

## **INFORME RELATIVO A LAS MICOTOXINAS FUMONISINAS**

Grupo de trabajo:

- Dr. Agustín Ariño Moneva. Departamento de Producción Animal y Ciencia de los Alimentos. Universidad de Zaragoza
- Comisión Científica de la Agencia Aragonesa de Seguridad Alimentaria

Enero 2008

## 1. Introducción

Varios hongos del género *Fusarium* producen una serie de metabolitos secundarios tóxicos (micotoxinas) pertenecientes a la clase de las fumonisinas. Se conocen al menos 18 tipos de estas micotoxinas, siendo las fumonisinas B1, B2 y B3 las mayoritariamente aisladas en alimentos. Se han detectado fumonisinas en maíz y sus productos derivados en todo el mundo y se han notificado concentraciones relevantes en alimentos para consumo humano a base de maíz (Shephard et al., 1996; GLM, 2007). Estas micotoxinas son bastante estables en los métodos de elaboración de alimentos (EMAN, 2007).

Las principales especies productoras de fumonisinas son *F. verticillioides* (sinónimo de *F. moniliforme*) y *F. proliferatum*, que son hongos comunes del suelo. Los hongos fusarium suelen encontrarse en cereales cultivados en regiones templadas de todo el mundo y son especialmente abundantes en maíz (Ariño y Bullerman, 1994). Es bien sabido que las especies del género *Fusarium* infectan el grano antes de la cosecha, de ahí el importante papel de la prevención en campo durante el desarrollo del maíz, con unas prácticas agronómicas y de almacenamiento adecuadas (Recomendación 2006/583/CE).

Los efectos toxicológicos de las fumonisinas están relacionados con enfermedades en los animales tales como la leucoencefalomalacia equina y el edema pulmonar porcino, y con el cáncer esofágico en seres humanos (Marasas et al., 2000). La fumonisina B1 es un posible cancerígeno para humanos (Grupo 2B del IARC) (IARC, 2002) y debido a su presencia en alimentos y piensos existe una exposición humana y animal que habría que reducir al máximo, siendo el maíz el alimento más susceptible a la formación de fumonisinas.

El interés por las fumonisinas es actualmente muy alto. El Comité científico de la alimentación humana emitió en 2000 (actualizado en 2003) un dictamen en el que se evaluaron las fumonisinas (CE, 2000 y 2003a) y estableció una ingesta diaria tolerable (IDT) de 2 µg/kg de peso corporal, para la suma de las fumonisinas B1, B2 y B3. Los resultados globales más recientes a nivel europeo (CE, 2003b), indican que la prevalencia global de fumonisinas en alimentos susceptibles es del 46% de positividad (66% en maíz grano), con una tasa media de 0,35 mg/kg. Las ingestas alimentarias de fumonisinas correspondientes al conjunto de la población y a la población adulta están por debajo de la IDT; sin embargo, tratándose de grupos de riesgo como el de los lactantes y el de los niños pequeños, las ingestas se acercan a la IDT de 2 µg/kg de peso corporal. Conviene, pues, tomar las medidas apropiadas para evitar que entren en la cadena alimentaria el maíz y los productos a base de maíz con un grado inaceptable de contaminación.

En la actualidad se han armonizado en la Unión Europea los contenidos máximos admitidos de fumonisinas en maíz y derivados (Reglamento CE 1126/2007), aplicables a partir del 1 de octubre de 2007. Asimismo, se han establecido los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de fumonisinas en los productos alimenticios (Reglamento CE 401/2006).

## 2. Origen de la contaminación por fumonisinas

Las principales especies productoras de fumonisinas pertenecen a la sección Liseola de *Fusarium*, como *F. verticillioides* (sinónimo de *F. moniliforme*) y *F. proliferatum*, aunque también se producen en menor medida por otras especies del género *Fusarium* y por *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* (Soriano y Dragacci, 2007). Los hongos fusarium infectan el grano de cereal antes de la cosecha y se

han identificado varios factores de riesgo en relación con la infección por *Fusarium* y la formación de fumonisinas. Las condiciones climáticas durante el crecimiento de la planta, en particular en el momento de la floración, tienen una gran influencia en el contenido de toxinas de fusarium. El riesgo de infección se incrementa con una humedad del suelo baja, con unas elevadas temperaturas diurnas combinadas con bajas temperaturas nocturnas. Asimismo, la presencia de daños físicos en la planta, como los producidos por insectos como el taladro, pueden suponer vías de entrada de hongos. Es bien sabido que muchos hongos toxigénicos sobreviven en residuos de cosecha, con lo que debemos evitar, o al menos disminuir, la cantidad de granos y restos de plantas que quede en los campos tras la cosecha del maíz. Una adecuada rotación de cultivos puede ser también una forma eficaz de disminuir este inóculo en el terreno. La siembra y cosecha tempranas en latitudes templadas puede disminuir los riesgos de infección.

Hay estudios que indican que el maíz de cultivo ecológico es menos susceptible a la infección por *Fusarium*, aunque su susceptibilidad a la contaminación por fumonisinas parece similar a la del maíz de cultivo convencional (Ariño et al., 2007). Por otra parte, algunos autores plantean la reducción del riesgo de micotoxinas en maíz mediante el uso de variedades modificadas genéticamente (Munkvold, 2003). Un reciente estudio indica que el maíz transgénico resistente a taladros es menos susceptible a la contaminación por fumonisinas en condiciones españolas (GENVCE, 2007).

En resumen, las buenas prácticas agrícolas y de almacenamiento encaminadas a reducir a un mínimo los factores de riesgo, pueden prevenir, hasta cierto punto, la contaminación por hongos del género *Fusarium*. En este sentido, la Recomendación 2006/583/CE de la Comisión, sobre la prevención y la reducción de las toxinas de fusarium en los cereales y los productos a base de cereales, contiene principios generales para la prevención y la reducción de la contaminación con toxinas de fusarium (zearalenona, fumonisinas y tricotecenos) en los cereales, que deben ponerse en práctica mediante la elaboración de códigos nacionales de prácticas basados en estos principios.

## 3. Fumonisinas: propiedades físico-químicas y métodos de análisis

La fumonisina B1 tiene la fórmula empírica  $C_{34}H_{59}NO_{15}$  y es el diéster del ácido propano-1,2,3-tricarboxílico y el 2-amino-12,16-dimetil-3,5,10,14,15-pentahidroieicosano (masa molecular relativa: 721) (Marasas et al., 2000). Es la más frecuente de las fumonisinas, familia de toxinas con más de 18 miembros identificados, de las que destacan por su toxicidad las fumonisinas B1, B2 y B3. Las

fumonisinias son solubles en agua, acetonitrilo-agua o metanol, estables en acetonitrilo-agua (1:1), inestables en metanol y estables a la temperatura de elaboración de los alimentos y a la luz. Se han desarrollado varios métodos analíticos para su determinación, destacando la utilización de cromatografía líquida de un derivado fluorescente (UNE-EN 13585:2000 y UNE-EN 14352:2005). Como técnica confirmatoria se utiliza la cromatografía líquida acoplada a un detector de espectrometría de masas. Asimismo, se dispone de varios métodos rápidos de cribado basados en ensayos inmunoenzimáticos, y se ha propuesto también el uso de la espectroscopia de infrarrojos (Berardo et al., 2005).

#### **4. Tasas de contaminación por fumonisinias en alimentos**

Se han detectado fumonisinias en maíz en todo el mundo en concentraciones de varios mg/kg, a veces combinadas con otras micotoxinas. Se han notificado también concentraciones de mg/kg en alimentos para consumo humano a base de maíz, como sémola, harina, polenta, cereales de desayuno, tortitas de maíz, cerveza y palomitas (Shephard et al., 1996; GLM, 2007). Como consecuencia de la elaboración en seco del maíz, las fumonisinias se distribuyen en el salvado, el germen y la harina. En la molienda por vía húmeda (producción de almidón), se detectó fumonisinia en el agua de remojo, el salvado y el germen, pero no en el almidón (EMAN, 2007). Las fumonisinias son estables en el maíz y la polenta, mientras que se hidrolizan en los alimentos nixtamalizados a base de maíz, es decir, alimentos elaborados con soluciones alcalinas calientes adicionadas de cal, aunque podrían formarse productos tóxicos (EMAN, 2007). Los estudios con animales indican que no hay transferencia significativa de fumonisinias o sus metabolitos a los productos animales como leche, carne y huevos, por lo que no se recomienda la vigilancia de estas micotoxinas en alimentos de origen animal (Jonker et al., 1999).

En la UE se llevó a cabo la tarea de cooperación científica 3.2.10, "Recogida de datos de presencia de toxinas de *Fusarium* en los alimentos y evaluación de la ingesta dietética por la población de los Estados miembros de la UE" (CE, 2003b). En lo atinente a fumonisinias, la prevalencia global en alimentos susceptibles fue del 46% de positividad (66% en maíz grano), con una tasa media de 0,35 mg/kg en maíz. Los resultados obtenidos demostraron que las fumonisinias están distribuidas por la cadena alimentaria de la Comunidad, siendo los productos hechos con cereales, especialmente maíz, las principales fuentes de ingesta alimentaria de esas toxinas. La ingesta alimentaria estimada de fumonisinias fue, en la mayoría de los grupos de población, muy inferior a la IDT (ingesta diaria tolerable). Aumenta mucho, sin embargo, si sólo se tiene en cuenta a los consumidores de maíz y productos derivados (incluyendo lactantes y niños pequeños), aunque aún así sigue estando por debajo de la IDT.

En España se han realizado diversos estudios de las tasas de contaminación por fumonisinias en maíz y productos derivados, que se resumen en la Tabla nº 1.

**Tabla nº 1. Tasas de fumonisinas en productos a base de maíz en España**

Producto	Positividad	Media (mg/kg)	Referencia
Copos de maíz (n=12)	16,7%	0,05-0,10	Sanchis et al. (1994)
Harina de maíz (n=3)	33,3%	0,05-0,07	
Maíz triturado (n=15)	20%	0,05-0,09	
Misceláneos (n=20)	10%	0,05-0,20	
Grano de maíz (n=1)	100%	0,72	Visconti et al. (1995)
Maíz dulce (n=3)	100%	0,72	
Almidón de maíz (n=13)	7,7%	0,03	Burdaspal y Legarda (1996)
Harina de maíz (n=17)	94,1%	0,50	
Alimento animal (n=171)	79,5%	3,3	Castella et al. (1999)
Alimentos a base de maíz (n=228)	23%	0,03	Velluti et al. (2001)
Maíz convencional (n=30)	13,3%	0,065	Ariño et al. (2007)
Maíz ecológico (n=30)	10%	0,054	

Más recientemente, según los datos del estudio multianual en España de micotoxinas en maíz relativo a los años 2003 a 2006 (GENVCE, 2007), el 22,6% de las muestras de maíz grano tomadas en campo superaron 2 mg/kg, observándose diferencias interanuales debidas, entre otros factores, a las distintas condiciones climáticas. En el mismo estudio, se señala que la presencia de fumonisinas en maíz es importante en el Valle del Ebro.

## 5. Toxicología de las fumonisinas

La fumonisina B1 (FB1) es hepatotóxica en todas las especies animales sometidas a prueba, en particular ratones, ratas, équidos, conejos, cerdos, aves y primates no humanos. Las fumonisinas son nefrotóxicas en cerdos, ratas, ovejas, ratones y conejos. En ratas y conejos se produce toxicidad renal a dosis inferiores a las de hepatotoxicidad (Marasas et al., 2000). Se sabe que las fumonisinas producen leucoencefalomalacia equina y síndrome de edema pulmonar porcino, asociados ambos con el consumo de piensos elaborados con maíz contaminado (Soriano y Dragacci, 2007). La carcinogenicidad de la FB1 en roedores varía en función de las especies, las razas y el sexo. La dosis más baja de FB1 que induce hepatocarcinomas en animales experimentales es de 50 mg/kg de alimentos en ratas macho y en ratones hembra. La FB1 no es mutagénica en ensayos bacterianos. Según el IARC (2002), la fumonisina B1 se considera posible

cancerígeno para humanos (grupo 2B). La FB1 es un inhibidor específico del metabolismo de los esfingolípidos, reduciendo el crecimiento celular y produciendo la acumulación de bases esfingoideas libres y la alteración del metabolismo lipídico en diversos animales de experimentación (Marasas et al., 2000).

Los estudios de correlación disponibles procedentes de Transkei (Sudáfrica) parecen indicar una vinculación entre la exposición a las fumonisinas en los alimentos y el cáncer de esófago en personas (Marasas et al., 2000). Esto se ha observado en lugares donde se ha demostrado una exposición relativamente alta a las fumonisinas y donde las condiciones ambientales favorecen la acumulación de fumonisinas en el maíz, que es el alimento básico. También hay estudios de correlación entre fumonisinas y cáncer de esófago humano en China. Igualmente existe un estudio de casos y controles de varones en Italia que mostraba una asociación entre el consumo de maíz y el cáncer en la parte superior del aparato gastrointestinal en personas con un elevado consumo de alcohol, aunque no había datos sobre la exposición a las fumonisinas.

El Comité científico de la alimentación humana emitió un dictamen en el que se evalúan las fumonisinas en octubre de 2000, actualizado en abril de 2003 (CE, 2000 y 2003a). El citado Comité fijó una ingesta diaria tolerable (IDT) de 2 µg/kg de peso corporal para el total de las fumonisinas B1, B2 y B3, solas o combinadas.

## **6. Límites máximos de fumonisinas en alimentos y piensos**

Para proteger la salud pública y evitar que entren en la cadena alimentaria el maíz y los productos a base de maíz con un grado inaceptable de contaminación por fumonisinas, se han establecido contenidos máximos (Tabla nº 2). Primero se han establecido contenidos máximos en relación con el maíz no elaborado, para fomentar y garantizar que se tomen todas las medidas necesarias durante las fases de cultivo, recolección y almacenamiento dentro de la cadena de producción. Estos contenidos máximos no se aplican al maíz no transformado destinado a su molienda por vía húmeda (producción de almidón), ya que existen datos científicos de que estas toxinas no se detectan en el almidón de maíz, o solo a niveles desdeñables (EMAN, 2007).

Con la molienda en seco, del mismo lote de maíz no transformado se producen fragmentos de diferentes tamaños de partícula. Hay datos científicos que demuestran que las fracciones de menor tamaño de partícula contienen un nivel más elevado de toxinas de *Fusarium* que las fracciones de mayor tamaño de partícula (GLM, 2007). Estas fracciones se clasifican según su tamaño de acuerdo con el porcentaje que pasa por un tamiz con abertura de malla de 500 micras. Consiguientemente, se han establecido diferentes límites máximos para las fracciones de molienda mayores y menores de 500 micras para reflejar los niveles de contaminación de las diferentes fracciones.

Igualmente, para proteger la salud pública y la sanidad animal, se debe ejercer un control estricto de los productos destinados a la alimentación animal, para lo que se han dictado unos valores orientativos sobre la presencia de micotoxinas en los productos destinados a la alimentación animal (Tabla nº 3).

**Tabla nº 2. Contenidos máximos de fumonisinas en los productos alimenticios (µg/kg) (Reglamento CE nº 1126/2007)**

2.6	Fumonisinias	Suma de B <sub>1</sub> y B <sub>2</sub>
2.6.1	Maíz no elaborado <sup>(18)</sup> , excepto el destinado a molienda por vía húmeda <sup>(*)</sup>	4 000 <sup>(23)</sup>
2.6.2	Maíz y alimentos a base de maíz destinados al consumo humano directo, a excepción de los productos alimenticios enumerados en los puntos 2.6.3 y 2.6.4	1 000 <sup>(23)</sup>
2.6.3	Cereales para el desayuno a base de maíz y aperitivos de maíz	800 <sup>(23)</sup>
2.6.4	Alimentos elaborados a base de maíz y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad <sup>(3)</sup> <sup>(7)</sup>	200 <sup>(23)</sup>
2.6.5	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, clasificadas en los códigos NC 1103 13 u 1103 20 40, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula > 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10	1 400 <sup>(23)</sup>
2.6.6	Fracciones de la molienda del maíz con un tamaño de partícula < 500 micras, clasificadas en el código NC 1102 20, y otros productos de la molienda del maíz con un tamaño de partícula < 500 micras, no destinados al consumo humano directo, clasificados en el código NC 1904 10 10	2 000 <sup>(23)</sup>

(\*) La excepción se aplica únicamente al maíz del que es evidente, por ejemplo por su etiquetado o destino, que está únicamente destinado a su molienda por vía húmeda (producción de almidón).

<sup>(23)</sup> El contenido máximo se aplicará a partir del 1 de octubre de 2007.

**Tabla nº 3. Valores orientativos de fumonisinas en los productos destinados a la alimentación animal (mg/kg) (Recomendación 2006/576/CE de la Comisión)**

Micotoxina	Productos destinados a la alimentación animal	Valor orientativo en mg/kg (ppm) para piensos con un contenido de humedad del 12 %
Fumonisinias B1 + B2	Materias primas para piensos: — Maíz y productos a base de maíz	60
	Piensos complementarios y completos para: — cerdos, caballos (équidos), conejos y animales de compañía	5
	— peces	10
	— aves de corral, terneros (menores de cuatro meses), corderos y cabritos	20
	— rumiantes mayores de cuatro meses y visones	50

## 7. Agradecimientos

Al Gobierno de Aragón por la concesión del Proyecto multidisciplinar PM012/2007 "Fumonisinas en maíz convencional y transgénico cultivados en Aragón: origen, contaminación, análisis y control del riesgo" y por la financiación al Grupo Consolidado de Investigación "Análisis y Evaluación de la Seguridad Alimentaria".

## 8. Bibliografía

- Ariño A y Bullerman LB (1994). Fungal colonization of corn grown in Nebraska in relation to year, genotype and growing conditions. *J Food Prot* 57:1084-1087.
- Ariño A, Juan T, Estopañan G y González-Cabo JF (2007) Natural occurrence of *Fusarium* species, fumonisin-production by toxigenic strains and concentrations of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> in conventional and organic maize grown in Spain. *J Food Prot* 70: 151-156.
- Berardo N, Pisacane V, Battilani P, Scandolaro A, Pietri A y Marocco A (2005). Rapid detection of kernel rots and mycotoxins in maize by near-infrared reflectance spectroscopy. *J Agric Food Chem* 53: 8128 -8134.
- Burdaspal PA y Legarda TM (1996) Occurrence of fumonisins in corn and processed corn-based commodities for human consumption in Spain. In: Miraglia M, Brera C, & Onori R ed. IX International IUPAC Symposium on Mycotoxins and Phycotoxins, Rome, 27-31 May 1996: Abstract book. Rome, Istituto Superiore di Sanità, p 167.
- Castella G, Bragulat MR y Cabañes FJ (1999) Surveillance of fumonisins in maize-based feeds and cereals from Spain. *J Agric Food Chem* 47: 4707-4710.
- CE (Comisión Europea) (2000). Comité científico de la alimentación humana sobre las toxinas de fusarium, Parte 3: Fumonisina B1 (FB1) (emitido el 17 de octubre de 2000) ([http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out73\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out73_en.pdf)).
- CE (Comisión Europea) (2003a). Comité científico de la alimentación humana sobre la fumonisina B1, B2 y B3 (emitido el 4 de abril de 2003) ([http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out185\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out185_en.pdf)).
- CE (Comisión Europea) (2003b). Informe sobre la Tarea de cooperación científica 3.2.10 "Collection of occurrence data of *Fusarium* toxins in food and assessment of dietary intake by the population of EU Member States" (<http://ec.europa.eu/food/fs/scoop/task3210.pdf>).
- EMAN (European Mycotoxin Awareness Network) (2007) en <http://www.mycotoxins.org/>
- GENVCE (Grupo para la Evaluación de Nuevas Variedades de Cultivos Extensivos en España) (2007). Evaluación de las nuevas variedades de maíz para grano en España. *Vida Rural* 245 (15 marzo): 70-75.
- GLM (Gruppo Lavoro Micotossine) (2007). Fourth *Fusarium* Forum hosted by the European Commission, Brussels 15-16 January 2007.
- IARC (International Agency for Research on Cancer) (2002). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. *IARC Monogr.* 82:301-366.

- Jonker, M.A., Egmond, H.P. van, y Stephany, R.W. (1999). Mycotoxins in food of animal origin: A review. CRL document 389002095, CRL-European Union Community Reference Laboratory on Residues. RIVM-National Institute of Public Health (RIVM), Bilthoven, The Netherlands.
- Marasas WFO, Miller JD, Riley RT y Visconti A (2000). Fumonisin B1. Environmental Health Criteria 219. WHO, Geneva.
- Munkvold G (2003). Cultural and genetic approaches to managing mycotoxins in maize. *Ann Rev Phythopathol* 41: 99-116.
- Recomendación 2006/576/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal. DO L 229: 7-9.
- Recomendación 2006/583/CE de la Comisión, de 17 de agosto de 2006, sobre la prevención y la reducción de las toxinas de Fusarium en los cereales y los productos a base de cereales. DO L 234: 35-40.
- Reglamento (CE) nº 1126/2007 de la Comisión, de 28 de septiembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 1881/2006 por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios por lo que se refiere a las toxinas de Fusarium en el maíz y los productos del maíz. DO L 255: 14-17.
- Reglamento (CE) nº 401/2006 de la Comisión, de 23 de febrero de 2006, por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios. DO L 70: 12-34.
- Sanchis V, Abadías M, Oncins L, Sala N, Viñas I, y Canela R (1994). Occurrence of fumonisins B1 and B 2 in corn-based products from the Spanish market. *Appl Environ Microbiol* 60: 2147-2148.
- Shephard GS, Thiel PG, Stockenström S y Sydenham EW (1996). Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *J AOAC Int.* 79:671-687.
- Soriano JM y Dragacci S (2007). Fumonisin. En "Micotoxinas en alimentos", Soriano, JM (Director-Coordenador). Ed. Díaz de Santos, Madrid.
- UNE-EN 13585:2002 (2002). Determinación de fumonisinas B1 y B2 en maíz. Método por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con lavado por extracción en fase sólida.
- UNE-EN 14352:2005 (2005). Determinación de fumonisinas B1 y B2 en productos a base de maíz. Método por HPLC con purificación en columna de inmunoafinidad.
- Velluti A, Marin S, Sanchis V y Ramos AJ (2001). Occurrence of fumonisin B1 in Spanish corn-based foods for animal and human consumption. *Food Sci & Tech Intl* 7: 433-437.
- Visconti A, Boenke A, Doko MB, Solfrizzo M y Pascale M (1995) Occurrence of fumonisins in Europe and the BCR-measurements and testing projects. *Nat Toxins* 3: 269-274.