

# Relação entre níveis de fumonisina B<sub>1</sub> e ácido fólico em farinha de milho e a concentração de ácido fólico no soro humano

*Relationship between fumonisin B<sub>1</sub> and folic acid levels in foods and the folic acid concentration in human serum*

Keliani Bordin<sup>1</sup>, Matheus Tres<sup>1</sup>, Pollyana Cristina Maggio de Castro Souto<sup>1</sup>, Mayra Carraro Di Gregorio<sup>1</sup>, Carlos Humberto Corassin<sup>1</sup>, Carlos Augusto Fernandes de Oliveira<sup>1\*</sup>

**RESUMO:** Neste trabalho foram determinados os níveis de ácido fólico e de fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) em farinha de milho consumida por 24 voluntários residentes em um *campus* universitário no estado de São Paulo, bem como sua relação com as concentrações de ácido fólico sérico nos indivíduos. As análises de ácido fólico e de FB<sub>1</sub> em farinha de milho foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), enquanto a determinação de ácido fólico sérico foi feita por *kit* de imunoensaio. Detectou-se a FB<sub>1</sub> em 100% das amostras de farinha de milho, em níveis que variaram de 142 a 3.037 µg kg<sup>-1</sup> (média: 738 ± 591 µg kg<sup>-1</sup>). As concentrações de ácido fólico nas amostras de farinha de milho ficaram entre < 0,3 µg kg<sup>-1</sup> (limite de quantificação) e 1.705 µg kg<sup>-1</sup>, com média de 713 ± 435 µg kg<sup>-1</sup>, o que representa 47% do limite mínimo exigido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para farinhas de milho comercialmente disponíveis. Nas amostras de soro humano, os níveis de ácido fólico variaram de 6,7 a 24,0 ng mL<sup>-1</sup> (média: 13,4 ± 5,4 ng mL<sup>-1</sup>). Não houve correlação (p < 0,05) entre os níveis de ácido fólico no soro dos indivíduos e as concentrações de FB<sub>1</sub> ou ácido fólico nas amostras de farinha de milho. Outros estudos são necessários para estimar a ingestão total de FB<sub>1</sub> por meio da dieta para averiguar os efeitos das fumonisinas sobre a absorção de ácido fólico nos indivíduos avaliados.

**PALAVRAS-CHAVE:** fumonisina B<sub>1</sub>; ácido fólico; soro; análise.

**ABSTRACT:** In the present study, folic acid and fumonisin B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) levels were determined in corn flour consumed by 24 volunteers, residents in a university *campus* in São Paulo State, as well as its relationship with folic acid in serum of individuals. Analyses of folic acid and FB<sub>1</sub> in corn flour were performed by high-performance liquid chromatography (HPLC), while the determination of folic acid in serum was accomplished using an immunoassay kit. FB<sub>1</sub> was detected in 100% of corn samples, at levels ranging from 142 to 3,037 µg kg<sup>-1</sup> (which means: 738 ± 591 µg kg<sup>-1</sup>). The concentrations of folic acid in corn flour samples ranged from < 0.3 µg kg<sup>-1</sup> (limit of quantification) to 1,705 µg kg<sup>-1</sup>, with a mean of 713 ± 435 µg kg<sup>-1</sup>, which represents 47% of the minimum required by National Agency of Health Surveillance (ANVISA) for corn flour commercially available. The levels of folic acid in human serum samples ranged from 6.7 to 24.0 ng mL<sup>-1</sup> (meaning: 13.4 ± 5.4 ng mL<sup>-1</sup>). No correlations were observed (p < 0.05) between the folic acid levels in serum of individuals and the concentrations of FB<sub>1</sub> or folic acid in corn flour samples. Further studies are needed to estimate the total intake of FB<sub>1</sub> in the diet to assess the effects fumonisins on the absorption of folic acid in the individuals evaluated.

**KEYWORDS:** fumonisin B<sub>1</sub>; folic acid; serum analysis.

<sup>1</sup>Departamento de Engenharia de Alimentos; Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos; Universidade de São Paulo (USP) – Pirassununga (SP), Brasil.

\*Autor correspondente: carlosaf@usp.br

Recebido em: 31/10/2014. Aceito em: 05/10/2016.

## INTRODUÇÃO

As fumonisinas são metabólitos secundários tóxicos produzidos por fungos do gênero *Fusarium*, sobretudo *Fusarium verticillioides*, encontrado frequentemente em milho e derivados (WHO, 2002). Até o presente, foram identificados 28 compostos análogos designados por fumonisinas, sendo a fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) o composto com maior poder toxigênico e com mais frequência achado em alimentos, constituindo cerca de 70% da contaminação natural por fumonisinas (DOMIJAN, 2012). Os efeitos da exposição às fumonisinas em seres humanos por meio da dieta ainda permanecem incertos (VOSS et al., 2014), no entanto, a ingestão de FB<sub>1</sub> em alimentos vem sendo relacionada com a incidência de câncer esofágico em algumas regiões da China (CHU; LI, 1994), África (RHEEDER et al., 1992), Irã (ALIZADEH et al., 2012), norte da Argentina (SOLFRIZZO et al., 2004) e Brasil (WESTHUIZEN et al., 2003). A FB<sub>1</sub> foi classificada pela International Agency for Research on Cancer (IARC) como pertencente ao grupo 2B, ou seja, possível carcinógeno em humanos (IARC, 2002).

A ingestão de FB<sub>1</sub> também foi ligada à ocorrência de defeitos no tubo neural (DTN) em mulheres residentes na fronteira do Texas, Estados Unidos, com o México. Nessa região, a incidência de DTN dobrou no mesmo período em que houve um surto epizootico associado à contaminação de milho por fumonisinas (MISSMER et al., 2006). Incidências relativamente elevadas de DTN também foram observadas em regiões da África do Sul (35–61/10 mil habitantes), norte da China (57–73/10 mil habitantes) e Guatemala (até 106/10 mil habitantes), onde a população possui elevada exposição à toxina, pela utilização do milho como base alimentar (MARASAS et al., 2004).

O desenvolvimento de DTN possui origem multifatorial, e a suplementação com ácido fólico tem indicado redução na ocorrência dessa enfermidade, podendo auxiliar na proteção e no desenvolvimento do feto (WAES et al., 2009). Estudos anteriores realizados com animais demonstraram que o ácido fólico (*in vivo*) e o ácido folínico (*in vivo* e *in vitro*) podem diminuir a incidência de exencefalia em embriões tratados com FB<sub>1</sub> (SADLER et al., 2002). Em estudo feito em São Paulo, FUJIMORI et al. (2013) descreveram a redução de DTN após a fortificação obrigatória de farinhas de milho e trigo. A FB<sub>1</sub> causa interrupção no metabolismo de esfingolipídios, o que interfere na absorção celular de diversos nutrientes, principalmente de folatos (STEVENS; TANG, 1997). Essa deficiência intracelular da vitamina, ocasionada pela depleção de esfingolipídeos induzida pela FB<sub>1</sub>, tem sido considerada como um possível mecanismo para a indução de DTN pelas fumonisinas (MARASAS et al., 2004).

No Brasil, a contaminação de alimentos por fumonisinas tem sido tratada por diversos autores, de maneira especial no milho e derivados (BITTENCOURT et al., 2005; MORENO et al., 2009; BORDIN et al., 2014), contudo não há estudos que avaliem os níveis de FB<sub>1</sub> e ácido fólico na dieta, ou a associação entre essas variáveis e as concentrações séricas de ácido fólico.

No presente artigo foram investigados os níveis de FB<sub>1</sub> e ácido fólico em farinha de milho disponível nas residências de voluntários e sua relação com a concentração de ácido fólico no soro dos indivíduos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Seleção de voluntários e coleta das amostras

Foram selecionados 24 voluntários com idades entre 10 e 60 anos entre funcionários residentes em um *campus* universitário no estado de São Paulo, no mês de junho de 2011. Adotou-se, como critério para inclusão no estudo, histórico clínico de cada voluntário demonstrando ausência de doenças crônicas nos dois anos anteriores à investigação, de acordo com os registros da Unidade Básica de Saúde (UBAS) do *campus*. A inclusão de cada indivíduo no estudo foi realizada por manifestação voluntária de concordância, sendo ela registrada por meio de termo de consentimento livre e esclarecido e assinada individualmente pelos voluntários. O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP, processo do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto nº 7.962/2010).

No dia anterior às coletas de sangue, entregaram-se às residências dos participantes um frasco graduado para registro da quantidade de amostra de farinha de milho coletada (mínimo de 150 g) e sacos herméticos previamente identificados para acomodar as amostras. Os voluntários foram instruídos a coletar os alimentos na forma como se encontravam na residência (dispostos nas embalagens originais, previamente abertas ou fechadas, porém em conformidade com a data de validade do produto) e a levá-las no momento das coletas de sangue à UBAS. Após a coleta, as amostras de farinha de milho foram armazenadas a -20°C até o momento das análises.

Os procedimentos para coleta e tratamento inicial das amostras de sangue aconteceram segundo as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso. Após a coagulação, os frascos contendo as amostras de soro foram devidamente identificados e armazenados a -80°C, para posterior realização das análises.

### Determinação de fumonisina B<sub>1</sub> em farinha de milho

A extração foi realizada com solução de metanol-água (3:1, v/v) e purificada pelo uso de colunas de troca iônica forte (SAX), segundo SHEPHARD et al. (1990). O eluato foi evaporado a 40°C, reconstituído em 200 µL de solução acetone-tri-*n*-butila-água (50:50, v/v) e derivatizado com solução de o-ftaldialdeído

(OPA) previamente preparada. O extrato final foi filtrado em membrana PTFE 0,45 µm e injetado em sistema de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (Shimadzu, Quioto, Japão), equipado com detector de fluorescência (excitação de 360 nm e emissão 440 nm) e coluna C<sub>18</sub> com dimensões de 4,6 × 250 mm, 5 µm (Shimadzu, Quioto, Japão).

A fase móvel isocrática foi composta de água-acetonitrila-ácido acético (50:50:1, v/v/v), utilizando-se o fluxo de 1 mL min<sup>-1</sup>. As curvas de calibração foram obtidas com padrões de FB<sub>1</sub> preparados em triplicata nas concentrações 0,125, 0,25, 0,5, 1,0 e 2,0 µg mL<sup>-1</sup>, os quais foram derivatizados conforme descrito para as amostras. Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) de FB<sub>1</sub> foram determinados considerando-se a relação sinal/ruído de 3:1 e 10:1, respectivamente. Nessas condições os valores de LD e LQ foram 30 e 100 µg kg<sup>-1</sup>, nessa ordem.

O método de análise foi avaliado previamente, obtendo-se recuperações médias de 77,6 a 103,6% e coeficientes de variação de 3,0 a 25,2% para amostras fortificadas com FB<sub>1</sub> em níveis de 100 a 1.000 µg kg<sup>-1</sup> (BORDIN *et al.*, 2014).

## Determinação de ácido fólico em farinha de milho

A extração e quantificação de ácido fólico nas amostras de farinha de milho foram realizadas segundo o método descrito por HEUDI *et al.* (2005). Extraíram-se as amostras com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 2M em banho de ultrassom por 10 minutos. Uma alíquota da solução foi removida e filtrada em PTFE 0,45 µm, sendo 20 µL injetados em sistema CLAE (Shimadzu, Quioto, Japão) equipado com detector de luz ultravioleta/visível e ajustado em comprimento de onda de 270 nm. A quantificação aconteceu por coluna de fase reversa C18 250 × 4,6 mm, 5 µm. A fase móvel foi composta de água-acetonitrila-ácido fosfórico (90:10:1, v/v/v). O limite de quantificação obtido foi de 0,3 µg kg<sup>-1</sup>, e a faixa linear do método, determinada desse nível até 3,4 µg kg<sup>-1</sup>.

## Determinação de ácido fólico em soro

A determinação de ácido fólico (na forma de folatos) nas amostras de sangue foi realizada no laboratório de análises clínicas Centrolab (Leme, São Paulo, Brasil), utilizando-se estritamente os procedimentos do *kit* de imunoensaio ADVIA Centaur Folate, por método de quimioluminescência (Siemens, Washington DC, Estados Unidos). Nessa análise, o folato presente na amostra competiu com o folato marcado com éster de acridina (provido com o *kit*) por uma quantidade limitada da proteína de ligação ao folato marcado com biotina. Na determinação, a amostra foi previamente tratada para liberar o folato das proteínas de ligação endógena na amostra. Quatro amostras de soro foram avaliadas em cinco diferentes dias nos níveis de 3,85, 12,00, 22,67 e 33,86 nmol mL<sup>-1</sup>, obtendo coeficiente de variação de 10,00, 7,61, 8,50 e 8,93%, respectivamente, entre as repetições

feitas. A faixa de trabalho do *kit* estabelecido pelo fabricante é de 0,35 a 24,0 ng mL<sup>-1</sup> (0,79–54,36 nmol mL<sup>-1</sup>).

Os resultados das análises de FB<sub>1</sub> e ácido fólico nas amostras de farinha de milho e soro foram utilizados para determinar o coeficiente de correlação de Pearson (r), e a significância foi testada ao nível de probabilidade de 0,05 (BERQUÓ *et al.*, 1981).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta as concentrações de FB<sub>1</sub> e ácido fólico nas amostras de farinha de milho, bem como de ácido fólico no soro dos voluntários. A FB<sub>1</sub> foi detectada em 100% das amostras analisadas, em níveis que variaram de 142 a 3.037 µg kg<sup>-1</sup>

**Tabela 1.** Concentrações de fumonisina B<sub>1</sub> (FB<sub>1</sub>) e de ácido fólico em farinha de milho disponível nas residências dos voluntários e de ácido fólico no soro dos indivíduos.

Voluntário	Farinha de milho		Soro
	FB <sub>1</sub> (µg kg <sup>-1</sup> )	Ácido fólico (µg kg <sup>-1</sup> )	Ácido fólico (ng mL <sup>-1</sup> )
1	1.280	1.130	20,7
2	1.280	1.130	12,1
3	1.018	884	21,9
4	1.018	884	24,0
5	512	636	14,5
6	653	1.705	24,0
7	460	436	14,9
8	1.089	<LQ	10,2
9	1.089	<LQ	15,5
10	677	340	7,5
11	677	340	7,1
12	677	340	12,9
13	275	578	12,9
14	275	578	9,3
15	350	1.170	6,7
16	350	1.170	8,7
17	350	1.170	8,5
18	717	1.346	15,1
19	605	584	13,2
20	450	222	19,9
21	142	232	15,6
22	362	852	7,5
23	362	852	7,2
24	3.037	521	11,6
Média ± DP	738 ± 591	713 ± 435	13,4 ± 5,4

LQ: limite de quantificação do método (0,3 µg kg<sup>-1</sup>); DP: desvio padrão.

(média:  $738 \pm 591 \mu\text{g kg}^{-1}$ ), no entanto uma amostra (4,2%) apresentou concentração acima do limite de tolerância estabelecido pela legislação brasileira ( $2.500 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) (BRASIL, 2011).

Esses valores são similares aos encontrados em estudo anterior, cujo percentual de amostras positivas para  $\text{FB}_1$  em amostras de farinha de milho coletadas na região de Pirassununga (SP) foi de 78%, em concentração média de  $476 \mu\text{g kg}^{-1}$  (BORDIN *et al.*, 2014). A incidência de  $\text{FB}_1$  obtida no presente trabalho foi também semelhante à observada por BITTENCOURT *et al.* (2005) em amostras de fubá e farinha de milho comercializadas no município de São Paulo, embora os níveis tenham sido maiores ( $470$  a  $15.300 \mu\text{g kg}^{-1}$ ). Contudo alguns fatores dificultam a comparação dos dados obtidos em alimentos disponíveis nas residências, como na presente investigação, com levantamentos nos quais foram analisadas amostras disponíveis no comércio varejista, tais como a coleta de farinhas de embalagens previamente abertas em tempos variados e diferentes condições de armazenagem nas residências.

As concentrações de ácido fólico nas amostras de farinha de milho variaram de  $< 0,3$  (LQ) a  $1.705 \mu\text{g kg}^{-1}$ , com média de  $713 \pm 435 \mu\text{g kg}^{-1}$ . Somente uma amostra (4,2%) apresentou nível de ácido fólico acima do valor mínimo estabelecido pela ANVISA para fortificação de farinhas de milho e trigo ( $1.500 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) (BRASIL, 2002). Em estudo anterior, SOEIRO *et al.* (2010) encontraram maiores concentrações de ácido fólico em farinha de milho ( $2.940$  a  $3.280 \mu\text{g kg}^{-1}$ ) em três diferentes marcas disponíveis no comércio de Campinas (SP). As menores concentrações obtidas no presente trabalho podem ser por conta das perdas de ácido fólico nas farinhas disponíveis nas residências dos voluntários, em condições e tempo de armazenagem distintos, em comparação aos produtos disponíveis no comércio. Esse resultado ressalta a necessidade de tecnologias para prolongar a vida útil do ácido fólico adicionado à farinha de milho e de orientações aos consumidores sobre práticas para a conservação dos produtos após a abertura da embalagem.

Nas amostras de soro humano, os valores alcançados para ácido fólico variaram de  $6,7$  a  $24,0 \text{ ng mL}^{-1}$  (média de  $13,4 \pm 5,4 \text{ ng mL}^{-1}$ ), os quais estão coerentes com os dados reportados por STELUTI *et al.* (2011) no Brasil, cuja média foi  $9,2 \pm 3,4 \text{ ng mL}^{-1}$ . Os valores de referência de ácido fólico sérico podem variar amplamente entre as populações e países com diferentes hábitos alimentares, tais como

Uganda ( $5,85$  a  $10 \text{ ng mL}^{-1}$ ), Austrália ( $5,7$  a  $20,0 \text{ ng mL}^{-1}$ ), países da União Europeia ( $3,8$  a  $16 \text{ ng mL}^{-1}$ ) e Estados Unidos ( $8,4$  a  $35,2 \text{ ng mL}^{-1}$ ) (GALUKANDE *et al.*, 2011).

No presente estudo, não houve correlação significativa entre os níveis de ácido fólico no soro dos indivíduos e as concentrações de  $\text{FB}_1$  na farinha de milho ( $r=-0,22$ ;  $p=0,28$ ), ou mesmo de ácido fólico nesse alimento ( $r=0,04$ ;  $p=0,83$ ). Considerando os níveis baixos de ácido fólico nas amostras de farinha de milho averiguadas, a ausência de correlação entre esses níveis e os de ácido fólico no soro dos indivíduos indica baixa participação do referido alimento para a ingestão global da vitamina e sugere que outras fontes nutricionais de ácido fólico estão presentes na dieta dos voluntários.

Com relação à  $\text{FB}_1$ , mesmo com elevada incidência nas amostras, as concentrações obtidas não foram suficientes para interferir nas concentrações de ácido fólico sérico dos voluntários, no entanto, outros estudos são necessários para estimar a ingestão total de  $\text{FB}_1$  por intermédio de outros alimentos e seus efeitos sobre a absorção de ácido fólico no grupo populacional avaliado.

## CONCLUSÕES

Embora a  $\text{FB}_1$  tenha sido quantificada em todas as amostras de farinha de milho disponíveis nas residências dos voluntários, os níveis encontrados foram baixos e estavam de acordo com o limite de tolerância adotado no Brasil para essa toxina, com exceção de uma amostra. Inversamente, as concentrações de ácido fólico na farinha de milho estavam abaixo do estabelecido pela legislação brasileira. As concentrações de  $\text{FB}_1$  ou ácido fólico nas amostras de farinha de milho não apresentaram efeitos sobre os níveis de ácido fólico no soro dos indivíduos.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), o suporte financeiro, processo n.º 2010/06291-9.

## REFERÊNCIAS

ALIZADEH, M.A.; ROSHANDEL, G.; ROUDBARMOHAMMADI, S.; ROUDBARY, M.; SOHANAKI, H.; GHIASIAN, S.A.; TAHERKHANI, A.; SEMNANI, S.; AGHASI, M. Fumonisin  $\text{B}_1$  contamination of cereals and risk of esophageal cancer in a high risk area in Northeastern Iran. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, v.13, n.6, p.2625-2628, 2012.

BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.M.P.; GOTLIEB, S.L.D. *Bioestatística*. São Paulo: Editora Pedagógica e Universitária, 1981. 350p.

BITTENCOURT, A.B.F.; OLIVEIRA, C.A.F.; DILKIN, P.; CORRÊA, B. Mycotoxin occurrence in corn meal and flour traded in São Paulo, Brazil. *Food Control*, v.16, n.2, p.117-120, 2005. DOI: 10.1016/j.foodcont.2003.12.005

BORDIN, K.; ROSIM, R.E.; NEEFF, D.V.; ROTTINGHAUS, G.E.; OLIVEIRA, C.A. Assessment of dietary intake of fumonisin  $\text{B}_1$  in São Paulo, Brazil. *Food Chemistry*, v.155, p.174-178, 2014. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.057

- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n.º 7, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 18 de fevereiro de 2011. Estabelece limites de tolerância para micotoxinas em alimentos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 22 fevereiro de 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n.º 344, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), de 13 de dezembro de 2002. Estabelece níveis de fortificação em farinhas. *Diário Oficial da União*, Brasília, 13 de dezembro de 2002.
- CHU, F.S.; LI, G.Y. Simultaneous occurrence of fumonisin B<sub>1</sub> and other mycotoxins in mouldy corn collected from the Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Applied and Environmental Microbiology*, v.60, n.3, p.847-852, 1994.
- DOMIJAN, A.M. Fumonisin B<sub>1</sub>: a neurotoxic mycotoxin? *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, v.63, n.4, p.531-544, 2012.
- FUJIMORI, E.; BALDINO, C.F.; SATO, A.P.S.; BORGES, A.L.V.; GOMES, M.N. Prevalência e distribuição especial de defeitos do tubo neural no Estado de São Paulo, Brasil, antes e após a fortificação de farinhas com ácido fólico. *Cadernos de Saúde Pública*, v.29, n.1, p.145-154, 2013. DOI: 10.1590/S0102-311X2013000100017
- GALUKANDE, M.; JOMBWE, J.; FUALAL, J.; RAINGANA, R.; GAKWAYA, A. Reference values for Serum levels of Folic Acid and Vitamin B12 in a Young adult Ugandan population. *African Health Sciences*, v.11, n.2, p.240-243, 2011.
- HEUDI, O.; KILINÇ, T.; FONTANNAZ, P. Separation of water-soluble vitamins by reversed-phase high performance liquid chromatography with ultra-violet detection. Application to polyvitaminated premixes. *Journal of Chromatography A*, v.1070, n.1-2, p.49-56, 2005.
- INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans*, v.82, p.171-274, 2002.
- MARASAS, W.F.O.; RILEY, R.T.; HENDRICKS, K.A.; STEVENS, V.L.; SADLER, T.W.; WAES, J.G.; MISSMER, S.A.; CABRERA, J.; TORRES, O.; GELDERBLUM, W.C.A.; ALLEGOOD, J.; MARTINEZ, C.; MADDOX, J.; MILLER, J.D.; STARR, L.; SULLARDS, M.C.; ROMAN, A.V.; VOSS, K.A.; WANG, E.; MERRILL JR., A.H. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among population consuming fumonisin-contaminated maize. *The Journal of Nutrition*, v.134, n.4, p.711-716, 2004.
- MISSMER, S.A.; SUAREZ, L.; FELKNER, M.; WANG, E.; MERRILL, A.H.; ROTHMAN, K.J.; MOLLY, A.M. The role of folic acid in the prevention of neural tube defects. *Trends in Food Science & Technology*, v.16, n.6, p.241-245, 2006. DOI: 10.1016/j.tifs.2005.03.009
- MORENO, E.C.; GARCIA, G.T.; ONO, M.A.; VIZONI, E.; KAWAMURA, O.; HIROOKA, E.Y.; ONO, E.Y.S. Co-occurrence of mycotoxins in corn samples from the Northern region of Paraná State, Brazil. *Food Chemistry*, v.116, n.1, p.220-226, 2009.
- RHEEDER, J.P.; MARASAS, W.F.O.; THIEL, P.G.; SYDENHAM, E.W.; SHEPHARD, G.S.; VAN SCHALWYK, D.J. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, v.82, p.353-357, 1992.
- SADLER, T.W.; MERRILL, A.H.; STEVENS, V.L.; SULLARDS, M.C.; WANG, E.; WANG, P. Prevention of fumonisin B<sub>1</sub>-induced neural tube defects by folic acid. *Teratology*, v.66, n.4, p.169-176, 2002. DOI: 10.1002/tera.10089
- SHEPHARD, G.S.; SYDENHAM, E.W.; THIEL, P.G.; GERDERBLUM, W.C.A. Quantitative determination of fumonisins B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub> by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Liquid Chromatography*, v.13, p.2077-2087, 1990. DOI: 10.1080/01483919008049014
- SOEIRO, B.T.; BOEN, T.R.; PEREIRA-FILHO, E.R.; PALLONE, J.A.L. Investigação da qualidade de farinhas enriquecidas utilizando análise por componentes principais (PCA). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.30, n.3, p.618-624, 2010. DOI: 10.1590/S0101-20612010000300008
- SOLFRIZZO, M.; CHULZE, S.N.; MALLMANN, C.; VICONTI, A.; GIROLAMO, A.; ROJO, F.; TORRES, A. Comparison of urinary sphingolipids in human populations with high and low maize consumption as a possible biomarker of fumonisin dietary exposure. *Food Additives & Contaminants*, v.21, n.11, p.1090-1095, 2004. DOI: 10.1080/02652030400013318
- STELUTI, J.; MARTINI, L.A.; PETERS, B.S.E.; MARCHIONI, D.M.L. Folate, vitamin B6 and vitamin B12 in adolescence: serum concentrations, prevalence of inadequate intakes and sources in food. *Journal of Pediatrics*, v.87, n.1, p.43-49, 2011. DOI: 10.1590/S0021-75572011000100008
- STEVENS, V.L.; TANG, J. Fumonisin B<sub>1</sub>-induced sphingolipid depletion inhibits vitamin uptake via glycosylphosphatidylinositol-anchored folate receptor. *Journal of Biological Chemistry*, v.272, p.18020-18025, 1997. DOI: 10.1074/jbc.272.29.18020
- VOSS, K.A.; RILEY, R.T.; WAES, J.G. Fumonisin B<sub>1</sub> induced neural tube defects were not increased in LM/Bc mice fed folate-deficient diet. *Molecular Nutrition & Food Research*, v.58, n.9, p.1190-1198, 2014. DOI: 10.1002/mnfr.201300720
- WAES, G.V.; VOSS, K.A.; STEVENS, V.L.; SPEER, M.C.; RILEY, R.T. Maternal fumonisin exposure as a risk factor for neural tube defects. *Advances in Food and Nutrition Research*, v.56, p.145-181, 2009. DOI: 10.1016/S1043-4526(08)00605-0
- WESTHUIZEN, L.; SHEPARD, G.S.; SCUSSEL, V.M.; COSTA, L.L.F.; VISMER, H.F.; RHEEDER, J.P.; MARASAS, W.F.O. Fumonisin contamination and *Fusarium* incidence in corn from Santa Catarina, Brazil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.51, n.18, p.5574-5578, 2003.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Evaluation of certain mycotoxins in food*. Geneva: World Health Organization, 2002. (WHO Technical Report Series, 906.)