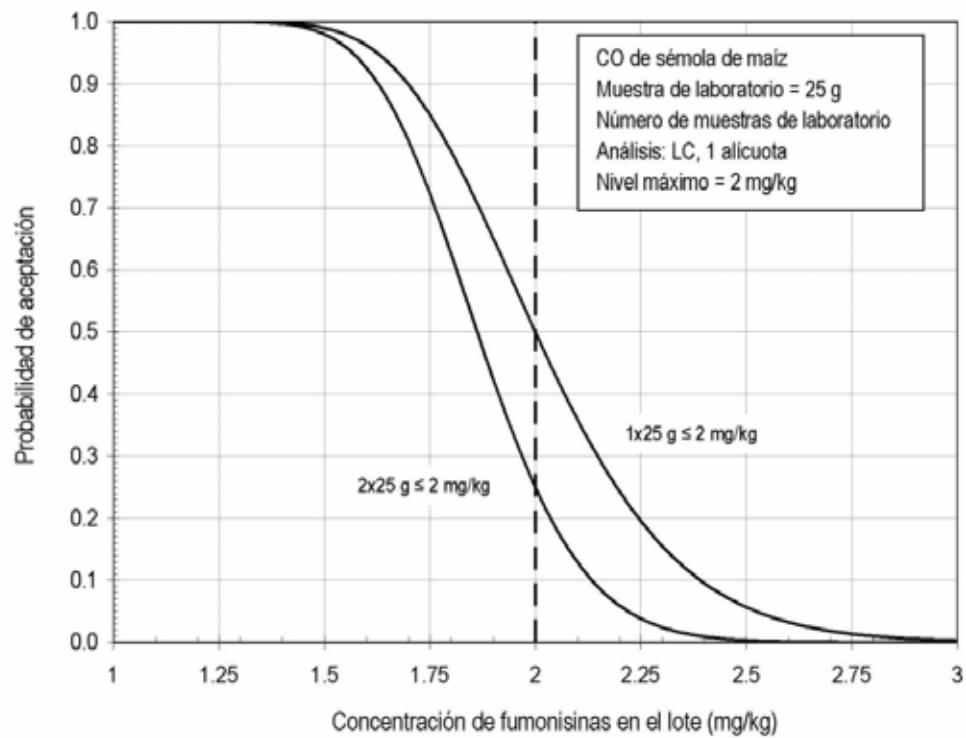
La varianza analítica (ecuación 6) refleja la cuantificación de las fumonisinas en una alícuota con métodos de LC.

36. Los efectos del tamaño de la muestra y el número de muestras en las curvas OC se muestran en los gráficos 10 y 11, respectivamente, para un NM de 2 mg/kg. Los efectos de aumentar el tamaño de la muestra y el número de muestras en la curva OC son similares a los presentados para el maíz sin cáscara.

**Gráfico 10.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan muestras de 25, 50 y 100 g para detectar las fumonisinas in lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 2 mg/kg.



**Gráfico 11.** Curvas características de operación del funcionamiento de planes de muestreo que utilizan 1 o 2 muestras de 25 g cada una para detectar las fumonisinas en lotes de maíz sin cáscara para un nivel máximo de 2 mg/kg.



## REFERENCIAS

1. Abbas, H.K., Cartwright, R.D., Shier, W.T. Aflatoxin and fumonisin contamination of maize (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Prot.* 25, 1–9, 2006.
2. Afolabi CG, Bandyopadhyay R, Leslie JF, Ekpo EJ. Effect of sorting on incidence and occurrence of fumonisins and *Fusarium verticillioides* on maize from Nigeria. *J. Food Prot.* 69, 2019-23, 2006.
3. Alexander, R.J. Maize dry milling: processes, products and applications. IN: *Maize: Chemistry and Technology*. S.A. Watson and P.E. Ramstad, eds. Am. Assoc. Cereal Chem.: St. Paul, MN, pp 351-376, 1987.
4. Ariño A., Estopañan, G., Juan, T., Herrera, A. Estimation of dietary intakes of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> from conventional and organic maize. *Food Control* 18: 1058–1062, 2007.
5. Bacon, C.W.; Nelson, P.E.; Fumonisin production in maize by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *J. Food Prot.* 57(6): 514-521, 1994.
6. Bacon, C.W. and Hinton, D.M.; Symptomless endophytic colonization of maize by *Fusarium moniliforme*. *Can. J. Bot./Rev. Can. Bot.* 74(8): 1195-1202, 1996.
7. Bartók T, Tölgyesi L, Szekeres A, Varga M, Bartha R, Szécsi A, Bartók M, Mesterházy A, Detection and characterization of twenty-eight isomers of fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) mycotoxin in a solid rice culture infected with *Fusarium verticillioides* by reversed-phase high-performance liquid chromatography/electrospray ionization time-of-flight and ion trap mass spectrometry, *Rapid Commun Mass Spectrom*, 2010 Jan;24(1):35-42
8. Bennett, G.A. and Richard, J.L. Influence of processing on *Fusarium* mycotoxins in contaminated grains. *Food Technology* 50(5), 235-238, 1996.
9. Bird, C.B., et al. (2002). Determination of total fumonisins in corn by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay: Collaborative study. *Journal of the AOAC International* 85, 404-410.
10. Bothast, R.J.; Bennett, G.A.; Vancauwenberge, J.E.; Richard, J.L. Fate of fumonisin B<sub>1</sub> in naturally contaminated maize during ethanol fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:233-236, 1992.
11. Brera, C.; Debegnach, F.; Grossi, S.; Miraglia, M.; Effect of industrial processing on the distribution of fumonisin B<sub>1</sub> in dry milling maize fractions. *Journal of Food Protection* 67 (6): 1261-1266, 2004.
12. Bullerman, L.B.; Bianchini, Hanna, M.A., Jackson, L.S.; Jablonski, J.; Ryu, D. Reduction of Fumonisin B<sub>1</sub> in Corn Grits by Single-Screw Extrusion *J. Agric. Food Chem.* 56, 2400–2405, 2008.
13. Burns TD., Snook ME, Riley RT and Voss KA. Fumonisin concentration and in vivo toxicity of nixtamalized *Fusarium verticillioides* culture material; evidence for fumonisin-matrix interaction. *Food Chem Toxicol*, 46, 2841-2848, 2008.
14. Caldas, E.D.; Silva, A.C.S. Mycotoxins in maize based food products consumed in Brazil: An exposure assessment for fumonisins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55 (19): 7974-7980, 2007.
15. Castells, M; Marin, M; Sanchis, V; Ramos, A.J. Distribution of fumonisins and aflatoxins in corn fractions during industrial cornflake processing *Int. J. Food Microbiol.* 123: 81-87, 2008.
16. Castelo, M.M.; Jackson, L.S.; Hanna, M.A.; Reynolds, B.H.; Bullerman, L.B. Loss of fumonisin B<sub>1</sub> in extruded and baked maize –based foods with sugars. *Journal of Food Science* 66: 416-421, 2001.
17. Cavaliere, C.; Foglia, P.; Guarino, C.; Motto, M.; Nazzari, M.; Samperi, R.; Lagana, A.; Berardo, N.; Mycotoxins produced by *Fusarium* genus in maize: determination by screening and confirmatory methods based on liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Food Chemistry* 105(2): 700-710, 2007.
18. Clay K. Fungal Endophytes of Grasses. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 21: 275-297, 1990.
19. Codex Alimentarius, Code of Practice for the prevention and reduction of mycotoxins contamination in cereals, including annexes on ochratoxin A, zearalenone, fumonisins and tricothecenes. CAC/ RCP51, pp. 1–8, 2003.
20. Dall'Asta, C., Galaverna, G., Aureli, G., Dossena, A., Marchelli, R., A LC/MS/MS method for the simultaneous quantification of free and masked fumonisins in corn and corn-based products. *World Mycot. J.* 2008, 1, 1–10.
21. Dall'Asta, C., Galaverna G, Mangia M, Sforza S, Dossena A, Marchelli R. Free and bound fumonisins in gluten-free food products. *Mol Nutr Food Res.* 2009 Apr;53(4):492-9
22. Dall'Asta, C., et al. (2010). In Vitro digestion assay for determination of hidden fumonisins in maize. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58, 12042-12047
23. De Girolamo, A.; Solfrizzo, M.; Von Holst, C.; Visconti, A. Comparison of different extraction solvents and clean-up procedures for the determination of fumonisins in maize and maize-based food products. *Food Addit. Contam.*, 18, 59–67, 2001.
24. Dombrink-Kurtzman, M.A.; Dvorak, T.J. Barron ME, Roney LW. Effect of nixtamalization (alkaline cooking) on fumonisin-contaminated corn for production of masa and tortillas. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5781-86, 2000.
25. EC-Commission Regulation. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Official Journal of the European Commission. No. 1126/2007. [http://www.fsai.ie/uploadedFiles/Commission\\_Regulation\\_EC\\_No\\_1126\\_2007.pdf](http://www.fsai.ie/uploadedFiles/Commission_Regulation_EC_No_1126_2007.pdf)
26. Fandohan, P.; Gnonlonfin, B.; Hell, K.; Marasas, W.F.O.; Wingfield, M.J. Natural occurrence of *Fusarium* and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa, *Int. J. Food Microbiology* 99(2): 173-183, 2005.

27. FAO/WHO. Safety evaluations on certain mycotoxins in food (Fifty-sixth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Food Additive Series No. 47, and FAO Food and Nutrition Paper 74, 2001. Available at: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je03.htm> (Accessed 15 January 2009).
28. FAO/WHO – World Health Organization. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants (2011). Seventy-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 966
29. Ferreira-Castro, F.L.; Aquino, S.; Greiner, R.; Ribeiro, D.H.B.; Reis, T.A.; Correa, B. Effects of gamma radiation on maize samples contaminated with *Fusarium verticillioides* Applied Radiation and Isotopes 65, 927–933, 2007.
30. Frisvad JC, Smedsgaard J, Samson RA, Larsen TO, Thrane U. Fumonisin B2 production by *Aspergillus niger*. J Agric Food Chem. 2007 Nov 14;55(23):9272-32.
31. Fodor J, Balogh K, Weber M, Miklós M, Kametler L, Pósa R, Mamet R, Bauer J, Horn P, Kovács F, Kovács M. (2008). Absorption, distribution and elimination of fumonisins B<sub>1</sub> metabolites in weaned piglets. *Food Additives and Contaminants* 25(1), 88-96.
32. Gazzotti T, et al. 2011). Analysis of fumonisins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> and their hydrolysed metabolites in pig liver by LC-MS/MS. *Food Chemistry*, 125, 1379-1384.
33. Hassegawa, R. H.; Fonseca, H.; Fancelli, A. L.; Silva da V. N., Schammas E. A., Reis, T. A.; Correa, B.; Influence of macro- and micronutrient fertilization on fungal contamination and fumonisin production in maize grains. *Food Control* 19 (1):36-43, 2008.
34. Hlywka, J.J. and Bullerman, L.B. Occurrence of fumonisin B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in beer. *Food Addit. Contam.* 16(8): 319-324, 1999.
35. IARC. International Agency for Research on Cancer. Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 82: 171-301, 2002.
36. Jackson, L.S.; Katta, S.K.; Fingerhut, D.D.; DeVries, J.W.; and Bullerman, L.B. Effects of baking and frying on the fumonisin B<sub>1</sub> content of maize-based foods. *J. Agric Food Chem.* 45:4800-4805, 1997.
37. Jackson, L.; Jablonski, J. *Mycotoxins in food: detection and control*. Woodhead Publishing 367-405, 2004.
38. Katta, S.K.; Cagampang, A.E.; Jackson, L.S. and Bullerman, L.B. Distribution of *Fusarium* molds and fumonisins in dry-milled maize fractions. *Cereal Chem.* 74(6): 858-863, 1997.
39. Katta, S.K.; Jackson, L.S.; Sumner, S.S.; Hanna, M.A.; Bullerman, L.B. Effect of temperature and screw speed on stability of fumonisin B<sub>1</sub> in extrusion-cooked maize grits. *Cereal Chem.*, 76, 16–20, 1999.
40. Kim, E.K.; Scott, P.M.; Lau, B.P. Hidden fumonisin in maize flakes. *Food Addit. Contam.* 20, 161-169, 2003.
41. Kumar, V.; Basu, M.S.; Rajendran, T.P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities, *Crop Protection* 27(6): 891-905, 2008.
42. Lu, Y.; Clifford, L.; Hauck, C.C.; Hendrich, S.; Osweiler, G.; Murphy, P.A. Characterization of fumonisin B<sub>1</sub>- glucose reaction kinetics and products. *J. Agric. Food Chem.* 50, 4726-4733, 2002.
43. Maenetje PW, Dutton MF. The incidence of fungi and mycotoxins in South African barley and barley products. *J Environ Sci Health B.* 2007 Feb;42(2):229-36.
44. Malone, B.M.; Richard, J.L.; Romer, T.; Johansson, A.S. and Whitaker, T. Fumonisin reduction in maize by cleaning during storage discharge. IN: *Proceedings of the 48th Australian Cereal Chemistry Conference*. L. O'Brian, A.B. Blakeney, A.S. Ross and C.W. Wrigley eds. Cairns, Australia, pp372-379, August 1998.
45. Monbaliu S, Van Poucke C, Detavernier C, Dumoulin F, Van De Velde M, Schoeters E, Van Dyck S, Averkieva O, Van Peteghem C, De Saeger S. (2010). Occurrence of mycotoxins in feeds as analyzed by a multi-mycotoxin LC-MS/MS method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58, 66-71.
46. Magkos, F.; Arvaniti, F.; Zampelas, A. Organic Food: Buying More Safety or Just Peace of Mind? A Critical Review of the Literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46:23–56, 2006.
47. Månsson M, Klejstrup ML, Phipps RK, Nielsen KF, Frisvad JC, Gottfredsen CH, Larsen TO. Isolation and NMR characterization of fumonisin B<sub>2</sub> and a new fumonisin B<sub>6</sub> from *Aspergillus niger*. *J Agric Food Chem.* 2010 27;58(2):949-53.
48. Marasas, W.F.O. Discovery and Occurrence of the Fumonisins: A Historical Perspective. *Environmental health perspectives supplements* 109(2): 239-243, 2001.
49. Miller, J.D. Epidemiology of *Fusarium* ear diseases of cereals. IN: *Mycotoxins in Grain-Compounds Other Than Aflatoxin*. J.D. Miller and H.L.Trenholm eds. Eagan Press, St. Paul, MN, pp 19-36, 1994.
50. Miller, M.A.; Honstead, J.P., and Lovell, R.A. Regulatory aspects of fumonisins with respect to animal feed. IN: *Fumonisins in Food*. L.S. Jackson; J.W. DeVries and L.B. Bullerman eds. Plenum Press, NY, pp 363-368, 1996.
51. Miller, J.D. Factors affecting the occurrence of fumonisin in maize. Abstracts of Papers (p.21)-International Conference on the Toxicology of Fumonisin. June 28-30, Arlington, VA, 1999.
52. Mogensen JM, Frisvad JC, Thrane U, Nielsen KF, Production of Fumonisin B<sub>2</sub> and B<sub>4</sub> by *Aspergillus niger* on grapes and raisins, *J Agric Food Chem*, 2010 Jan 27;58(2):954-8,
53. Munkvold, G.P.; Desjardins, A.E. Fumonisins in maize - Can we reduce their occurrence? *Plant Disease*. 81(6):556-565, 1997.
54. Noonim P, Mahakarnchanakul W, Nielsen KF, Frisvad JC, Samson RA. Fumonisin B<sub>2</sub> production by *Aspergillus niger* in Thai coffee beans. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2009;26(1):94-100.

55. Ndube N, van der Westhuizen L, Green IR, Shephard GS. HPLC determination of fumonisin mycotoxins in maize: a comparative study of naphthalene-2,3-dicarboxaldehyde and o-phthalaldehyde derivatization reagents for fluorescence and diode array detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2011 1;879(23):2239-43.
56. Pagliuca G, Zironi E, Ceccolini A, Matera R, Serrazanetti GP, Piva A. (2005). Simple method for the simultaneous isolation and determination of fumonisin B<sub>1</sub> and its metabolite aminopentol-1 in swine liver by liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography B* 818, 97-103.
57. Palencia, E., et al. (2003). Total fumonisins are reduced in tortillas using the traditional nixtamalization method of Mayan communities. Nutrient interacts and toxicity research communication. *The Journal of Nutrition* 133(10), 3200-3203.
58. Park, J.W.; Scott, P.M.; Lau, B.P.; Lewis, D.A.; Analysis of heat-processed maize foods for fumonisins and bound fumonisins. *Food Addit. Contam.* 21(12):1168-78, 2004.
59. Prelusky, D.B.; Trenholm, H.L.; Rotter, B.A.; Miller, J.D.; Savard, M.E.; Yeung, J.M.; and Scott, P.M. Biological fate of fumonisin B<sub>1</sub> in food-producing animals. IN: Fumonisins in Food. L.S. Jackson, J.W. DeVries, and L.B. Bullerman, eds. Plenum Press, New York, pp 265-278, 1996.
60. Resnik, S.L. Food processing to reduce the entry of mycotoxins to the food and feed chains. Conference on "Advances in research on toxigenic fungi and mycotoxins in South America ensuring food and feed safety in a mycoglobe context" Carlos Paz, Cordoba, Argentina, March 2006.
61. Rheeder, J.P.; Marasas, W. F.O.; Vismer, H.F. Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2101-2105, 2002.
62. Scott, P.M.; Lawrence, G.A. Analysis of beer for fumonisins. *J. Food Prot.*, 58, 1379–1382, 1995.
63. Scudamore KA, Patel S. *Fusarium* mycotoxins in milling streams from the commercial milling of maize imported to the UK, and relevance to current legislation. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2009 May;26(5):744-53.
64. Seefelder, W.; Knecht, A.; Humpf, H.U. Bound fumonisin B<sub>1</sub>: analysis of fumonisin-B<sub>1</sub> glyco and amino acid conjugates by liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 51, 5567-73, 2003.
65. Shelby, R.A.; White, D.G.; Bauske, E.M. Differential fumonisin production in maize hybrids. *Plant Disease* 78: 582-584, 1994.
66. Shetty, P.H.; Bhat, R.V. Physical method for segregation of fumonisin-contaminated maize. *Food Chem.*, 66, 371–374, 1999.
67. Silva, L.; Fernández-Franzón, M.; Font, G.; Pena, A.; Silveira, I.; Lino, C.; Mañes, J. Analysis of fumonisins in corn-based food by liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometry detectors. *Food Chemistry* 112, 1031–1037, 2009.
68. Solfrizzo, M.; De Girolamo A.; Visconti, A. Determination of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in maize flakes by high performance liquid chromatography and immunoaffinity clean-up. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 18(3):227-235, 2001.
69. Senyuva, H.Z., Gilbert, J., Stroka, J. (2010). Determination of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in corn by LC/MS with immunoaffinity column clean-up: Interlaboratory Study. *Journal of the AOAC International*, 93 (2), 611-621.
70. Sewram, V.; Mshicileli, N.; Shephard, G.S.; Vismer, H.F.; Rheeder, J.P.; Lee, Y.W.; Leslie, J.F.; Marasas, W.F.O. Production of fumonisin B and C analogs by several *Fusarium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 4861-4866, 2005
71. Sydenham, E.W.; Shephard, G.S.; Thiel, P.G.; Stockenström, S.; Snijman, P.W.; Van Schalkwyk, D.J. Liquid chromatographic determination of fumonisins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, and B<sub>3</sub> in maize: AOAC–IUPAC collaborative study. *J. AOAC Int.*, 79, 688–696, 1996.
72. USDA. Fumonisin Levels in Human Foods and Animal Feeds. Guidance for Industry Final guidance. US Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. November, 2001. Available at: <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fumongu2.html>
73. Visconti, A.; Solfrizzo, M.; Doko, M.B.; Boenke, A.; Pascale, M. Stability of fumonisins at different storage periods and temperatures in gamma-irradiated maize. *Food Addit. Contam.* 13(8): 929- 938, 1996.
74. Voss, K.A.; Riley, R.T. Differential sensitivity of rat kidney and liver to fumonisin toxicity: organ-specific differences in toxin accumulation and sphingoid base metabolism. *Toxicol. Sci.* 92: 335-345, 2006.
75. Wang, J.; Zhou, Y.; Wang, Q. Analysis of mycotoxin fumonisins in corn products by high-performance liquid chromatography coupled with evaporative light scattering detection. *Food Chemistry* 107(2): 970-976, 2008.b
76. Warfield, C.Y. and Gilchrist, D.G. Influence of kernel age on fumonisin B<sub>1</sub> production in maize by *Fusarium moniliforme*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(7): 2853-2856, 1999.
77. Whitaker, T.B.; Trucksess, M.W.; Johansson, A.S.; Giesbrecht, F.G.; Hagler, W.M.; and Bowman, D.T. Variability associated with testing shelled maize for fumonisin. *J AOAC Intl.* 81(6): 1162-1168, 1998.
78. Whitaker, T.B.; Doko, M.B.; Maestroni, B.M.; Slate, A.B.; Ogunbanwo, B.F.; Evaluating the Performance of Sampling Plans to Detect Fumonisin B<sub>1</sub> in Maize Lots Marketed in Nigeria. *J AOAC Intl.* 90(4): 1050-1059, 2007.
79. WHO – World Health Organization. GEMS/Food Custers Diet (Global Environment Monitoring System/ Food Contamination Monitoring and Assessment Program). 2006. Available at <http://www.who.int/foodsafety/chem/gems/en/index1.html>
80. Yates, I.E., Widstrom, N.W., Bacon, C.W., Glenn, A., Hinton, D.M., Sparks, D., Jaworski, A.J. Field performance of maize grown from *Fusarium verticillioides*-inoculated seed. *Mycopathologia* 159: 65-73, 2005.
81. Yates, I.E.; Sparks, D. *Fusarium verticillioides* dissemination among maize ears of field-grown plants. *Crop Protection Journal*. 27:606-613, 2008.