

T
1203

 XCHIHUACO SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

124325



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

“CINÉTICA DE DESTRUCCIÓN FOTOQUÍMICA DE
FUMONISINAS (B₁ Y B₂) EN MAÍZ MEJORADO”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

HILDA ELIZABETH CALDERÓN VILLAGÓMEZ

COMITE TUTORIAL
TUTORES

SILVIA DENISE PEÑA BETANCOURT
PANDIYAN THANGARASU

ASESORA
MAGDA CARVAJAL MORENO

MÉXICO, D.F.

29 DE JUNIO 2007



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
XOCHIMILCO**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**“CINÉTICA DE DESTRUCCIÓN FOTOQUÍMICA DE
FUMONISINAS (B₁ Y B₂) EN MAÍZ MEJORADO”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

P R E S E N T A:

Hilda Elizabeth Calderón Villagómez

COMITÉ TUTORIAL

TUTORES

Silvia Denise Peña Betancourt

Pandiyam Thangarasu

Asesora

Magda Carvajal Moreno

MÉXICO D.F.

29 DE JUNIO 2007

El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y además cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93

El presente trabajo de tesis se realizó en el laboratorio 201-B de la Facultad de Química de la UNAM con el apoyo de los proyectos: PAAPIME No. EN208604 y Proyecto PAPIIT No. IN202706-3. Laboratorio de toxicología de la Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco.

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de las
Unidades Iztapalapa y Xochimilco

Aprobó la tesis que presentó

Hilda Elizabeth Calderón Villagómez

El día 29 de junio del año 2007

Jurado:

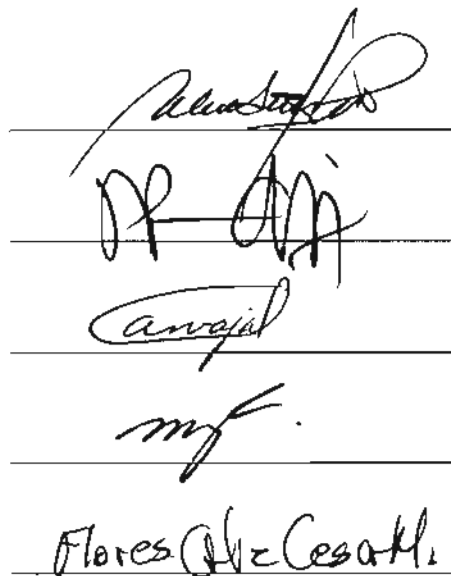
Cotutor: Dra. Silvia Denise Peña Betancourt

Cotutor: Dr. Pandiyan Thangarasu

Asesora: Dra. Magda Carvajal Moreno

Sinodal: Dra. Mahara Valverde R

Sinodal: Dr. César Mateo Flores Ortiz



Handwritten signatures of the jury members on horizontal lines:

- Signature 1: *Silvia Denise Peña Betancourt*
- Signature 2: *Pandiyan Thangarasu*
- Signature 3: *Magda Carvajal Moreno*
- Signature 4: *Mahara Valverde R*
- Signature 5: *César Mateo Flores Ortiz*

DEDICATORIA

A Ángel Jiménez Rivera, por su apoyo, tiempo y comprensión, este logro es para ti y para nuestro hijo Ángel Eduardo Jiménez Calderón.

A Rosa María Picaso H, gracias por endulzar los días con esos correos tan interesantes y amenos

Al Dr. Pandiyan Thangarasu por su amistad, apoyo y valiosos consejos

A la Dra. Magda Carvajal Moreno, por darme una nueva esperanza

A la Dra. Silvia D. Peña, Betancourt por su comprensión y apoyo durante todo este tiempo

A la Dra. Marta Menjívar Iraheta por su confianza y apoyo

A Lucero Rodríguez E y Ma. Elena Hernández R por su amistad y apoyo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Metropolitana

A los miembros del jurado, por todos los valiosos comentarios y sobre todo, por el tiempo dedicado a la revisión de la tesis.

Al Dr. Dan Jeffers y al Ing. Locadio Martínez de la Estación Experimental del CIMMYT, Tlaltizapan, Morelos, México por la donación de las muestras de maíz y los comentarios y datos tan valiosos que nos proporcionaron.

A la Facultad de Química, UNAM, Georgina A. Duarte Lisci, de la USAI por el apoyo para el estudio de espectrometría de masas.

A los Dres. Arturo Navarro Ocaña y Francisco Ruíz Terán de la Facultad de Química de la UNAM por darme la oportunidad y el tiempo para concluir la tesis.

Al CONACYT por el apoyo económico para lrealizar los estudios de doctorado

RESUMEN

El maíz se afecta generalmente por la contaminación de hongos productores de micotoxinas (*Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*) durante su cultivo, almacenamiento, y distribución. Los métodos reportados para reducir los niveles de fumonisinas presentes en los cereales han demostrado que puede ser hidrolizada, pero no se elimina completamente y tampoco se puede eliminar mediante lavados sucesivos. Se han obtenido resultados alentadores empleando la degradación fotocatalítica para eliminar contaminantes orgánicos en suelo y alimentos, es por ello que los objetivos de la investigación son determinar el efecto de la fotodegradación de FB₁ y FB₂ como una nueva técnica de control químico y determinar el papel que juegan: a) la complejidad de la matriz, b) el contenido de grasa, c) la humedad de las muestras de maíz, y d) la presencia de TiO₂. Los resultados obtenidos indican que la radiación UV/TiO₂ o gamma favorecen la fotodegradación de las fumonisinas. Además, esta se incrementa en presencia de un foto catalizador como el TiO₂. Durante el tratamiento con UV/TiO₂ o radiación gamma se observó un proceso de liberación de fumonisinas del maíz, favoreciendo su fotodegradación. El efecto de la radiación UV o gamma dependen del contenido de grasa en las muestras, ya que hay mayor reducción en la concentración de fumonisinas en aquellas harinas con mayor contenido de grasa. La radiación UV o gamma se pueden emplear como métodos alternativo para reducir los niveles de fumonisinas en la harina de maíz, considerando que la radiación UV/TiO₂, requiere mayores superficies de contacto.

ABSTRACT

Maize has been generally contaminated by mycotoxins during the cultivation, storage, or in distribution process, produced by fungal pathogens (*Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum*). The different methods such as dilution, molturation, sifts, and ultraviolet (UV) radiation have been used to decontaminate mycotoxins, which present in cereal, have demonstrated that it can be hydrolysed but not completely eliminated, and unable to eliminate by even several washes. Photocatalytic degradation has been used to decontaminate several organic contaminants in soil and foods, and therefore, the photocatalytic degradation is considered to eliminate fumonisin B₁ and B₂ (FB₁ and FB₂) in maize. The objective of this work is to determine the effect of the photo-degradation over FB₁ and FB₂ in presence and absence of photocatalyst (TiO₂) to consider as a new chemical control technique and also to determine the role of: a) the matrix complexity, b) fat content, c) humidity of maize samples, and d) titanium dioxide (TiO₂) in fumonisins degradation. The fumonisins degradation results indicate that UV or gamma radiations are favored when the temperature of fumonisins treatment increases; furthermore, in the presence TiO₂, the decomposition of fumonisins is increased. During the treatments, the fumonisins liberation from the maize was occurred that is the reason why the inconsistent degradation curve was obtained. However, the effect of UV/TiO₂ or gamma radiation depends with the fat content present in the sample, meaning that the high fat content in the sample facilitates higher fumonisins degradation, suggesting that the UV/TiO₂ or gamma radiation can be used as alternatives techniques to eliminate the fumonisin levels in maize, considering the UV irradiation with TiO₂, which requires a high surfaces.

INDICE GENERAL

<i>Contenido</i>		<i>Páginas</i>
I. INTRODUCCIÓN		1
	a. Antecedentes	1
	b. Maíz mejorado	5
1.1.0.	Fotoquímica	6
1.2.1.	Radiación ultravioleta	7
1.2.2.	Procesos de oxidación avanzada	8
1.2.3.	Propiedades fisicoquímicas del TiO ₂	9
1.2.4.	Mecanismos de acción de las radiaciones	10
	a. Efecto fotoeléctrico	10
	b. Efecto Compton	11
	c. Producción de pares	12
	d. Efectos directos	13
	e. Efectos indirectos	14
1.3.0.	Características generales de la fumonisinas	15
1.3.1.	Incidencia de fumonisinas en alimentos destinados al consumo animal y humano	19
1.3.2.	Regulación de los niveles de fumonisinas en alimentos para consumo humano	22
1.3.3.	Efecto en la promoción del cáncer	24
1.3.4.	Métodos de análisis	26
	a. Cromatografía de líquidos de alta resolución	27
	b. Espectrometría de masas	27
1.3.5.	Métodos empleados en la reducción de fumonisinas	29
1.3.6.	Métodos biológicos	29
	a) En la precosecha	29
	b) En la post-cosecha	29
1.3.7.	Métodos físicos y químicos	30

1.3.8.	Radiación de alimentos	35
	Fuentes de radiación	37
II.	OBJETIVO	39
2.1.	Objetivos particulares	39
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	40
3.1.	Muestreo	40
3.2.	Diseño experimental	44
3.2.1.	Tratamiento de los estándares de fumonisinas (FB ₁ y FB ₂) con radiación UV	46
3.2.2..	Tratamiento de harina de maíz con radiación Uv ($\lambda < 380$ nm)	46
3.2.3..	Tratamiento de estándares de FB ₁ y FB ₂ con radiación gamma	47
3.2.4.	Tratamiento de harina de maíz con radiación gamma	48
3.3.	Extracción de fumonisinas y limpieza	48
3.4.	Análisis químico	50
3.4.1	Condiciones de análisis de HPLC	50
	a) Equipo	50
	b) Reactivos	50
	c) Curva de calibración	50
	d) Reactivo de OPA (o-ftaldialdehido)	51
3.5.	Datos cinéticos	52
3.6	Espectrometría de masas	53
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	54
4.1.	Caracterización físico química de las muestras de maíz de acuerdo a la norma NMX-FF-034-1995-SCFI y AOAC (1995)	54
4.2.	Análisis por cromatografía de líquidos (HPLC)	61
4.2.1	Curvas de calibración con estándares de fumonisinas (B ₁ y B ₂)	61
4.2.2.	Espectros de masas de estándar de fumonisina B ₁	65
4.2.3.	Contenido de fumonisinas en muestras de maíz mejorado y no mejorado.	69

4.3	Efecto de la radiación UV (<380 nm) en la estabilidad de estándares de fumonisinas (B ₁ y B ₂)	75
4.4.	Efecto de la radiación UV en harina de maíz contaminada en campo con fumonisinas (B ₁ y B ₂)	79
	a) Harina de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%)	80
	b) Harina de maíz con alto contenido de humedad (66-67%)	82
	c) Radiación UV con variación en tiempo y temperatura de exposición de harina de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%)	85
4.5.	Efecto de la radiación gamma en estándares de fumonisinas	92
4.6	Efecto de la radiación gamma en harina de maíz contaminada con fumonisinas (B ₁ y B ₂) en presencia y ausencia de dióxido de titanio	96
4.7	Comparación de los tratamientos realizados	106
V.	CONCLUSIONES	108
5.1	Caracterización física	108
5.2	Caracterización química	108
5.3	Tratamiento con radiación UV y gamma	108
	Bibliografía	110
	Anexo I	134
	Anexo II	139

ÍNDICE DE TABLAS

No Tabla	Titulo	Pág.
1	Datos de las diferentes fumonisinas	16
2	Niveles máximos permitidos de fumonisinas en productos derivados de maíz para consumo humano	23
3	Dosis empleadas en la radiación de alimentos	35
4	Datos meteorológicos registrados durante el cultivo de maíz mejorado (QPM) y no mejorado (otoño-invierno de 1999)	42
5	Condiciones de tratamiento de las muestras de harina de maíz	46
6	Características físicas en maíz mejorado o QPM (NMX-FF-034-1995-SCFI)	55
7	Análisis químico proximal en muestras de maíz mejorado (QPM).	57
8	Características físicas en maíz no mejorado (NO QPM).	59
9	Análisis químico proximal en muestras de maíz no mejorado (NO QPM)	61
10	Precisión con una solución estándar de FB ₁ a 30 µg/mL	64
11	Precisión con una solución estándar de FB ₂ a 1 µg/mL	64
12	Contenido de FB ₁ y FB ₂ en muestras de maíz mejorado orden de contenido de FB ₁	71
13	Contenido de FB ₁ y FB ₂ en muestras de maíz blanco y amarillo no mejorado	72
14	Constantes de reacción ($k \text{ min}^{-1}$) y tiempos de vida media ($t_{1/2} \text{ min}$) para la descomposición de estándares de FB ₁ y FB ₂ con radiación UV ($\lambda < 380 \text{ nm}$) a 25°C	77
15	Velocidad de degradación de FB ₁ y FB ₂ en harina de maíz tratada con radiación ultravioleta a diferentes temperaturas (Tabla 13, muestra 10, maíz amarillo no mejorado)	88
16	Constantes de reacción ($k \text{ min}^{-1}$) y tiempos de vida media ($t_{1/2} \text{ min}$) para la descomposición de FB ₁ en harina de maíz (bajo contenido de humedad) y TiO ₂ al 1% en presencia de radiación UV ($\lambda < 380 \text{ nm}$, Tabla 13, muestra 10, maíz amarillo no mejorado).	88

No Tabla	Título	Pág.
17	Disminución en el contenido de fumonisinas B ₁ y B ₂ después de 120 minutos de tratamiento con luz ultravioleta a 25°C en harinas de maiz con diferente contenido de grasa	92
18	Constantes de reacción (k min ⁻¹) y tiempos de vida media (t ½ min) para la descomposición de estándar de FB ₁ con radiación gamma a una tasa de dosis de 15 KGy (7 horas a 2144 Gy/h)	94
19	Constantes de reacción (k min ⁻¹) y tiempos de vida media (t ½ min) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h) de FB ₁ (con y sin TiO ₂) en harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no mejorado o no QPM)	99
20	Constantes de reacción (k min ⁻¹) y tiempos de vida media (t ½ min) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h) de FB ₂ (con y sin TiO ₂) en harina de maiz (muestra 10, maíz amarillo no mejorado o no QPM)	99
21	Constantes de reacción (k min ⁻¹) y tiempos de vida media (t ½ min) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h).de FB ₁ (con y sin TiO ₂) en harina de maíz (muestra 4, maíz amarillo no mejorado o no QPM)	101
22	Constantes de reacción (k min ⁻¹) y tiempos de vida media (t ½ min) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h).de FB ₂ (con y sin TiO ₂) en harina de maiz (muestra 4, maíz amarillo no mejorado)	101

ÍNDICE DE FIGURAS

No. Figura	Titulo	Pág.
1	Reacción de la fumonisina con fluorescamina	17
2	Reacción de la fumonisina con el o-ftaldialdehído (OPA) y 2-mercaptoetanol	18
3	Formación de una base de Schiff's por medio de la reacción del grupo amino de la FB ₁ en presencia de un azúcar reductor	33
4	Distribución de las muestras de maíz mejorado y no mejorado	45
5	Equipo montado para la radiación ultravioleta de estándares y muestras	47
6	A) Esquema de la fuente Gamabeam 651-PT tipo alberca (Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM). Partes del Gammabeam 651-PT: 1 Barras de isótopo ⁶⁰ Co, 2 Alberca, 3 Consola de control, 4 Laberinto, 5 Cámara de radiación, 6 Laberinto, 7 Cuarto de motores, 8 Extractor, 9 Cuarto de compresores B) Vista superior del irradiador, con algunas dimensiones. C) Posición dentro del irradiador en la que se colocaron las muestras (posición "P" a una distancia de 16.5 cm del suelo)	48
7	Estándar de Fumonisina B ₁ (4 µg/L). Condiciones en cromatógrafo de líquidos: flujo 1 mL/min, tiempos de corrida para FB ₁ son de 6.5 a 6.9 min. Fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1M (77+23, v/v). Detector de fluorescencia con λ excitación de 334 nm y λ emisión de 440 nm	62
8	Estándar de Fumonisina B ₂ (2 µg/L). Condiciones en cromatógrafo de líquidos: flujo 1 mL/min, tiempos de corrida para FB ₂ son de 14.5 a 15.5 min. Fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1M (77+23, v/v). Detector de fluorescencia con λ excitación de 334 nm y λ emisión de 440 nm	62
9	Curva de calibración FB ₁ método OPA (columna C18, 150 x 4.6 mm d.i., de partículas esféricas. Flujo 1 mL/min, Tr FB ₁ 6.5 a 7.5 min, fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1 M (77+23, v/v), pH 3.3. Detector de fluorescencia λ excitación 334 nm y λ emisión 440 nm	63

No. Figura	Título	Pág.
10	Estructuras probables de los fragmentos formados en la ionización del análisis de masas (FAB) de fumonisina B ₁ . (A) fumonisina B ₁ , 722 m/z; (B) dímero de fumonisina B ₁ , 1426 m/z; (C) anhídrido del ácido de uno de los ácidos tricarbálicos de la fumonisina B ₁ , 704 m/z; (D) anhídridos de los ácidos tricarbálicos de la fumonisina B ₁ , 686 m/z; (E) FB ₁ parcialmente hidrolizada (PHFB ₁), 564 m/z; (F) anhídrido del ácido tricarbálico de la PHFB ₁ , 546 m/z	66
11	Fragmentos formados en la ionización del análisis de masas de fumonisina B ₁	67
12	Espectros de masas (a) Alcohol nitrobencílico; (b) Estándar de FB ₁ ; (c) Estándar de FB ₁ (acercamiento a los fragmentos de 390 a 710 m/z)	68
13	Espectro de masas de estándar de FB ₂ , (A) en el cual se observa el ión molecular de la FB ₂ con un m/z de 706 con abundancia del 10 al 15%. Estándar de FB ₂ (B) acercamiento a los fragmentos de 320 a 780 m/z)	69
14	FB ₁ , proteínas y daños por hongos en maíz amarillo QPM	70
15	FB ₁ , proteínas y daños por hongos en maíz blanco QPM	70
16	Fumonisinas (B ₁ y B ₂) en muestra de maíz inoculadas en campo (A y B). Estándar de Fumonisinas (B ₁ + B ₂ , 25+75) a 10 µg/L (C). Condiciones en cromatógrafo de líquidos: flujo 1 mL/min, tiempo de retención FB ₁ = 6.44 min y FB ₂ = 14.01 min. Fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1M (77+23, v/v). Detector de fluorescencia con λ excitación de 334 nm y λ emisión de 440 nm	73
17	Espectro de masas de maíz inoculado en campo con <i>Fusarium</i> en el cual se confirma la presencia de FB ₁ y FB ₂ (A) y espectro de masas de estándares de fumonisinas B ₁ y B ₂ (B, C) en los que se presenta el ión molecular de cada una de ellas m/z de 722 y 706 respectivamente con abundancia superior al 10%	74
Figura vs Tabla, 18	Efecto de la radiación UV (λ < 380 nm) en estándares de FB ₁ y FB ₂ a 25°C (a 3.0 cm de la lámpara UV de inmersión de presión media de mercurio Conrad-Hanovia ACE glass)	75

No. Figura	Titulo	Pág.
Figura vs Tabla, 19	Velocidad de descomposición de estándares de fumonisinas (FB ₁ y FB ₂) expuestas a radiación UV ($\lambda = 380$ nm) a 25 °C	76
20	Linealización de datos en el efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en estándar de FB ₁ a 25°C (a 3.0 cm de la lámpara UV de inmersión de presión media de mercurio Conrad-Hanovia ACE glass)	78
21	Efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en estándar de FB ₂ a 3.0 cm de la lámpara UV de inmersión de presión media de mercurio Conrad-Hanovia ACE glass)	79
Figura vs Tabla, 22	Comportamiento de las muestras de harina de maíz (grupo 2) con bajo contenido de humedad (12-14%) al ser tratadas con radiación UV ($\lambda < 380$ nm)	80
23	Resultados de la cromatografía de líquidos de extractos de harina de maíz suspendida en agua. (a) Control, (b) Después de recibir un tratamiento de radiación ultravioleta sin TiO ₂ durante 240 minutos a 25°C, (c) Después de recibir un tratamiento de radiación ultravioleta con TiO ₂ durante 240 minutos a 25°C.	83
Figura vs Tabla 24	Tratamiento de harina de maíz (Tabla 13, muestra 8, maíz amarillo no QPM, 3.32% grasa) con 66-67% humedad y radiación UV ($\lambda < 380$ nm).	84
Figura vs Tabla 25	Efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en harina de maíz (Tabla 13, muestra 10, maíz amarillo no QPM, 7.02 % grasa) con bajo contenido de humedad (25g harina de maíz en un área de 9.5 x 18.6 cm ² a 3.0 cm de la lámpara UV)	87
Figura vs Tabla, 26	Comportamiento de las fumonisinas B1 y B2 en harina de maíz (muestra 7, Tabla 13, maíz blanco no mejorado, 4.05% grasa) frente a la radiación ultravioleta	91
Figura vs Tabla, 27	Estándar de Fumonisina B ₁ con radiación gamma (2144 Gy/h). Los datos de 2, 8 y 12 KGy no se tomaron en cuenta para la línea de tendencia	93

No. Figura	Título	Pág.
Figura 28	Linealización de los datos en el efecto de radiación gamma en estándar de FB ₁ a una tasa de dosis de 15 KGy (7 horas a 2144 Gy/h)	95
29	Espectro de masas en diferentes regiones de un estándar de FB ₁ irradiado con 15 KGy. (a) Intervalo de 39 a 900 m/z; (b) de 334 a 565 m/z; (c) de 535 a 710 m/z; (d) de 700 a 795 m/z	97
Figura vs Tabla, 30	Comportamiento de las fumonisinas B ₁ y B ₂ en harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no QPM, 7.02 % grasa) al exponerlas a la radiación gamma en presencia y ausencia de dióxido de titanio. Los datos de 6 KGy para FB ₁ y 12 KGy para FB ₂ no se tomaron en cuenta para las líneas de tendencia	98
Figura vs Tabla, 31	Degradación de las fumonisinas presentes en harina de maíz (muestra 4, maíz amarillo no mejorado, 2.62% grasa) al exponerlas a la radiación gamma en presencia y ausencia de dióxido de titanio. Los datos de 3 KGy no se tomaron en cuenta para la línea de tendencia	100
32	Efecto del dióxido de titanio en la degradación de fumonisinas con radiación gamma (9 KGy), sobre harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no QPM, 7.02 % grasa). (a) Cromatograma de un extracto de harina de maíz sin tratamiento; (b) Cromatograma de un extracto de harina de maíz después de recibir tratamiento de radiación gamma sin TiO ₂ ; (c) Cromatograma de un extracto de harina de maíz después de recibir tratamiento de radiación gamma con TiO ₂	103
33	Espectro de masas de un extracto metanol-agua de harina de maíz (a) sin tratamiento de irradiación gamma; (b) tratada con radiación gamma (15 KGy)	104
Figura vs Tabla, 34	Comparación de los efectos obtenidos por la radiación gamma y la radiación ultravioleta sobre las fumonisinas B ₁ y B ₂ en harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no QPM, 7.02 % grasa)	107

ABREVIATURAS

AOAC	Association of Analytical Communities
BS	Base seca
e ⁻	Electrón
E	Energía
e ⁻ _{BC}	Electrón de la banda de conducción (fotogenerados)
erg	Ergio
eV	Electrón-volts
FAB	Fast Atomic Bombardment (Bombardeo Atómico Rápido)
FB ₁	Fumonisina B ₁
FB ₂	Fumonisina B ₂
FB ₃	Fumonisina B ₃
Gy	Gray
h	Constante de Planck (6.63 X 10 ⁻³⁴ J s)
H•	Radicales hidrógeno
h ⁺	Hueco
H ⁺	Iones hidrógeno
h ⁺ _{BV}	Huecos de la banda de valencia (fotogenerados)
HFB ₁	Hidrolizado de la FB ₁
HFB ₂	Hidrolizado de la FB ₂
HO	Iones hidroxilo
HO•	Radicales hidroxilo
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución)
3HP	3-hidroxipiridina

IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
KGy	Kilo gray
M	Molar
m/z	Relación masa/carga
Mev	Mega electrón-volt
min	Minutos
MLG	Modelo lineal general
OPA	O-Ftadialdehido
Ox	Oxidante
PHFB ₁	Hidrolizado parcial de la fumonisina B ₁
PHFB ₂	Hidrolizado parcial de la fumonisina B ₂
Red	Reductor
TCA	Ácido tricarbálico
UV	Ultravioleta
λ	Longitud de onda
ν	Frecuencia

I. INTRODUCCIÓN

a) Antecedentes

En el ámbito mundial el cultivo del maíz se eleva a 134,2 millones de hectáreas, lo que aporta una cosecha de 559,3 millones de toneladas anuales. Los principales productores son Estados Unidos, China, Brasil, Argentina, Sudáfrica y Europa. El maíz se utiliza en un 78% para alimentación animal (piensos, compostas y forrajes), sobre todo para terneros, cerdos y gallinas. Un 2,4% se utiliza como alimento en cereales para desayuno. En forma elaborada como aceite, almidón, edulcorante, alcohol o harina, el maíz también forma parte de una gran variedad de productos alimenticios. Pero también se encuentra en medicamentos como la aspirina y los antibióticos, en productos cosméticos y en jabones, así como en productos industriales como pegamentos, pinturas, insecticidas, disolventes y barnices (DEIA, 2006). A nivel mundial, por la superficie sembrada y producción, el maíz ocupa el tercer lugar después del arroz y del trigo. México se encuentra entre los principales países productores.

En México, el maíz representa más de la mitad del volumen total de alimentos que se consumen en el país, ya que son aproximadamente 14 millones de toneladas las que se emplean para autoconsumo y comercialización para consumo humano. La mayor proporción del mismo (62,7%), se destina al consumo directo y no entra a los canales de comercialización e industrialización; sin embargo, la transformación industrial del grano también es relevante y, en términos generales, se puede clasificar en tres grupos:

- 1) Tortillas, masa y harina nixtamalizada (cerca de 10,5 millones de toneladas de maíz se consume en forma de tortillas), productos que absorben la mayor proporción del maíz industrializado y prioritarios para la alimentación nacional.

- 2) Derivados (almidones, féculas, levaduras, glucosa, dextrinas, etc.) que principalmente se utilizan como insumos en la industria química, farmacéutica, papelera, cervecera y alimenticia.
- 3) Productos preparados como hojuelas para desayuno y frituras de maíz.

De los 31.3 millones de hectáreas disponibles para la producción agrícola en el país, (de las cuales 26.6% es de riego y 73.4% de temporal) cerca de 15 millones de hectáreas se destinan al cultivo de cereales, como maíz, trigo, sorgo y cebada, aproximadamente 2 millones de hectáreas se destina al cultivo de frutas y vegetales.

En el ciclo otoño- invierno 2005/2006 se destinaron 1,13 millones de hectáreas para el cultivo de maíz. El 80% de la producción se recolecta en el primer ciclo (primavera-verano) que en su mayoría es de temporal, y en el ciclo Otoño-Invierno el 80% de los cultivos son irrigados en forma artificial. (Destacan en la producción nacional los estados de Chiapas, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas).

La producción en el ciclo otoño- invierno 2005/2006 fue de 450,122 toneladas de maíz, de 245,113 toneladas de sorgo y de 78,172 toneladas de cebada. En su mayoría el maíz que se produce en México es de la variedad blanca y el de importación es de la variedad amarilla.

El cultivo del maíz (*Zea mays* L.), cereal básico en la alimentación del mexicano, se pone de relieve por el hecho de que su consumo supera en 24 tantos el del arroz, en ocho veces al del frijol y en más del doble a la del trigo, además ocupa el 53% de la superficie destinada a la agricultura y el 50% de la fuerza de trabajo del sector rural (Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera, SIAP, 2006).

La importancia del maíz en la dieta de los mexicanos es evidente; ya que aporta un promedio de 65% de las calorías y 53% de la proteína consumida diariamente, así como calcio (69%), hierro (51%), vitamina A (15%), de tiamina (862%), de riboflavina (36%) y niacina (54%). Nutricionalmente el maíz es similar al resto de los cereales, el contenido de proteína del endospermo del maíz apenas llega a un 9% del peso total, y de esta cantidad sólo alrededor de la mitad es del tipo que puede ser metabolizada por el organismo humano para elaborar la materia prima esencial, debido a las deficiencias en los aminoácidos lisina y triptofano (Colaboradores de Future Harvest, 2000).

Las fumonisinas son producidas por varias especies de hongos principalmente *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (*F. moniliforme*) y *F. proliferatum* (Matsushima) Nirenberg que son contaminantes comunes del maíz y otros cereales de importancia comercial. El *Fusarium verticillioides* coloniza el endospermo del maíz e infecta las células de la planta y permanece en ella sin que se observen síntomas de enfermedad. Los análogos de las fumonisinas que han sido caracterizados desde 1988 han sido clasificados en cuatro grupos e identificados como fumonisinas de las series A, B, C y P que comprenden un total de 32 análogos, pero sólo tres de la serie B se consideran de mayor importancia toxicológica; fumonisina B₁, B₂ y B₃ (FB₁, FB₂ y FB₃ respectivamente). Además, son las más abundantes predominando entre ellas la FB₁ que generalmente se encuentra en mayores niveles. En cultivos de arroz y en medio líquido hechos a escala de laboratorio, se ha observado que la FB₁ representa entre el 70 y 80% del total de las fumonisinas que se producen, la FB₂ representa del 15 al 25% y la FB₃ del 3 al 8%. El resto de los análogos de la serie FB que se han descrito, se han encontrado como contaminantes naturales en cultivos de maíz en niveles menores al 5% del total de las fumonisinas presentes (Rheeder *et al.*, 2002; Bartok *et al.*, 2006).

Además, se consideran de importancia desde el punto de vista económico por los daños que ocasionan al contaminar a los granos y, por las enfermedades que

provocan a los animales cuando éstos consumen cereales contaminados (Sewram *et al.*, 2005). Como es el caso de la leucoencefalomalacia (LEME), en caballos y burros con cantidades de 1-150 $\mu\text{g/g}$ de FB_1 . (Marasas *et al.*, 1988, Riley *et al.*, 1987, Ross *et al.*, 1991). Edema pulmonar (EP) en cerdos se produce con cantidades ≥ 92 ppm o ≥ 16 mg/kg de peso corporal/día (Osweiler *et al.*, 1993; Haschek *et al.*, 2001; Zomborszky-Kovács *et al.*, 2002). Las fumonisinas producen carcinomas hepáticos en ratas, pero no se han observado efectos a dosis menores de 6 $\mu\text{g/g}$. Concentraciones de 25-150 $\mu\text{g/g}$ de fumonisinas en el maíz de dieta de ratas se consideran tóxicos. La FB_1 ha sido asociada estadísticamente con una alta incidencia de cáncer de esófago en humanos en áreas rurales de Sudáfrica, China e Italia (Kellerman *et al.*, 1990; Sydenham *et al.*, 1991; Rheeder *et al.*, 1992; Bartok *et al.*, 2006). Se han detectado fumonisinas en maíz procesado para consumo humano (1 μg FB_1/g) y en maíz para consumo directo (> 100 μg FB_1/g) sobre todo en áreas rurales de Sudáfrica (Shephard *et al.*, 1996; Bartok *et al.*, 2006).

La influencia de la temperatura en la síntesis de fumonisinas juega un papel muy importante, estudios llevados a cabo con *Fusarium verticillioides* revelan que la producción máxima de la toxina ocurre a una temperatura de 20°C, se observó un notable decline en la síntesis a los 25°C, además se observan reducciones progresivas en la concentración de FB_1 a los 10, 15, y 30°C, lo cual concuerda en que la contaminación de maíz por *Fusarium verticillioides* no ocurra extensivamente en climas fríos como en Canadá y el Norte de Europa (Shephard *et al.*, 1996). La producción de fumonisinas por *Fusarium* también depende de la naturaleza del sustrato, el medio ambiente y el nivel de estrés de la planta huésped (Sydenham *et al.*, 1996; Fernández-Surumay *et al.*, 2005).

La mayoría de las especies del género *Fusarium* presentan óptimo crecimiento micelar entre 20-24°C (*Fusarium verticillioides*) o entre 25-30°C (*F. oxysporum*, *F. solani*). Sin embargo, el hecho más importante es que todas estas especies son

capaces de desarrollarse en temperaturas de 12-20°C. Se ha establecido en experiencias realizadas con *F. poae* y *F. tricinctum*, que existe marcada influencia de la temperatura sobre la esporulación, crecimiento micelar y toxicidad (Quiroga, 1990, Sewram *et al.*, 2005).

b) Maíz mejorado

Desde los inicios de 1950 se buscó una fuente natural para mejorar la calidad proteínica del maíz. Finalmente, en 1960, Mertz y colaboradores (Colaboradores de Future Harvest, 2000), encontraron un grupo de mutantes, con apariencia de tizas, pues no eran translúcidos como los granos normales, a los cuales denominaron Opaco 2, cuyo contenido de lisina fue de 3.4% de la proteína del endospermo, un 70% mayor que el maíz normal, en tanto que el contenido de triptofano se duplicó. El gen recesivo normal que en la condición homocigota produce la apariencia opaca, es el que induce a la síntesis de mayores niveles de glutelinas, la fracción proteínica rica en lisina y deprime los niveles de la fracción prolamina o zeína. En la década de los 80s se formó el Opaco-2 modificado o Maíces de Calidad Proteínica (MCP), los cuales han superado las deficiencias del Opaco-2 original, ya que los MCP presentan un endospermo cristalino y rendimientos agronómicos similares o superiores a los híbridos normales (Colaboradores de Future Harvest, 2000).

Para obtener líneas avanzadas lo primero es hacer mejoramiento poblacional cíclico, es decir, evaluar diferentes fuentes de germoplasma, para identificar las plantas con características agronómicas deseables. Estos individuos sobresalientes son utilizados en un proceso de polinización y recombinación. De aquí surgen los ensayos en estructura de familias de medios, hermanos completos o en progenies con los primeros niveles de endogamia, las cuales se evalúan en varias localidades y repeticiones para obtener datos de rendimiento, altura de planta, altura de mazorca, días de floración masculina y femenina, resistencia al acame de raíz y tallo,

tolerancia a insectos y enfermedades, así como a otras características agronómicas y fisiológicas favorables (Narváez-González y Figueroa-Cárdenas, 2006).

En seguida, se seleccionan las mejores progenies y se recombinan entre sí, para formar ciclos de selección, variedades experimentales o variedades sintéticas. Cuando se ha llegado a esta etapa, los fitomejoradores pueden iniciar un programa de desarrollo de líneas y éstas se obtienen a través de varias generaciones de autofecundación y evaluación hasta obtener líneas avanzadas con buen rendimiento y buena estabilidad para varios ambientes. Durante este largo proceso de mejoramiento, se puede generar una gran cantidad de líneas con diferentes atributos y para varios ambientes. Sin embargo, dentro de esta gran cantidad de líneas con buen rendimiento o altos niveles de proteína, seguramente habrá líneas que son resistentes o susceptibles a pudrición de mazorca por *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg u otro patógeno y que en condiciones naturales no sea muy fácil de identificar. Es por ello que se deben de hacer inoculaciones artificiales en campo para tener mayor presión selectiva a esta característica en particular.

1.1.0. Fotoquímica

La fotoquímica trata del estudio del efecto de la energía radiante en las reacciones químicas y de las velocidades y mecanismos de las reacciones iniciadas por la acción de la luz, en las regiones que comprende el espectro visible (400 a 700 nm), el ultravioleta (200 a 400 nm), y el ultravioleta al vacío (50 a 220 nm) (Borrell, 1980). Las reacciones ordinarias o térmicas se inician por la activación de las colisiones moleculares. Es característico de todas estas reacciones, que pueden acontecer sólo cuando hay un incremento de energía libre. En caso contrario, es decir, si hay un descenso de energía libre no es posible que la reacción ocurra. Sin embargo, la agitación térmica no es el único procedimiento por el cual la energía de los átomos y moléculas asciende suficiente para causar la reacción. Los átomos y moléculas pueden absorber la radiación, con la absorción de un cuanto de energía radiante lo

suficientemente grande, puede romperse una molécula. Tal absorción de luz por un átomo o molécula conduce a su excitación; y si la activación es suficientemente grande, puede resultar una reacción química. De esta manera, la luz absorbida afecta la velocidad de reacción química y con frecuencia produce cambios químicos bajo condiciones donde la activación térmica sola no sería efectiva (Maron y Pruton, 1996).

La influencia de la luz sobre los sistemas químicos puede ser diversa. Si los cuantos de luz no son suficientemente energéticos como para producir un efecto profundo, como es la disociación de una molécula, la energía puede simplemente degradarse en energía térmica. Este último efecto puede considerarse ligero en el sentido fotoquímico, ya que puede alcanzarse el mismo resultado elevando la temperatura por cualquier medio. Cualquier efecto de la luz, sea ligero o profundo, sólo puede ser producido por la luz que absorbe el sistema en cuestión.

La luz puede producir diferentes tipos de reacción: síntesis, descomposición, hidrólisis, reducción, oxidación y polimerización. Una molécula absorbe luz de un fotón y toma la energía para formar una molécula excitada. La energía que adquiere una molécula cuando absorbe un fotón en la región visible es del mismo orden de magnitud que la energía requerida para romper los enlaces normales de la molécula. A longitudes de onda menores, en el ultravioleta, resulta posible inyectar más energía a la molécula por cada fotón (Borrell, 1980).

1.2.1. Radiación ultravioleta

Es la radiación electromagnética que tiene longitudes de onda en el intervalo entre 200 a 400 nm. La radiación UV se divide frecuentemente en tres categorías basadas en la longitud de onda, UV-A (λ de 400 a 315 nm), UV-B (λ de 315 a 280 nm) y UV-C (λ de 280 a 15 nm) se usa para esterilizar superficies y matar virus y bacterias. En general a menores longitudes de onda de luz ultravioleta, la radiación es más

peligrosa para los organismos vivos. Prolongadas exposiciones de UV-B causa cáncer de piel (Bassman, 2004; Colaboradores de Wikipedia, 2006; Matena y Katiyar, 2006).

Cuando se expone a la luz ultravioleta algunas sustancias sufren cambios que difieren de los que sufren con la luz visible, por ejemplo, ciertos minerales, vitaminas y aceites naturales así como otros productos producen fluorescencia. Un átomo excitado electrónicamente por irradiación UV, tiene un período de vida de unos 10^{-7} a 10^{-8} segundos. Si el átomo no sufre colisión con otra partícula a la cual puede pasar algo de su energía excesiva, se producirá una reemisión de ésta energía en forma parcial o total, y a este fenómeno se le conoce con el nombre de fluorescencia. En los compuestos las moléculas absorben luz ultravioleta invisible, que se transforma en energía (Borrell, 1980; Maron y Pruton, 1996; Bassman, 2004).

1.2.2. Procesos de oxidación avanzada

Actualmente los procesos de oxidación avanzada (POA) han surgido como un método potencial capaz de transformar los contaminantes o compuestos xenobióticos en sustancias menos peligrosas. Estos métodos se denominan así porque promueven la reacción que lleva al contaminante a la oxidación completa, produciendo CO_2 , H_2O y una pequeña cantidad de ácidos y sales. El término de "oxidación avanzada" se debe a que el mecanismo de oxidación depende de la generación de radicales, como el hidroxilo. Los POA más conocidos son los tratamientos de aguas usando, luz ultravioleta combinada con ozono (UV/ O_3), ozono con peróxido de hidrógeno ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2$), peróxido de hidrógeno con luz ultravioleta ($\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$), la combinación de los tres ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$) y la fotocatalisis, en la cual se usa dióxido de titanio (TiO_2) en combinación con luz ultravioleta y oxígeno molecular (O_2). La aplicación potencial de los POA incluye descontaminación y deodorización (Ollis, 1993, Feng y Le-cheng, 2004; Yu *et al.*, 2007; Saquib *et al.*, 2007; Bahnemann *et al.*, 2007; Brunella *et al.*, 2007).

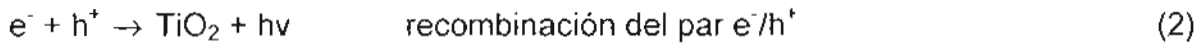
1.2.3. Propiedades fisicoquímicas del TiO₂

El dióxido de titanio, de peso molecular 79.90, existe en tres formas alotrópicas: anatasa, brookita y rutilo. La anatasa es tetragonal, negativa, uniáxica, con $a=b=3.7852$, $c=9.5139$ como parámetros de red; la celda elemental contiene cuatro moléculas de TiO₂ y un volumen de 136.1 Å³. El rutilo es tetragonal, es isómero, pero no isomorfo de la anatasa; positivo monoáxico, $a=b=4.4933$, $c=2.9592$; la celda elemental contiene dos unidades de TiO₂ y un volumen de 62.4 Å³. El dióxido de titanio a temperatura ambiente, es relativamente insoluble en agua, álcalis diluidos y en la mayoría de los ácidos orgánicos, sólo los ácidos sulfúrico y fluorhídrico concentrados y calientes lo disuelven. No se afecta por los gases de la atmósfera. Reacciona con carbono y nitrógeno a elevadas temperaturas y forma carburos, nitruros y carbonitruros. Las formas alotrópicas, rutilo (tetragonal P) y anatasa (tetragonal I) presentan una brecha de banda de magnitud aproximada de 3.0 a 3.2 eV, respectivamente. Ambos son materiales fotoconductores (Wise y Oudar, 1990, Shao *et al.*, 2007; Saini *et al.*, 2007; Joshi y Sharma, 2007; Brunella *et al.*, 2007).

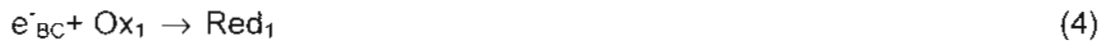
Si se ilumina la superficie del dióxido de titanio con radiación electromagnética $h\nu > E_g$ (3.2 eV), los fotones en el intervalo UV, inducen transiciones electrónicas en el TiO₂. Los electrones en la banda de valencia absorben la energía del fotón, la cual es suficiente para alcanzar el nivel de energía de la banda de conducción; con esto se genera un electrón en la banda de conducción y un hueco en la banda de valencia, lo que se conoce como el par electrón-hueco, e^-/h^+ . Dichas partículas están electrónicamente cargadas y, en la mayoría de los casos emigran a la superficie del dióxido de titanio, si es que no ocurre antes la recombinación entre ellos (Ecuaciones 1 y 2).

La representación de este proceso es:





En la superficie o en la subsuperficie, estas cargas (e^{-} o h^{+}) pueden ocupar estados superficiales o subsuperficie. Las cargas atrapadas pueden a su vez recombinarse o inducir reacciones redox vía transferencia de electrones con donadores (Red_2) y aceptores (Ox_1) de los electrones (Ecuaciones 3 y 4). Así, en fase acuosa, la superficie del dióxido de titanio es ampliamente considerada como una productora de radicales hidroxilo (Pelizzetti *et al.*, 1994, Bahnemann *et al.*, 2007, Saquib *et al.*, 2007)).



El dióxido de titanio es muy estable a temperaturas ordinarias, relativamente insoluble en agua y no se afecta por los gases de la atmósfera (Wise y Oudar, 1990).

1.2.4. Mecanismos de acción de las radiaciones

Los tres mecanismos de interacción de la radiación electromagnética con la materia son efecto fotoeléctrico, efecto Compton y producción de pares.

a) Efecto fotoeléctrico. El fotón interacciona con el absorbente como un paquete de energía que es completamente absorbido. Este efecto tiene lugar cuando se trata de radiaciones electromagnéticas de baja energía. Como resultado de la energía absorbida, un electrón, llamado fotoelectrón, es lanzado fuera del átomo desde una órbita cercana al núcleo con una energía cuyo valor es dado por la ecuación 5:

$$E_{e^{-}} = E_{\gamma} - E_{e.a} \quad (5)$$

Donde:

$E_{e^{-}}$ = Energía del fotoelectrón

$E_{\gamma} =$ Energía del rayo

$E_{e.a.} =$ Energía de amarre del electrón lanzado

La vacante en el orbital es ocupada por otro electrón proveniente de órbitas exteriores, o de niveles superiores de energía, emitiéndose un rayo X con una energía específica igual a la diferencia entre las energías de amarre de los electrones en ambos niveles. Pero, si en vez de los rayos X, esta energía es transferida a otro electrón en una órbita cercana al núcleo con un nivel bajo de energía, éste es lanzado del átomo y se conoce como electrón Auger (Navarrete y Cabrera, 1993).

b) Efecto Compton. Cuando un rayo γ tiene una mayor energía que en el caso del efecto fotoeléctrico, no se absorbe completamente en una sola colisión, la colisión del rayo γ provoca el lanzamiento de un electrón y se desvía su trayectoria para continuarla con menor energía, es decir, mayor longitud de onda y en consecuencia menor frecuencia, con mejor oportunidad de encontrar electrones en su camino a quienes comunicarles su energía (Amusia, 2007). La energía del rayo desviado se obtiene por la relación 6.

$$E_{g_2} = E_{g_1} - E_{e.a.} \quad (6)$$

Donde:

$E_{g_2} =$ Energía del rayo dispersado

$E_{g_1} =$ Energía del rayo incidente

$E_{e.a.} =$ Energía de amarre del electrón lanzado

El rayo puede sufrir varias colisiones, antes de ser absorbido por efecto fotoeléctrico. Si el electrón lanzado pertenece a una órbita cercana al núcleo de bajo

nivel energético, tendrá lugar la emisión de rayos X o electrón Auger, igual que durante el efecto fotoeléctrico.

c) Producción de pares. Cuando la energía del rayo gamma incidente es muy alta, al ser absorbido por la materia se transforma en masa y produce dos partículas beta, una negativa y otra positiva. Como dos masas de electrón son producidas, es necesaria al menos una energía equivalente a ellas ($2 \times 0.51 \text{ MeV} = 1.02 \text{ MeV}$). Si la energía del rayo gamma inicial es mayor que este valor de umbral, el exceso aparecerá como energía cinética del par formado. El negatrón a su vez causa ionización y el positrón existe hasta que interacciona con otro electrón para aniquilar el par, produciéndose ahora dos rayos gamma de 0.51 MeV cada uno, conocidos como radiación de aniquilación, por lo que el proceso de aniquilación puede ser considerado hasta cierto punto como el inverso de la producción de pares.

De este modo, el efecto fotoeléctrico es el predominante en los rayos gamma con energía menor a 60 KeV cuando atraviesan aluminio y menores a 600 KeV si atraviesa plomo. El efecto Compton predomina para rayos gamma de energía entre 60 KeV y 1.5 MeV en aluminio y entre 600 KeV y 5 MeV en plomo. La producción de pares es el principal mecanismo para energías mayores al límite donde se produce principalmente el efecto Compton (Navarrete y Cabrera, 1993).

Las radiaciones ionizantes penetran los materiales alimenticios en un grado que varía de acuerdo con la naturaleza del alimento y las características de las radiaciones, la efectividad de las radiaciones depende también de su capacidad de alterar moléculas y de su potencialidad de ionización, es decir, su capacidad de desprender electrones de los átomos de los materiales que atraviesan. Las partículas beta generalmente tienen mayor capacidad que los rayos gamma para producir ionizaciones en el material que atraviesan (Farkas, 2006; Cutrubinis *et al.*, 2007; Alves *et al.*, 2006).

Cuando las radiaciones ionizantes pasan a través de los alimentos, ocurren choques entre las radiaciones y las partículas de alimento en los niveles molecular y atómico. La producción de pares de iones resulta cuando la energía de estos choques es suficiente como para desalojar un electrón de una órbita atómica. Ocurren cambios moleculares cuando los choques proporcionan suficiente energía para romper los enlaces químicos entre átomos; una consecuencia importante de ello es la formación de radicales libres (Farkas, 2006; Cutrubinis *et al.*, 2007).

Los radicales libres son fragmentos de moléculas, grupos de átomos o átomos individuales, que poseen un electrón no apareado. Las moléculas estables casi siempre poseen un número par de electrones, y una configuración que contiene un electrón no apareado es muy inestable. Los radicales libres, por consiguiente, tienen una gran tendencia a reaccionar entre sí y con otras moléculas para encontrar parejas para sus electrones que no las tienen, y así alcanzar su estabilidad (Farkas, 2006; Cutrubinis *et al.*, 2007; Pimblott y La Verne, 2007).

La formación de pares de iones, los radicales libres, la reacción de los radicales libres con otras moléculas, la recombinación de los radicales libres y otros fenómenos físicos y químicos relacionados, proporcionan los mecanismos por los cuales los microorganismos, las enzimas y los componentes de los alimentos se alteran durante la irradiación (Farkas, 2006; Cutrubinis *et al.*, 2007; Pimblott y La Verne, 2007).

d) Efectos directos. Son los que se deben a contactos directos entre los rayos o las partículas de alta energía y los materiales irradiados. Es indudable que estos choques ocurren realmente, pero la frecuencia con que ocurren en una dosis de radiación dada probablemente no sea suficiente para explicar la mayoría de los efectos en un sustrato determinado.

e) Efectos indirectos. Las radiaciones que chocan con una molécula de un alimento específico producen pares de iones y radicales libres, algo muy parecido sucede cuando las radiaciones de alta energía pasan a través del agua. Las moléculas del agua se alteran, produciendo radicales hidrógeno e hidroxilo, muy reactivos. Estos radicales pueden reaccionar entre sí, con el oxígeno disuelto en el agua y con una amplísima variedad de moléculas, iones orgánicos e inorgánicos que pueden estar disueltos o suspendidos en el agua, así, dos radicales hidroxilo al combinarse forman el peróxido de hidrógeno (Ecuación 7, Farkas, 2006; Cutrubinis *et al.*, 2007; Pimblott y La Verne, 2007).



Dos radicales de hidrógeno producen el gas hidrógeno (Ecuación 8).



Un radical de hidrogeno, mas oxigeno disuelto, dan un radical de peróxido (Ecuación 9).



Dos radicales de peróxido producen peróxido de hidrogeno mas oxigeno (Ecuación 10).



El peróxido de hidrogeno es un fuerte agente oxidante y un veneno biológico. Los radicales hidroxilos e hidrógenos son fuertes agentes oxidantes y reductores,

respectivamente. También pueden tomar parte en reacciones con materiales orgánicos y alterar la estructura molecular.

Puesto que las células vivas y los materiales alimenticios están compuestos en gran parte por agua, la actividad que la radiación comunica a este disolvente constituye un factor muy importante que contribuye al carácter letal o a los cambios subletales en las células vivas y a los componentes de los alimentos. Es probable que un sustrato que recibe radiaciones ionizantes experimente hasta cierto punto los efectos directos antes mencionados; y es seguro que experimenta cuando menos los efectos indirectos (Farkas, 2006; Cutrubinis *et al.*, 2007; Pimblott y La Verne, 2007).

1.3.0. Características generales de las fumonisinas

Las fusariotoxinas, son metabolitos secundarios que producen ciertas especies del género *fusarium*. Las fusariotoxinas más detectadas son los tricotecenos (dioxinivalenol, DON), nivalenol (NIV), T-2 y HT-2, zeralenona (ZEA), y fumonisinas B (FB) (Cavret y Lecoœur, 2006). Las fumonisinas son químicamente diésteres del ácido tricarbálico y polialcoholes, su estructura hidrocarbonada posee 20 carbonos, 2 grupos del ácido tricarbálico (TCA) esterificados en el C14 y C15 y un grupo amino en el carbón 2. De los cuales los carbonos 3 – 20 son derivados del acetato por un mecanismo de biosíntesis de policétidos. El C-1 y C-2 y el grupo amino sobre el C-2 son derivados de la alanina (Blackwell *et al.*, 1996; Branham y Plattner, 1993), los grupos metilos en el C-12 y C-16 derivan de la metionina (Plattner y Shackelford, 1992), los ácidos tricarbálicos en C-14 y C-15 hidroxilados derivan del ciclo del ácido cítrico (Blackwell *et al.*, 1996). Los compuestos difieren unos de otro por la presencia o ausencia de grupos hidroxilo en el C5 y C10 (Tabla 1). No poseen ningún grupo cromóforo y por lo tanto no absorben en el espectro de UV ó visible, no fluorescen por sí mismas y en su identificación (Figura 1) es necesario hacer un derivado fluorescente (Bezuidenhout *et al.*, 1988; Wilkes *et al.*, 1995; Bojja *et al.*, 2004; Proctor *et al.*, 2006; Samapundo *et al.*, 2006).

Las fumonisinas de la serie A (FA) son N acetil análogos de la serie B (FB) y tienen poca o nula actividad biológica (Gelderblom *et al.*, 1988). Las fumonisinas de la serie P (FP) y C (FC) difieren de las fumonisinas de la serie B (FB) en que los análogos de las fumonisinas de la serie P tienen un grupo funcional 3-hidroxipiridinio en lugar del grupo amino en el C-2 (Musser *et al.*, 1996) y los análogos de las fumonisinas de la serie C (FC) tienen un grupo metilo terminal en el C-1 (Bartók *et al.*, 2006).

Tabla 1. Datos de las diferentes Fumonisininas (Sydenham *et al.*, 1996; Yescas, 2001; Poling y Plattner, 1999; Sewram *et al.*, 2005; Proctor *et al.*, 2006; Bartók *et al.*, 2006).

Fumonisinina	R1	R2	R3	R4	R5	R6	PM
F A ₁	TCA	TCA	OH	OH	NHCOCH ₃	CH ₃	763
F A ₂	TCA	TCA	H	OH	NHCOCH ₃	CH ₃	747
F A ₃	TCA	TCA	OH	H	NHCOCH ₃	CH ₃	747
F AK ₁	=O	TCA	OH	OH	NHCOCH ₃	CH ₃	603
F B ₁	TCA	TCA	OH	OH	NH ₂	CH ₃	722
F B ₂	TCA	TCA	H	OH	NH ₂	CH ₃	706
F B ₃	TCA	TCA	OH	H	NH ₂	CH ₃	705
F B ₄	TCA	TCA	H	H	NH ₂	CH ₃	689
F C ₁	TCA	TCA	OH	OH	NH ₂	H	70
F P ₁	TCA	TCA	OH	OH	3HP	CH ₃	800
F P ₂	TCA	TCA	H	OH	3HP	CH ₃	784
F P ₃	TCA	TCA	OH	H	3HP	CH ₃	784
PHFB1a	TCA	OH	OH	OH	NH ₂	CH ₃	563
PHFB1b	OH	TCA	OH	OH	NH ₂	CH ₃	563

Los sinónimos con los cuales se conoce a algunas de ellas son los siguientes:

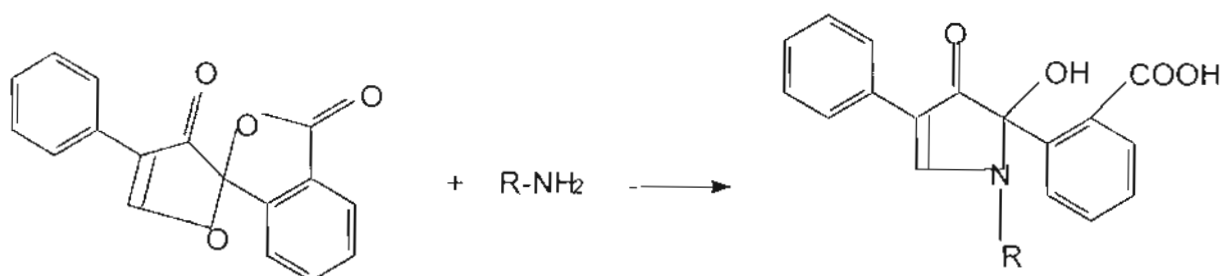
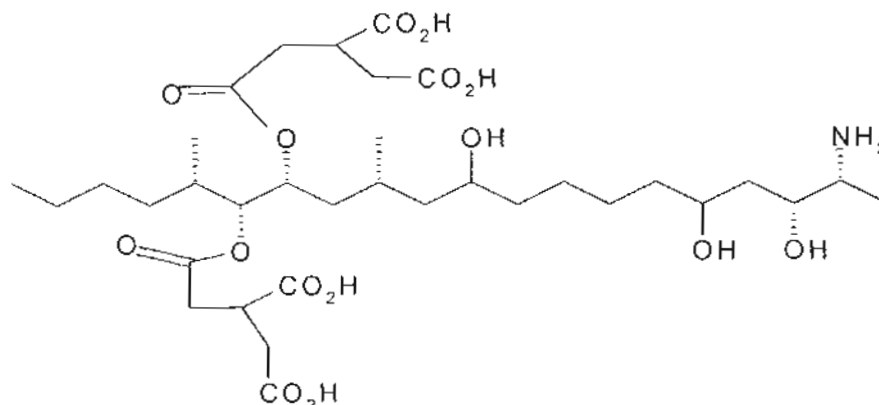
FB₁: ácido 1,2,3-propanotricarboxílico, 1,1'-(1-(12-amino-4,9,11-trihidroxi-2-metiltridecil)-2-(1-metilpentil)-1,2,-etanodiyl) éster (9CI).

FB₂: ácido 1,2,3-propanotricarboxílico, 1,1'-(1-(12-amino-9,11-dihidroxi-2-metiltridecil)-2-(1-metilpentil)-1,2,-etanodiyl) éster (9CI).

FA₁: ácido 1,2,3-propanotricarboxílico, 1,1'-(1-(12-(acetilamino)-4,9,11-trihidroxi-2-metiltridecil)-2-(1-metilpentil)-1,2,-etanodiyl) éster (9CI).

FA₂: ácido 1,2,3-propanotricarboxílico, 1,1'-(1-(12-(acetilamino)-9,11-dihidroxi-2-metiltridecil)-2-(1-metilpentil)-1,2,-etanodiyl) éster (9Cl).

FB₁ (R-NH₂)



Fluorescamina

Fig. 1. Reacción de la fumonisina con fluorescamina (Bezuidenhout *et al.*, 1988; Wilkes *et al.*, 1995; Samapundo *et al.*, 2006).

Los dialdehídos aromáticos homólogos, *o*-pftaldialdehído (OPA) y naftaleno-2,3-dicarboxialdehído (NDA), son esencialmente no fluorescentes hasta que reaccionan con una amina primaria en presencia de un exceso de cianatos o tioles, tales como el 2-mercaptoetanol y ácido 3-mercaptopropiónico (Fig. 2).

OPA

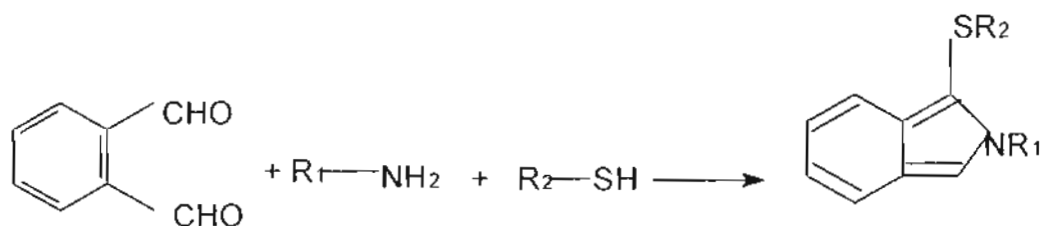


Fig. 2: Reacción de la fumonisina con el o-ftaldialdehido (OPA) y 2-mercaptoetanol (Bezuidenhout *et al.*, 1988; Wilkes *et al.*, 1995; Samapundo *et al.*, 2006).

A pH básico, la metilamina reacciona con el o-ftaldialdehido (OPA) y el nucleófilo tiofluor ó 2-mercaptoetanol, para formar un derivado altamente fluorescente (1-metil-2-alkultioisoindol). El derivado fluorescente puede ser detectado a concentraciones bajas si se utiliza una longitud de onda de excitación de aproximadamente 330 nm y de 450 nm para la emisión.

Las cadenas del ATC pueden ser removidas por hidrólisis alcalina. Son de estructura química muy similar a las esfingosinas. Con lo cual las fumonisinas pueden interferir con el metabolismo de los esfingolípidos los cuales son críticos en la estructura de membranas y lipoproteínas y en la regulación celular. Usualmente la cantidad de esfingolípidos en las células es regulada por la N-acyltransferasa. Pero la inhibición de las fumonisinas de la ceramida sintasa bloquea la biosíntesis del complejo de esfingolípidos y se genera esfingonina (Sa) y algunas veces esfingosina (So) que se acumulan en las células, teniendo efectos tóxicos (Merrill *et al.*, 1993, 2001, Desai *et al.*, 2002). Las esfingosinas son el precursor químico de todos los esfingolípidos, incluyendo esfingomielinas, ceramidas y gangliósidos (Merrill *et al.*, 1993; Osweiler *et al.*, 1993; Shephard, 1998; Zaleta-Rivera *et al.*, 2006). Por lo que respecta a los gangliósidos, juegan un papel importante en algunas funciones celulares como crecimiento, diferenciación celular, transmisión de impulsos nerviosos y otras actividades. Esta alteración puede ser responsable de varias enfermedades fatales en los animales, tal es el caso de la leucoencefalomalacia equina (LEME) y edema pulmonar (EP) en cerdos, y la asociación epidemiológica de las fumonisinas

con el cáncer de esófago y defectos en el tubo neural en humanos (Zaleta-Rivera *et al.*, 2006; Collins *et al.*, 2006; Cavret y Lecoeur, 2006).

1.3.1. Incidencia de fumonisinas en alimentos destinados al consumo animal y humano

A nivel mundial se ha hecho mención sobre la distribución de la contaminación de fumonisinas, encontrándose tanto en productos agrícolas (maíz, trigo, cebada, y sorgo) como en productos procesados para consumo animal y humano, principalmente en aquellos derivados del maíz. En general, se han detectado mayores niveles de fumonisinas en productos agrícolas y alimentos para consumo animal que en productos procesados para consumo humano. La contaminación de fumonisinas en productos agrícolas refleja la incidencia de la infección por *Fusarium verticillioides* en las temporadas de prerrecolección, recolección y almacenamiento, las cuales son influenciadas por diversos factores ambientales como temperatura, humedad, temporadas de lluvia y daño por insectos (Shephard *et al.*, 1996; Cavret y Lecoeur, 2006; Collins *et al.*, 2006).

Las fumonisinas han sido detectadas en una gran variedad de alimentos para consumo humano; como el arroz en Argentina, China (Bolger *et al.*, 2001), Korea (Kim *et al.*, 1998) y los Estados Unidos de Norte América (Abbas *et al.*, 1998, 2002), sorgo en Botswana (Siame *et al.*, 1998), Brasil (Da Silva *et al.*, 2000) y la India (Bhat *et al.*, 1997), espárragos en China (Liu *et al.*, 2005), Alemania (Seefelder *et al.*, 2002), e Italia (Logrieco *et al.*, 1998). También se ha reportado la presencia de estas micotoxinas en Portugal (Martins *et al.*, 2001) y en Turquía (Omurtag *et al.*, 2004) en té negro y en plantas medicinales. Además, se tienen reportes esporádicos de la presencia natural de fumonisinas en trigo y sus derivados. Tal es el caso de alimentos de origen étnico en el Reino Unido (Patel *et al.*, 1996; Patel *et al.*, 1997; Castella *et al.*, 1999; Molinie *et al.*, 2005; Shephard *et al.*, 2005b)

En estudios, realizados en España (Castellá *et al.*, 1999), se ha visto que en el maíz se presentan mayores niveles de fumonisinas (4.8 µg/g, de FB₁ y 1.9 µg/g, de FB₂) que en otros productos agrícolas como trigo (2.9 µg/g, de FB₁ y 0.2 µg/g, de FB₂) y cebada (1.9 µg/g, de FB₁ y 0.5 µg/g, de FB₂). De modo similar, en muestras de maíz y sorgo de la India (Prathapkumar y Bhat, 1997) se encontró una mayor concentración de FB₁ en maíz (4.74 µg/g) que en sorgo (0.51 µg/g).

La presencia de fumonisinas en cerveza clara comercial fue reportada por Scott y Lawrence (1995), los cuales encontraron en un estudio realizado en Canadá que en 41 muestras locales e importadas de cerveza los niveles de fumonisina eran mayores a 2 ng FB₁/mL (7.8 a 59 ng de FB₁/mL). En un estudio reciente realizado en Sudáfrica en muestras de cerveza (Shephard *et al.*, 2005a) se reportaron niveles de fumonisinas totales (FB₁ +FB₂ + FB₃) de 43 a 1329 ng/mL con una media de 369 ± 345 ng/mL. Encontrándose en mayor proporción la FB₁ (76%) con un intervalo del 65 al 84% del total. Comparado con el estudio realizado en Canadá se observa una gran diferencia en cuanto a los niveles encontrados sin embargo, hay que considerar que la cerveza que se prepara en Sudáfrica es a partir de maíz y que en Canadá el maíz únicamente se ocupa como adjunto en la preparación de la cerveza.

Es importante considerar la frecuencia de consumo y la forma de elaboración de esta bebida para estimar el riesgo al que se está expuesto, considerando el nivel máximo provisional en la ingesta diaria tolerable (PMTDI, por sus siglas en Inglés provisional maximum tolerable daily intake) para FB₁, FB₂ y FB₃ solas o combinadas, de 2 µg/Kg de peso corporal/día marcados por la FAO/WHO y el Comité de expertos de aditivos alimentarios de la Comisión Europea (Shephard *et al.*, 2005a).

Por otra parte, los reportes de incidencia de fumonisinas en Centro y Sudamérica, como en México son escasos, a pesar de que en la mayoría de los países latinoamericanos el maíz es uno de los productos básicos en la dieta de los individuos. En México y América Latina, el consumo anual de tortillas es de 186 kg

en promedio 500 g/día. En las áreas rurales, se estima que la tortilla aporta el 70% de la ingesta diaria calórica. Un estudio con muestras de mazorcas de maíz blanco, recolectadas en el estado de Nuevo León, reporta el aislamiento de 34 cepas de *Fusarium verticillioides*, las cuales son capaces de producir altas cantidades de fumonisinas en cultivos de maíz, en un intervalo de 10 a 5,810 µg/g, lo que implica el enorme potencial que se tiene de una contaminación por estas toxinas principalmente en cosechas de maíz (Desjardins *et al.*, 1994; De la Campa *et al.*, 2004).

Otro aspecto interesante es la incidencia de fumonisinas en el maíz destinado a exportación, ya que hay variaciones de acuerdo al productor; se han reportado en general niveles promedio menores a 0.3 µg/g de FB₁ en el maíz que fue exportado por Argentina, China y Sudáfrica. Mientras que los niveles más altos fueron en las exportaciones hechas por los Estados Unidos de Norteamérica a Sudáfrica (2.35 µg/g de FB₁) y Japón (2.22 µg/g de FB₁), alcanzándose el máximo nivel en el maíz importado (3.35 µg/g de FB₁) a Holanda de Francia, Alemania y Bélgica en su mayoría (De Nijs *et al.*, 1998, Shephard *et al.*, 1996).

Como ya se ha mencionado los alimentos derivados del maíz para consumo humano presentan la menor contaminación de fumonisinas, siendo esto debido a los procesos a los que es sometido el maíz (Shephard *et al.*, 1996). Dentro de estos alimentos, los niveles más altos de fumonisinas se detectan en productos como fécula de maíz, harina de maíz, maíz fragmentado, sémola de maíz y polenta, en los cuales el maíz ha sido sólo sometido a molienda en seco. En cambio los alimentos que han sufrido un proceso adicional, como extrusión (copos de maíz), horneado (pan y panques de maíz), cocción (alimentos para bebés), nixtamalización (masa y tortillas) o que han sido freídos (totopos y tostadas de maíz) o enlatados (maíz dulce), presentan niveles menores de fumonisinas y cuyas concentraciones con frecuencia no superan 1 µg/g de FB₁ (Sydenham *et al.*, 1991; Pittet *et al.*, 1992;

Hopmans y Murphy, 1993; Rumbelha y Oehme, 1997; Tseng y Liu, 1997; Castelo *et al.*, 1998).

Estudios en los cuales se han analizado alimentos sometidos a nixtamalización, han mostrado que la mayor parte de la FB₁ está en forma hidrolizada HFB₁ (Stack, 1998). Por otra parte, además de encontrarse fumonisinas en productos derivados de maíz, también se ha reportado la incidencia de estas toxinas en leche, en donde los niveles de FB₁ son muy bajos (1.3 ng/mL). Otro producto en el cual se han detectado niveles bajos de fumonisinas es la cerveza (3 a 36 ng/mL), la cual emplea en algunas ocasiones granos de maíz para su elaboración (Torres *et al.*, 1998; Shephard *et al.*, 2005a).

1.3.2. Regulación de los niveles de fumonisinas en alimentos para consumo humano

Las regulaciones de la FDA (Colaboradores FDA/CFSAN, 2001) son publicadas anualmente por la Oficina de Imprenta del Gobierno de los Estados Unidos de Norte América (Government Printing Office, USA), en el Título 21, del Código de Controles Federales (CCF). Las micotoxinas son reguladas en la sección 402 (a) (1) de la FD&C, y ya se encuentran incluidas las fumonisinas (Miller *et al.*, 1996; Sinha y Bhatnagar, 1998). Con base en la evidencia toxicológica, la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer declaró a las toxinas de *Fusarium verticillioides* como potencialmente carcinógenas a humanos y las clasificó como clase 2B (Sydenham *et al.*, 1996; IARC, 2002).

Idealmente, los niveles permitidos de fumonisinas en alimentos para consumo deberían proteger tanto la salud animal como la humana. Desafortunadamente estos niveles no permiten definir la exposición de niveles residuales de fumonisinas en alimentos derivados de animales. La cantidad residual de fumonisinas en tejido

animal usualmente sólo está presente en hígado y riñón, siendo el consumo humano de éstos tejidos mucho menor que el consumo de tejido muscular (Miller *et al.*, 1996).

La FDA establece niveles máximos permitidos de fumonisinas en maíz y sus derivados para consumo humano de 2 a 4 ppm y para alimentos para consumo animal de 5 hasta 100 ppm dependiendo de las especies y de la proporción de material contaminado (Colaboradores FDA/CFSAN, 2001) en el total de la dieta (Tabla 2). Asimismo, el comité de expertos de aditivos en alimentos de la FAO/WHO y el comité científico en alimentos de la Comisión Europea han asignado un máximo provisional en la ingesta diaria tolerable (PMTDI, por sus siglas en Inglés provisional maximum tolerable daily intake) para FB₁, FB₂ y FB₃ solas o combinadas, de 2 µg/Kg de peso corporal/día (Shephard *et al.*, 2005a).

Tabla 2. Niveles máximos permitidos de fumonisinas en productos derivados de maíz para consumo humano (Colaboradores FDA/CFSAN, 2001; IARC, 2002).

Producto	Fumonisinas totales (FB ₁ + FB ₂ + FB ₃ en µg/g)	Aflatoxinas totales (AFB ₁ + AFB ₂ + AFG ₁ + AFG ₂ en µg/g)
Productos de maíz molido sin germen (maíz fragmentado, fécula de maíz, harina de maíz con un contenido de grasa menor al 2.25% con base en peso seco)	2.0	0.02 (para todos los productos excepto leche)
Productos de maíz molido con germen o parcialmente degerminado (maíz fragmentado, fécula de maíz y harina de maíz con un contenido de grasa mayor a 2.25% con base en peso seco)	4.0	0.02 (para todos los productos excepto leche)
Salvado de maíz molido	4.0	0.02 (para todos los productos excepto leche)
Maíz destinado para la producción de masa	4.0	0.02 (para todos los productos excepto leche)
Maíz destinado para la producción de palomitas	3.0	0.02 (para todos los productos excepto leche)

Los estudios sobre el metabolismo de las fumonisinas reportan que las cantidades residuales de estas toxinas en tejido animal son bajas. Por ejemplo, cuando se administró una dosis oral de 5 mg de FB₁/kg de peso corporal a vacas, no se detectaron niveles de fumonisinas en la leche producida por éstas. En otro estudio en el cual se analizaron 155 muestras de leche sin pasteurizar ni homogeneizar, solamente una contenía niveles detectables de FB₁ cuya concentración fue de 0.001 µg/g. En el mismo estudio 10 muestras de leche homogeneizada contenían menos de 0.005 µg/g de FB₁. Estos estudios sugieren que los niveles de fumonisinas en leche son muy bajos (Miller *et al.*, 1996).

En un estudio sobre el metabolismo de ¹⁴C-FB₁ en gallinas se demostró que una dosis de 2 mg/kg de peso corporal no produjo niveles residuales de la toxina en sangre, esófago, molleja, pulmón, bazo, corazón, cerebro, tejido muscular y ovarios. Solamente se detectaron niveles traza en hígado, buche, intestino delgado y riñón. No hubo cantidades residuales de FB₁ en huevos puestos por estas gallinas después de 24 horas de haber administrado la dosis. En relación con estos estudios se cree que los niveles residuales de fumonisinas en productos derivados de animales son bajos y no representan un problema de salud pública por lo que el mayor riesgo proviene del consumo directo de productos de maíz (Miller *et al.*, 1996).

1.3.3. Efecto en la promoción de cáncer

En los primeros estudios realizados por Gelderblom *et al.* (1992) que reportan el aislamiento de las fumonisinas, se probó la actividad promotora de cáncer hepático en ratas de las distintas fracciones del cultivo de la cepa MRC 826 de *Fusarium verticillioides*. La actividad de promoción de cáncer de la FB₁ fue asociada con la pérdida de peso en las ratas y el incremento de gamma-glutamil-transpeptidasa-positiva (GGT⁺) que es un marcador de lesiones hepáticas preneoplásicas durante la carcinogénesis ocasionada por compuestos químicos. El consumo de maíz contaminado con cepas de *Fusarium verticillioides* productoras de fumonisinas se

han asociado con altos índices de cáncer de esófago en ciertas partes del mundo, particularmente en Transkei, Sudáfrica, el noroeste de Italia y en las provincias de Honan, Hebei y Shanxi al norte de China (Bullerman, 1998).

El cáncer de esófago en humanos tiene una incidencia mundial muy variada, en China se han reportado tasas de mortalidad de hasta 436 por 100,000 varones y 22.5 por 100,000 mujeres en la provincia de Honan, mientras que en la provincia de Yunan fueron de sólo 1.4/100,000 y 0.7/100,000 hombres y mujeres respectivamente. Además, en Sudáfrica la incidencia de varones negros de 35 a 64 años de edad es de 246 por 100,000 con respecto a una tasa de sólo 3 por 100,000 en África occidental. En los Estados Unidos el carcinoma de esófago es un proceso maligno poco frecuente que representa sólo el 1% de los carcinomas. En Asia hay un cinturón de cáncer de esófago definido, que se extiende desde el norte de Irán y el mar Caspio a través de Asia central hasta Mongolia y el norte de China. Otros países donde hay alta incidencia son Francia, Suiza, Finlandia, Islandia y Puerto Rico. En cambio, se observan tasas bajas de incidencia en Inglaterra, Escandinavia y Australia (Cameron, 1995).

Sydenham *et al.*, (1990) reportaron la relación entre la presencia de *Fusarium verticillioides* y la producción de fumonisinas en muestras de maíz sano y visiblemente enmohecido en regiones de baja (Bizana) y alta (Kantani) incidencia de cáncer esofágico en Transkei, Sudáfrica. Se encontró que en la región de alta incidencia de éste tipo de cáncer hubo mayores niveles de FB₁ y FB₂ en el maíz contaminado por *Fusarium verticillioides* (46.9 y 18.9 µg/g respectivamente) que en el maíz sano (7.9 y 2.25 µg/g, respectivamente), en comparación en la región de baja incidencia (maíz sano, 0.55 µg/g de FB₁ y 0.15 µg/g de FB₂; maíz enmohecido, 18.9 µg/g de FB₁ y 6.75 de FB₂).

En un estudio posterior, Yoshizawa *et al.* (1994) de modo similar compararon la incidencia de las fumonisinas en muestras de maíz del condado de Linxian, área de

alta incidencia de cáncer de esófago, con muestras del condado de Shanggiu, área de baja incidencia de cáncer de esófago en China. Los niveles máximos de fumonisinas en el condado de Linxian fueron de 2.96 ng/g de FB₁ y de 550 ng/g de FB₂, mientras que en el condado de Shanggiu fueron de 1.73 ng/g de FB₁ y de 447 ng/g de FB₂. La incidencia de las fumonisinas fue también mayor en el área de alta incidencia.

También se ha estudiado la presencia de FB₁ y otras micotoxinas (aflatoxinas y tricotecenos totales) en forma simultánea en maíz recolectado de regiones donde hay altos índices de cáncer de esófago (Chu y Li, 1994), así como también si la FB₁ y las nitrosaminas podrían ser producidas simultáneamente por *Fusarium verticillioides*, cuando crece en presencia de nitrito de sodio (5.8 mM) y aminos primarias como isobutilamina y benzilamina (1.7 mM).

Otros estudios han demostrado que la FB₂ y FB₃ poseen capacidad de promover cáncer similar a la que presenta la FB₁. Se han observado casos aislados de LEME en Argentina, Brasil, China, Egipto, Sudáfrica y Estados Unidos de Norte América (Plattner *et al.*, 1991; Sydenham *et al.*, 1992, Osweiler, *et al.*, 1993; Sydenham *et al.*, 1996; Lemke *et al.*, 2001).

1.3.4. Métodos de análisis

Entre los métodos empleados para la detección y cuantificación de las fumonisinas se encuentran la cromatografía de gases, cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), cromatografía en capa fina, espectrometría de masas, así como métodos enzimáticos como la prueba de ELISA (Shephard y Westhuizen, 1998). Los pasos básicos involucrados en la cuantificación de las fumonisinas son: muestreo, preparación de la muestra, filtración, purificación, concentración, separación, detección, cuantificación y confirmación.

a) Cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés High Performance Liquid Chromatography). El análisis de fumonisinas por HPLC es el método de elección por las características de polaridad de la molécula y la posibilidad de formar un derivado fluorescente confiriéndole así una alta sensibilidad al método. Debido a que las fumonisinas no absorben radiación ultravioleta y carecen de fluorescencia natural, es necesario hacer una derivatización, es decir, una modificación química covalente en algún grupo funcional, en el caso de las fumonisinas se aprovecha la reactividad del grupo amino (Yescas, 2001).

El primer método para cuantificar fumonisinas por HPLC implica la formación de derivados maleil, pero tenía un límite de detección de 10 ppm, inadecuado para muestras de maíz contaminados de forma natural. La sensibilidad fue mejorada por la formación de derivados con fluorescamina, pero resultó en la formación de dos productos lo cual fue negativo. La preparación de derivados con o-ftadialdehído (OPA) en presencia de 2-mercaptoetanol y buffer de boratos en pH 9 a 10, ha sido empleada en muchos laboratorios como método de elección para el análisis cuantitativo de fumonisinas en maíz. La AOAC junto con la IUPAC colaboraron en un estudio para estandarizar la cuantificación de fumonisinas en el que emplearon el reactivo OPA en presencia de 2-mercaptoetanol, buffer de boratos y una fase móvil de metanol fosfato de sodio monobásico (0.1 M, 77:23), teniéndose límites de detección de 0.05-0.15 ppm. Los derivados formados con OPA son estables por un periodo de 4 minutos, después de la preparación, y disminuye la respuesta fluorescente después de 8 minutos (Thakur y Smith, 1996; Sydenham *et al.*, 1996; Rohan *et al.*, 1996; Abbas *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004; Samapundo *et al.*, 2006; Zöllner *et al.*, 2006).

b) Espectrometría de masas. La espectrometría de masas es básicamente una técnica que permite determinar la masa de una molécula (peso molecular), además, a menudo proporciona valiosa información estructural a cerca de compuestos desconocidos si se mide la masa de los fragmentos que se producen cuando se

rompen moléculas de alta energía (McMurry, 1994). Un espectrómetro de masas bombardea la sustancia bajo investigación con un haz de electrones o átomos y registra el resultado a modo de un espectro de fragmentos de iones. Para ello es necesario ionizar las moléculas y obtener los iones formados en fase gaseosa. Este proceso tiene lugar en la fuente de ionización y actualmente, existen diferentes técnicas que permiten llevarlo a cabo como Impacto Electrónico (EI), Bombardeo con átomos rápidos (FAB), Ionización Química a Presión Atmosférica (APCI), Desorción/Ionización por Láser Asistida por Matriz (MALDI) ó Electrospray (ESI). Los iones generados son acelerados hacia un analizador y separados en función de su relación masa/carga (m/z) mediante la aplicación de campos eléctricos, magnéticos ó simplemente determinando el tiempo de llegada a un detector. Los iones que llegan al detector producen una señal eléctrica que es procesada, ampliada y enviada a un ordenador. El registro obtenido se denomina Espectro de masas y representa las abundancias iónicas obtenidas en función de la relación masa/carga de los iones detectados (Silverstein y Bassler, 1980; Paepens *et al.*, 2005; Bartók *et al.*, 2006; Zöllner *et al.*, 2006).

El fenómeno más sencillo que se presenta es la remoción de un electrón simple de la molécula para formar un ión molecular padre (M^+), además, imparte a estos iones moleculares un excedente de energía, el necesario como para romper los enlaces covalentes que hacen que la mayoría se fragmenten (Solomons, 1988).

El espectro de masas es una representación de las masas de los fragmentos cargados positivamente (incluyendo el ión padre) en función de su concentración relativa. El pico más intenso del espectro, denominado pico base, tiene asignado un valor de 100 % y las intensidades (altura x factor de sensibilidad) de los otros picos, incluyendo el pico padre, se indican como porcentajes de pico base. Evidentemente, el pico del ión molecular o el pico padre pueden constituir ocasionalmente el pico base (Solomons, 1988).

1.3.5. Métodos empleados en la reducción de fumonisinas

Se han investigado un gran número de procedimientos para la descontaminación de fumonisinas presentes en alimentos, éstos se pueden dividir principalmente en métodos biológicos, físicos y químicos (Placinta *et al.*, 1999; Bacon y Williamson, 1992; Visconti, 1996; Pascale *et al.*, 1997).

1.3.6. Métodos biológicos

a) En la precosecha

Las líneas de maíz híbrido y no híbrido muestran una variación en la susceptibilidad por la presencia de fumonisinas producidas por *F. moniliforme* debido a la influencia de las condiciones ambientales, como temperatura, humedad y daño por insectos, en un área específica, lo que plantea la posibilidad de elegir variedades de maíz que presenten una mayor resistencia a la infección por *F. moniliforme* y como consecuencia presenten un bajo contenido de fumonisinas (Bacon y Williamson, 1992; Visconti, 1996; Pascale *et al.*, 1997). Un ejemplo de ello es el efecto que tuvo la inserción del gen cry 1 A de *Bacillus thuringensis* en el genoma de los híbridos de maíz, obteniéndose una disminución del nivel de FB₁ en el híbrido modificado genéticamente (1.97 µg/g) con respecto al híbrido no modificado (20.05 µg/g), además también hay una reducción de la biomasa fúngica, la cual se ve reflejada en la cantidad de ergosterol presente en el híbrido modificado, 10µg/g, con respecto al híbrido sin modificar, 35 µg/g (Masaero *et al.*, 1999).

b) En la post-cosecha

Por otra parte, algunos microorganismos pueden biodegradar un gran número de moléculas orgánicas, incluyendo micotoxinas. Duvick *et al.*, (1998) han identificado dos clases de microorganismos que son capaces de metabolizar una porción de la

cadena hidrocarbonada de las fumonisinas como única fuente de carbono, produciendo CO₂. Dentro de la primera clase se encuentran dos levaduras, *Exophiala spinifera* y *Rhinoctadiella atrovirens*, las cuales se aíslan con frecuencia de semillas de maíz en áreas subtropicales y tropicales. La segunda clase la componen bacterias gram negativas del género *Xanthomonas*, aisladas del tallo de plantas de maíz. Cabe señalar que otras especies de ambas clases de microorganismos, así como cepas aisladas de otros hospederos, no son capaces de metabolizar las fumonisinas.

1.3.7. Métodos físicos y químicos

Dentro de los métodos físicos, el tamizado de partículas finas se ha visto que puede reducir el contenido de fumonisinas en un intervalo del 26 al 69%. El almidón obtenido por el proceso de molienda en húmedo de maíz contaminado naturalmente con FB₁ (13.9 µg/g), está libre de la toxina. En cambio, otras fracciones del proceso contuvieron FB₁ en las siguientes concentraciones: parte proteica (5.1 a 5.8 µg/g), fibra (2.7 a 5.7 µg/g) y germen (1.3 a 3.1 µg/g). La fibra y la parte proteica requieren por lo tanto de otro proceso de descontaminación antes de poderlos utilizar como alimento para animales (Jackson *et al.*, 1996 c).

Entre otros métodos para descontaminar, están los que emplean tratamiento con amonio a temperatura alta/presión baja (2% de amonio, 1.15 atm, 125°C por 60 min) reducen el contenido de fumonisinas (de una concentración de 80 µg/g a 18 µg/g) en cultivos sólidos con *F. moniliforme* pero no reducen la toxicidad del material cuando éste se utiliza en el alimento para ratas. Una reducción del 79% del nivel de fumonisinas se logró en maíz después de aplicar amonio a temperatura ambiente/presión alta (2% de amonio, 4.1 atm, 20°C por 60 min) seguido por alta temperatura/baja presión (2% de amonio, 1.15 atm, 125°C por 60 min). Sin embargo, no se midió la toxicidad del maíz tratado (Park *et al.*, 1992).

El proceso tradicional para producir masa o tortillas, llamado nixtamalización también ha sido evaluado como un método de destoxificación para FB₁ (Hendrich *et al.*, 1993; De La Campa *et al.*, 2004). Para este estudio se realizó el proceso tradicional. En el producto final se obtuvo una reducción del nivel de FB₁ a 0.4 µg/g y una concentración de la forma hidrolizada de FB₁ de 10 µg/g. Por lo tanto, a pesar de que el tratamiento alcalino con hidróxido de calcio reduce la cantidad de FB₁, se genera la forma hidrolizada, HFB₁ o aminopentol (API), que conserva la misma actividad biológica cuando se alimenta a ratas con este material (Jackson *et al.*, 1996c). Dombrink-Kurtzman y Dvorak (1999) de igual forma encontraron una disminución significativa del contenido de fumonisinas en maíz contaminado de forma natural (8.79 µg/g de FB₁) después de someterlo al proceso de nixtamalización (0.50 µg/g de FB₁ y 0.36 µg/g de HFB₁). También el contenido de FB₂ (1.97 µg/g) se redujo obteniéndose una concentración final de 0.21 µg/g en las tortillas elaboradas con la masa preparada.

Alberts *et al.*, (1990) encontraron que la FB₁ es termoestable, ya que no hay reducción de su contenido al hervir 500 g de un cultivo de *F. moniliforme* MRC 826 en 500 mL de agua por 30 min, seguido por un proceso de secado en horno a 60°C por 24 h. De manera similar, al aplicar las condiciones del proceso de pasteurización (62°C, 30 min), se observó que tampoco hay una pérdida del contenido de fumonisinas (Maragos y Richard, 1994).

Estudios para determinar la estabilidad térmica de FB₁ y FB₂ llevados a cabo en un sistema acuoso (buffer de citrato-fosfato-borato), para eliminar los problemas de recuperación relacionados a la unión de las fumonisinas con la matriz de los alimentos y evaluando el efecto del pH (4, 7 y 10) y la temperatura (100 a 235°C) por un periodo de 60 min. Las temperaturas deseadas se obtienen calentando la solución en un envase de acero inoxidable, a presión, empleando una camisa eléctrica exterior. Se obtuvo que la concentración de FB₁ y FB₂ disminuye con el

tiempo de proceso, mientras que los niveles de 4 productos de descomposición, dos parcialmente hidrolizados (PHFB₁ y PHFB₂) y dos completamente hidrolizados (HFB₁ y HFB₂), generalmente aumentaban. A pH 10, los productos de descomposición presentes en mayor grado fueron los completamente hidrolizados, mientras que a pH 4 y 7, se encuentran los productos parcialmente hidrolizados. Es interesante notar que tanto FB₁ y FB₂ y sus respectivos productos hidrolizados no se encuentran a pH 4 después de 60 min en temperaturas mayores a 175°C. En general, la FB₁ y la FB₂ parecen menos estables a pH 4 y más estables a pH 7. Después de 60 min en temperaturas mayores a 175°C, las concentraciones de ambas fumonisinas se ven disminuidas hasta un 90% a pesar del pH.

Estos estudios confirman que la FB₁ y la FB₂ son termoestables, especialmente a pH neutro, en donde los parámetros físicos tal como la temperatura y el tiempo del proceso térmico son factores críticos que afectan la descomposición de estas dos toxinas. En los procesos térmicos en los que se emplean temperaturas menores a 125°C, se podría esperar un efecto marginal en la reducción del contenido de fumonisina. Sin embargo, en procesos cuyas temperaturas sean mayores a 150°C se alcanza una pérdida significativa de FB₁ y FB₂ (Jackson *et al.*, 1996 a, b).

Jackson *et al.*, (1997), determinaron el efecto de diferentes temperaturas en la elaboración de alimentos; tal como en el proceso de freído (190°C por 1-15 min) y horneado (175°C y 200°C por 20 min), en el contenido de FB₁ en totopos (10 µg/g) y panques de maíz (5 µg/g) respectivamente. Con el proceso de horneado en 175 y 200°C se observó una pequeña, pero significativa pérdida de FB₁ en los panques. El porcentaje de retención en los panques horneados a 175°C (83.7 ± 3.5 %) fue un poco mayor que en panques horneados a 200 °C (72.4 ± 5.9 %). En ambas temperaturas la pérdida de FB₁ en la superficie del panque fue mayor que en el centro. Además, no hay presencia de productos de descomposición, por lo que la pérdida de FB₁ durante el horneado podría ser explicada por una reacción no

enzimática, que es iniciada por la formación de una base de Schiff's. Los requerimientos de esta reacción son: una amina primaria, un azúcar reductor como glucosa, fructosa o lactosa y agua en un pH > 7. Las fumonisinas en presencia de azúcares reductores y agua, cumplen con estos requerimientos (Murphy *et al.*, 1996, Liu *et al.*, 2001; Fernández-Surumay *et al.*, 2004; Fernández-Surumay *et al.*, 2005). En el caso de los totopos se observa que tampoco hay presencia de productos de degradación, y se sugiere nuevamente que la reacción no enzimática es la causa de la pérdida de FB₁ (Fig. 3).

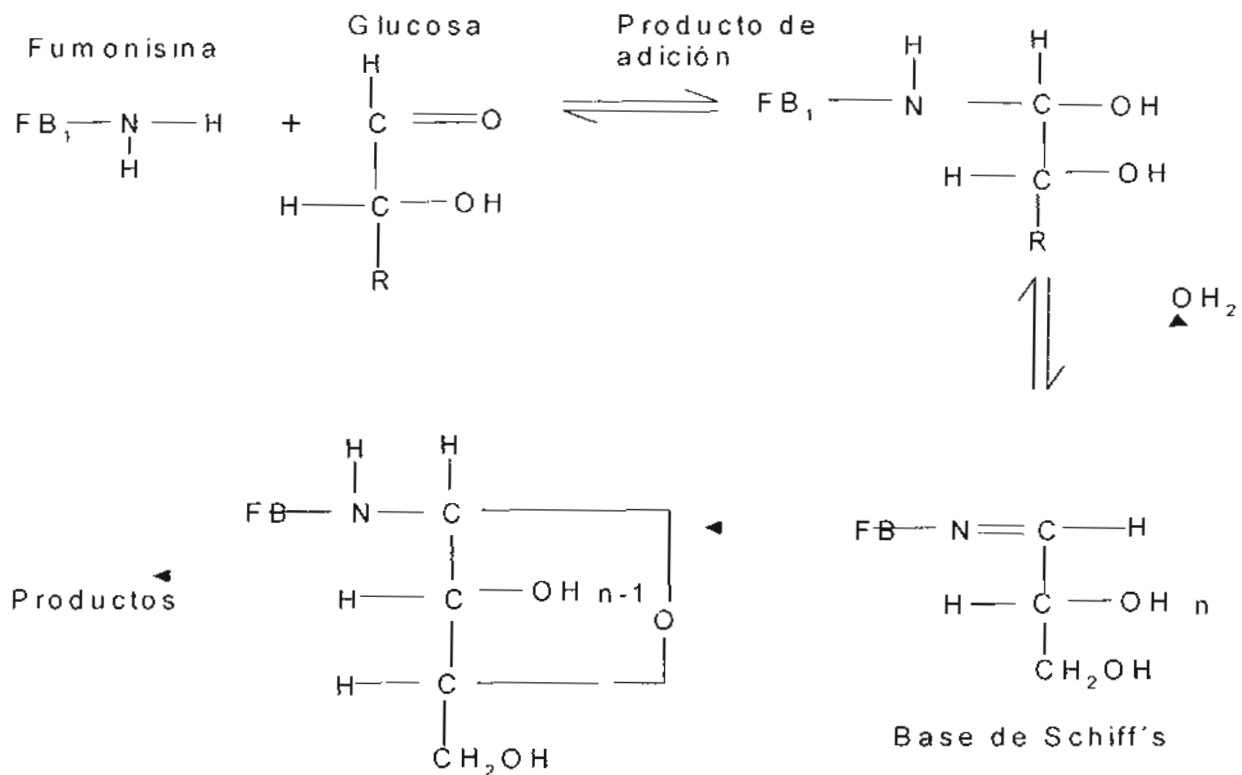


Fig. 3. Formación de una base de Schiff's por medio de la reacción del grupo amino de la FB₁ en presencia de un azúcar reductor (Murphy *et al.*, 1996).

En este estudio se indica que la pérdida de FB₁ es pequeña. Una pérdida substancial de FB₁, puede ocurrir cuando los alimentos son procesados en condiciones extremas (altas temperaturas/tiempos más largos).

Entre los estudios más recientes se encuentran los realizados por Huwig *et al.* (2001) en los cuales se emplean mezclas de varios adsorbentes adicionados en el alimento para el ganado con lo cual se pretende la adsorción en el tracto gastrointestinal de las micotoxinas. Entre los adsorbentes que han tenido mayores ventajas se encuentran los aluminosilicatos, el carbón activado y polímeros especiales. En estos casos se ha observado que la eficiencia de la unión de las micotoxinas a estos materiales difiere considerablemente de un tipo a otro y depende principalmente de la estructura química tanto de las micotoxinas como del material adsorbente.

También se han hecho algunos estudios con mezclas de aceites esenciales, ya que poseen propiedades antifúngicas y antimicrobianas. Las preparaciones de aceites esenciales han tenido aplicación en farmacología, microbiología médica, fitopatología y en la conservación de alimentos. El uso de los aceites esenciales ha tenido un incremento en los últimos años, sobre todo para evitar el uso de plaguicidas en los cultivos, ya que se ha visto que inhiben el crecimiento de algunos hongos entre ellos *F. verticillioides* (Fandohan *et al.*, 2004; Velluti *et al.*, 2004; Nguefack *et al.*, 2004).

Entre otros métodos se encuentra la radiación, la cual puede clasificarse en dos categorías; la radiación ionizante y la radiación no ionizante. En el caso de la radiación ionizante (rayos X, rayos gamma y rayos UV) se presentan cambios potenciales en las moléculas de los objetos irradiados sin la necesidad real o virtual de someter a calentamiento. Estos cambios moleculares pueden ser totalmente dañinos para la vida de los organismos cuando son expuestos a períodos prolongados de irradiación ionizante. Por otro lado, la radiación no ionizante (ondas de radio, microondas, ondas infrarrojas y luz visible) en suficiente intensidad conducen a un incremento en la temperatura, usualmente acompañada de cambios moleculares que son de naturaleza no peligrosa para el ser humano. El uso de radiación ionizante para liberar de microorganismos patógenos a los alimentos ha

sido hasta ahora la técnica con mayor aplicación a escala comercial para esterilizar alimentos (Diehl, 1990).

Un tratamiento físico para la reducción de fumonisinas que ha sido poco estudiado es la radiación la cual se ha usado para la eliminación de toxinas y de microorganismos

1.3.8. Radiación de alimentos

Existen varias formas de energía radiante emitidas por diferentes fuentes. Estas pertenecen al espectro electromagnético de radiaciones y difieren en cuanto a la longitud de onda, frecuencia, fuerza de penetración y los diversos efectos que ejercen en los sistemas biológicos. Algunas de éstas formas de energía radiante y sus efectos se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Dosis empleadas en la radiación de alimentos (Farkas, 2006).

Efecto y tipo de aplicación	Dosis requerida (KGy)
Inhibe el crecimiento de papas y cebollas	0.03 – 0.12
Elimina insectos y lavas (desinfección de alimentos)	0.2 – 0.8
Previene la reproducción de parásitos	0.1 – 3.0
Demora la maduración de algunas frutas y vegetales	0.5 – 5.0
Elimina la viabilidad de microorganismos esporulados y patógenos (diferentes a virus) en alimentos frescos y congelados	1.0 – 7.0
Reduce o elimina la población microbiana en ingredientes secos para alimentos	3.0 – 1.0

La luz ultravioleta, sobre todo la que tiene una longitud de onda dentro de la escala de 2000 a 2800 angstroms, se utiliza para inactivar los microorganismos en la superficie de los alimentos.

El factor que limita seriamente su aplicación en este caso es el bajo grado de penetración de la luz ultravioleta en los alimentos, lo cual restringe su utilización a tratamientos de la superficie o de alimentos líquidos que pueden exponerse a ella en capas delgadas. Otras aplicaciones de la luz ultravioleta son los tratamientos del agua y el aire que se emplean en las fábricas de la industria alimentaria. Los rayos X tienen una mayor fuerza de penetración que la luz ultravioleta y se ha pensado usarlos como un medio de conservación de alimentos sin embargo, a los rayos X no se les puede dirigir, lo que sería causa de un bajo grado de efectividad si se intentara emplearlos con el equipo actual (Bahnemann *et al.*, 2007; Saquib *et al.*, 2007; Yu *et al.*, 2007)

Hoy en día cuando se emplea el término "radiación de alimentos" se entiende generalmente el procesamiento por medio de rayos gamma y rayos beta, que en conjunto se llaman radiaciones ionizantes. A éstas se les escoge por su fuerza de penetración y por que, en las dosis que se recomienda en la normatividad (NOM-033-SSA1-1993), no producen ninguna cantidad considerable de radioactividad en los alimentos tratados. Tampoco producen ningún grado importante de calor en los alimentos, y a eso se debe la aplicación del término "esterilización en frío" a este método de conservación de alimentos (Vanamala *et al.*, 2007).

Lo importante en los procesos de radiación es la dosis o cantidad de radiación que recibe un sustrato, es decir, el número de unidades de energía de radiación absorbidas, la unidad internacional de radiación es el Gray (Gy) que equivale a 10,000 ergs/g. Los materiales absorben la energía de radiación en diferentes grados. Esto sucede aún cuando los materiales están expuestos a la misma fuente de radiación por el mismo tiempo. Bajo estas condiciones, dos alimentos diferentes pueden estar expuestos a la misma cantidad de energía de radiación, pero uno de ellos habrá absorbido una mayor cantidad de esta energía y por lo tanto, habrá recibido un mayor número de Grays que el otro (Farkas, 2006; Vanamala *et al.*, 2007).

Fuentes de radiación. Los rayos beta (electrones de alta energía) pueden ser producidos por máquinas como el generador Van de Graaff o un acelerador lineal. Los elementos naturales radioactivos (U, Np, Pu y Th) y los isótopos radioactivos que se pueden producir en reactores nucleares (Co^{60} , Cs^{137}) emiten una variedad de radiaciones y partículas de energía durante la desintegración radioactiva. Entre ellas están las partículas alfa que son átomos de helio en que faltan dos electrones, las partículas o rayos beta que son electrones de alta energía, llamados también rayos catódicos, los rayos gamma o fotones y los neutrones. Estas radiaciones tienen diferentes grados de fuerza de penetración, en orden decreciente: los neutrones, los rayos gamma, los rayos beta y los rayos alfa. Los neutrones tienen una gran fuerza de penetración y tanta energía que pueden alterar la estructura atómica y así volver radioactivos los elementos con que chocan. Actualmente se utilizan comúnmente elementos radioactivos inducidos por medios artificiales, por ejemplo el Co^{60} , como fuente de radiaciones. El Co^{60} se emplea principalmente como una fuente de rayos gamma, ya que las partículas beta pueden producirse más eficazmente en máquinas electrónicas (Malta y De Olivera, 1994; Thakur y Singht, 1995).

Estos métodos ya se han probado como métodos para inestabilizar micotoxinas. En el caso de las aflatoxinas especialmente la aflatoxina B1 (AFB1) absorbe la luz UV a los 222, 265 y 362 nm, con un máximo nivel de absorción a los 362 nm, lo cual puede conducir a la formación de más de 12 productos de fotodegradación (Samarajeewa *et al.*, 1990). Las aflatoxinas B1 y G1 siguen una serie de reacciones fotoquímicas cuando son expuestas a irradiación UV (365nm, 1 hora) sobre placas de sílice. Los productos de fotodegradación fueron menos tóxicos comparados con las toxinas de las cuales provenían al ser suministrados a embriones de pollo (Andrellos *et al.*, 1967). Al someter aceite de cacahuete a irradiación UV durante 2 horas se redujeron los niveles de las aflatoxinas contenidas inicialmente en el aceite en un 40 – 45% (Shanta y Murthy, 1977). En leche contaminada artificialmente y expuesta a luz UV se logró inactivar del 3.6 – 100% (dependiendo del tiempo de

exposición 2 a 60 min) de la aflatoxina M1. También, la adición de peróxido de hidrógeno (1%) a leche irradiada (10 min) destruye el 100% de la AFM1 (Yousef y Marth, 1985). La destrucción de la AFM1, en solución acuosa, expuesta a luz UV presentó una cinética irreversible de primer orden, lo cual se atribuye a la apertura de la doble ligadura en el anillo del furano terminal de la AFM1 (Yousef y Marth, 1987).

En el caso de la radiación gamma se ha probado con harina de cacahuates contaminado con AFB1 en donde los niveles de reducción fueron del 75 al 100% después de ser irradiado a dosis de 1 y 100 KGy, respectivamente (Temcharoen y Thilly, 1982). Sin embargo, dosis mayores a 10 KGy inhiben la germinación de la semilla, e incrementan el valor de peróxido del aceite (Chiou *et al.*, 1990). La presencia del agua juega un papel importante en la destrucción de las aflatoxinas cuando son expuestas a irradiación gamma, la radiólisis del agua conduce a la formación de radicales libres altamente reactivos. Estos radicales pueden atacar a la AFB1 en el anillo del furano terminal, dando productos de baja actividad biológica. La actividad mutagénica de la AFB1 en solución (5 µg/mL en agua) se redujo en un 34, 44, 74 y 100% después de la exposición a rayos gamma de 2.5, 5.0, 10 y 20 kGy, respectivamente (Van Dyck *et al.*, 1982). También, una dosis de 10 kGy inactivó (100%) completamente a la AFB1, y destruyó el 95% de AFG1 en una solución de dimetil sulfóxido-agua (1:9, v/v). Los productos de degradación no presentaron actividad biológica al aplicarles la prueba de mutagenicidad de Ames (Patel *et al.*, 1989)

Estudios realizados por Visconti *et al.*; (1996) los cuales emplean radiación gamma a dosis de 15 KGy para esterilizar harina de maíz, obtuvieron descensos en los niveles de fumonisina B₁ del 20%. Además, los estudios de estabilidad indican que el maíz irradiado está libre de fumonisinas hasta por 6 meses a 25°C o hasta 4 semanas a 40°C. Lo que significa que la radiación gamma es un método apropiado de esterilización de maíz.

Por lo que se refiere a la energía solar, ésta también destruye las aflatoxinas en algunos alimentos. Estudios realizados en la India revelan la eficiencia de la luz solar en la degradación de las toxinas en diferentes productos elaborados a base de cacahuates. En estos estudios se observó que la irradiación UV proveniente de la luz solar juega un papel muy importante en la foto destrucción de aflatoxinas. Las proteínas de los cacahuates pueden unirse a las aflatoxinas (Shantha y Murthy, 1980, 1981), y las aflatoxinas unidas a las proteínas de los cacahuates pueden ser menos susceptibles a la fotodegradación que las toxinas libres. Alrededor del 90% de las AFB₁ presente en hojuelas de cacahuates contaminados artificialmente fue destruida por radiación solar, sin embargo, sólo el 50% de la toxina fue destruida con el mismo procedimiento cuando ésta se encontraba presente como contaminante natural (Shantha *et al.*, 1986).

II. OBJETIVOS

- Determinar la degradabilidad de las fumonisinas (FB₁ y FB₂) presentes en maíces mejorados aplicando radiación UV y gamma.

2.1. Objetivos particulares

- Validación de la técnica por HPLC para aislar y cuantificar FB₁ y FB₂ en muestras de maíz molido
- Determinar concentración de fumonisinas (B₁ y B₂) en maíces mejorados
- Influencia de la humedad, TiO₂ y grasa durante la oxidación fotocatalítica de FB₁ y FB₂
- Estudios cinéticos de la fotodegradación de FB₁ y FB₂

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Muestreo

El maíz proviene de la Estación Experimental del CIMMYT, Tlaltizapan, Mor. México del ciclo otoño-invierno de 1999. Son inoculadas con *Fusarium verticillioides* en la mazorca, a los 7 días después de la floración femenina. Y se les dieron los siguientes tratamientos durante su desarrollo:

Fertilización: Se usaron dos fertilizantes (sulfato de amonio con 20.5% de N como fuente de N y superfosfato triple con 46% de P₂O₅ como fuente de P, fueron mezclados y aplicados a voleo. Después fueron incorporados con dos pasos de rastra de discos antes de surcar. La dosis de fertilizante inicial fue de 135-50-00 (relación de N-P-K). Lo cual significa que por hectárea se aplicaron 135 kg de N + 50 kg de P₂O₅ (esto se hizo el 20 de junio).

La segunda parte de la fertilización con N fue aplicada en banda al momento del aporque y correspondió a 140 Kg de N. También se usó sulfato de amonio (20.5% N) como fuente de N. Esta segunda fertilización se hizo el 28 de julio. De acuerdo a lo anterior, la dosis de fertilización final fue de 275-50-00 y fue aplicada como se mencionó anteriormente.

Riego de germinación: Riego por aspersión durante 5 horas (25-junio-1999).

Aplicación de herbicida: Se realizó el 26 de junio con aspersora de mochila en forma total. Se empleó el herbicida selectivo para maíz "Primagram 500 FW" en dosis de 6 L/ha y un volumen de aplicación de 400 L/ha. Este herbicida es preemergente a la maleza y al cultivo y es una mezcla comercial de dos herbicidas, la atrazina (23.3%) para controlar malezas de hoja ancha anuales y el metolaclor (23.3%) para controlar malezas de hoja angosta anuales también.

Aplicación de insecticida Con objeto de controlar al gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) se realizaron un total de tres aplicaciones mediante aspersora de mochila los días 8, 14 y 22 de julio. La aplicación se hizo en banda empleando una solución de 400 L de agua + 2 L de insecticida "Disparo" que contiene 33.8% de clorpirifos etil y 4.8% de permetrina. Esto es, 2L de insecticida disparo/ha el volumen de aplicación fue de 400 L/ha en cada una de las tres aplicaciones.

Aplicación de sulfato ferroso para corrección de clorosis: Se efectuaron un total de tres aplicaciones los días 27 de julio y el 2 y 9 de agosto. Estas aplicaciones consisten en aspersiones con mochila de una solución compuesta por la mezcla de sulfato ferroso heptahidratado (1% p/v) + urea foliar (0.5% p/v) + surfactante (0.1% v/v) + el agua necesaria. El volumen de aplicación fue de 400 L de esta solución / ha.

Riegos de auxilio: Solamente hubo necesidad de hacer un riego el día 29 de septiembre, y este fue de gravedad en surcos alternados.

En la tabla 4 se observan los datos meteorológicos del maíz durante su cultivo.

Tabla 4. Datos meteorológicos registrados durante el cultivo de maíz mejorado (QPM) y no mejorado (otoño-invierno de 1999, estación experimental CIMMYT)

Mes	junio					julio					agosto					septiembre					octubre				
	Temp.°C		Temp.°C		Rel.	Temp.°C		Temp.°C		Rel.	Temp.°C		Temp.°C		Rel.	Temp.°C		Temp.°C		Rel.	Temp.°C		Temp.°C		Rel.
Día	Max	Min	Hum (%)	Pp. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Pp. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Pp. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Pp. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Pp. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Pp. Pluv (mm)	
1	36.8	18.2	90.0	0.0	32.4	20.0	95.0	0.0	33.0	19.0	93.0	0.0	30.0	20.0	97.0	10.3	30.6	18.2	95.0	14.1					
2	36.8	20.0	77.0	0.0	32.4	19.0	95.0	7.0	31.2	18.2	97.0	2.4	30.4	18.0	97.0	55.3	30.6	18.0	95.0	11.2					
3	37.0	21.0	73.0	0.0	29.8	20.0	95.0	23.4	31.4	15.0	94.0	3.6	30.8	20.4	93.0	6.2	29.8	19.0	95.0	10.6					
4	37.2	22.0	73.0	0.0	29.8	19.0	95.0	10.3	31.6	17.8	97.0	13.3	30.8	18.0	95.0	1.9	29.8	17.0	95.0	0.0					
5	37.0	21.4	82.0	0.0	25.6	19.0	95.0	20.9	31.6	16.0	95.0	0.0	30.8	20.0	95.0	28.3	26.5	19.8	95.0	6.7					
6	37.2	22.0	82.0	0.0	28.6	17.0	95.0	0.7	31.6	18.8	95.0	4.4	30.6	19.0	95.0	11.2	26.5	18.0	95.0	7.5					
7	37.0	22.0	90.0	4.4	28.6	17.0	97.0	12.1	31.6	17.0	90.0	0.0	30.6	20.0	97.0	10.0	28.4	20.4	95.0	0.0					
8	37.2	21.0	88.0	0.3	29.4	16.0	95.0	0.0	30.0	18.6	97.0	0.0	30.6	18.0	95.0	1.0	29.4	17.0	95.0	3.8					
9	37.0	19.2	97.0	17.3	31.6	19.4	95.0	0.0	31.2	18.0	95.0	24.6	29.0	20.6	93.0	0.0	30.6	19.6	90.0	4.7					
10	37.2	19.0	95.0	3.0	31.4	17.0	92.0	2.2	30.0	20.0	95.0	6.4	30.0	19.0	95.0	2.2	30.6	19.0	95.0	1.0					
11	37.2	22.4	88.0	0.0	30.8	18.0	95.0	6.7	30.0	18.0	95.0	3.1	30.6	17.8	97.0	17.0	30.8	19.8	95.0	0.0					
12	37.2	18.0	95.0	2.5	30.8	18.0	95.0	0.0	30.2	19.8	95.0	8.5	30.6	17.0	97.0	36.4	30.8	15.0	90.0	0.0					
13	37.2	20.8	90.0	0.0	27.8	20.0	92.0	0.0	30.2	17.0	95.0	2.5	30.6	17.2	95.0	2.6	30.2	15.8	97.0	0.0					
14	37.0	18.0	95.0	15.8	32.0	11.0	97.0	0.0	29.8	17.0	97.0	0.0	30.6	18.0	95.0	0.3	30.4	15.0	97.0	1.3					
15	29.4	20.4	93.0	1.0	31.0	17.0	95.0	0.0	30.4	14.0	94.0	0.0	30.8	19.0	95.0	0.0	29.6	18.2	97.0	0.0					
16	31.8	18.0	95.0	13.4	31.0	17.0	95.0	3.0	31.0	19.6	97.0	0.0	30.8	17.0	97.0	6.0	30.0	16.0	95.0	0.0					
17	31.2	21.0	90.0	0.0	31.0	18.0	97.0	0.0	31.8	20.0	86.0	0.0	31.8	18.8	97.0	0.0	30.0	20.6	95.0	0.0					
18	32.0	20.0	90.0	0.0	31.6	18.0	95.0	34.0	31.8	19.4	97.0	36.2	31.8	18.0	97.0	0.7	30.8	18.0	92.0	0.0					
19	34.2	23.4	82.0	0.0	28.8	19.6	95.0	20.0	31.8	18.0	95.0	5.0	31.0	20.0	97.0	5.4	30.6	19.0	90.0	0.0					
20	34.2	20.0	90.0	0.0	29.0	17.0	95.0	7.4	29.0	19.2	97.0	4.0	31.0	17.0	95.0	0.0	30.6	16.0	95.0	0.0					
21	34.2	20.4	93.0	1.7	30.8	20.6	81.0	0.0	29.6	19.2	95.0	3.2	30.6	14.4	97.0	0.0	30.6	16.8	94.0	0.0					

Continuación tabla 4

Mes	Junio					Julio					agosto					septiembre					octubre				
	Temp.°C					Temp.°C					Temp.°C					Temp.°C					Temp.°C				
Día	Max	Min	Hum (%)	Rel.	Prec. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Rel.	Prec. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Rel.	Prec. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Rel.	Prec. Pluv (mm)	Max	Min	Hum (%)	Rel.	Prec. Pluv (mm)
22	34.0	18.0	95.0		36.5	30.8	17.0	95.0		0.0	30.4	20.8	95.0		0.0	30.6	13.0	97.0		0.0	30.6	13.6	13.0		94.0
23	32.4	21.0	95.0		0.5	31.4	15.4	88.0		0.0	31.2	19.0	95.0		0.5	30.6	16.6	97.0		0.0	30.6	10.6	94.0		0.0
24	32.4	20.0	93.0		12.1	31.4	15.0	94.0		0.0	29.6	18.8	95.0		26.3	30.6	18.0	97.0		0.0	30.4	8.0	93.0		0.0
25	29.4	20.6	95.0		10.5	31.2	17.0	95.0		0.0	29.6	18.0	95.0		30.9	31.6	18.2	97.0		0.0	28.2	8.0	93.0		0.0
26	29.2	19.0	95.0		6.3	31.4	18.0	88.0		0.0	29.4	19.0	95.0		1.8	31.6	18.0	97.0		0.0	28.2	7.0	89.0		0.0
27	28.8	19.8	90.0		0.0	30.6	17.6	90.0		0.0	29.8	19.0	95.0		1.8	32.0	18.2	97.0		0.0	26.0	7.0	93.0		0.0
28	31.6	17.0	95.0		32.2	32.6	16.0	87.0		0.0	29.0	20.4	95.0		2.0	32.6	18.0	97.0		0.0	28.0	8.0	97.0		0.0
29	31.8	19.4	95.0		0.0	32.8	18.0	97.0		1.8	30.8	19.0	95.0		5.3	28.8	20.6	95.0		0.0	28.8	7.0	97.0		0.0
30	33.0	18.0	95.0		3.7	32.8	19.0	92.0		6.0	29.6	20.0	95.0		0.0	29.0	12.0	85.0		0.0	29.4	10.0	94.0		0.0
31						32.8	19.6	95.0		5.0	31.0	18.0	95.0		19.2						29.6	10.0	97.0		0.0

3.2. Diseño experimental

Las muestras de maíz fueron proporcionadas por el Dr. Dan Jeffers y el Ing. Locadio Martínez (CIMMYT El Batán Texcoco, México) los cuales llevaron a cabo el aislamiento de los hongos presentes en las muestras a partir de medios selectivos (PDA y Rosa de Bengala), y la identificación de *Fusarium verticillioides* se realizó por medio de microcultivo y auxonograma y/o zimograma.

Las muestras consistieron en 80 muestras de maíz mejorado o QPM (Maíz con mejoramiento para un mayor contenido de proteína [lisina y triptofano]) inoculadas en campo con *Fusarium verticillioides* (las cuales se subdividieron en 40 muestras de maíz blanco y 40 muestras de maíz amarillo). Además, de 40 muestras de maíz NO mejorado o no QPM (20 muestras de maíz blanco y 20 muestras de maíz amarillo normales respectivamente, es decir, no han sido mejoradas para un mayor contenido de proteína), sin embargo, es maíz con resistencia a *Fusarium verticillioides* inoculadas en campo (Fig. 4).

Del grupo de maíz mejorado (40 muestras de maíz blanco y 40 muestras de maíz amarillo), se seleccionaron 26 muestras que presentaran las mejores características físicas y químicas independientemente del contenido de FB₁ y FB₂ (13 muestras de maíz blanco codificadas de 1B a 13B y 13 de maíz amarillo codificadas de 1 A a 13 A).

Del grupo de maíz no mejorado (20 muestras de maíz blanco y 20 muestras de maíz amarillo) se seleccionaron 6 muestras de maíz amarillo (codificadas como 1 a 6) y 6 muestras de maíz blanco (codificadas como I a VI) que presentaran las mejores características físicas y químicas independientemente del contenido de FB₁ y FB₂

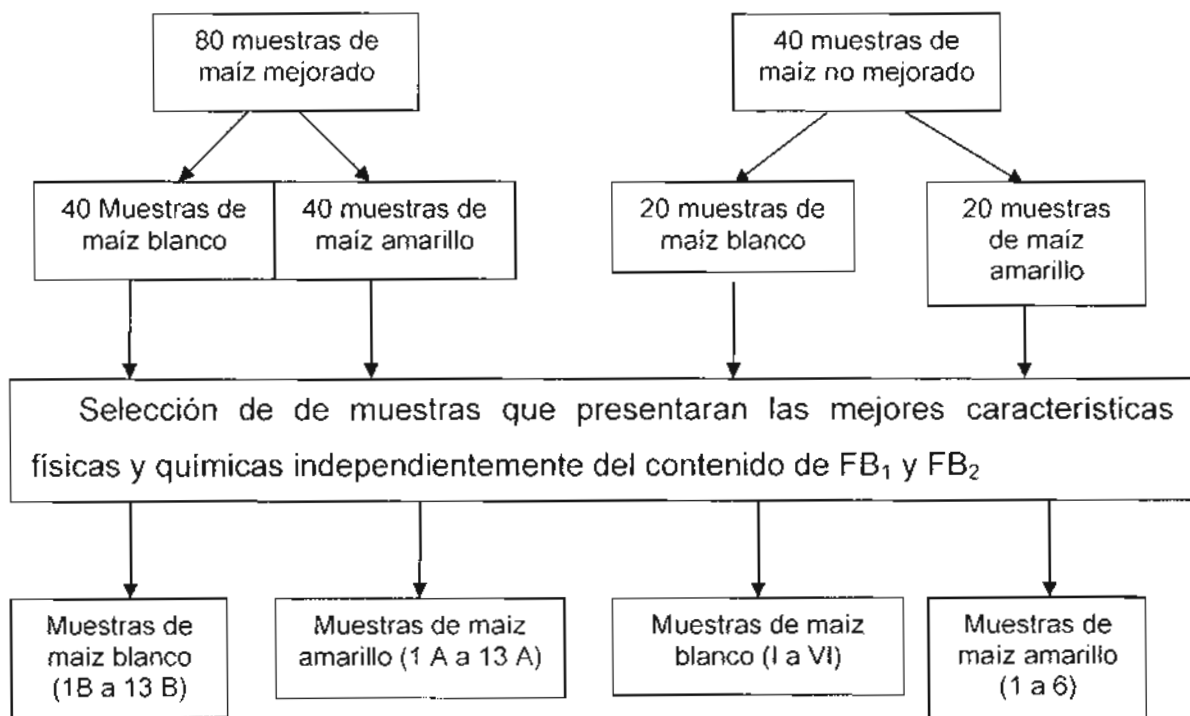


Figura 4. Distribución de las muestras de maíz mejorado y no mejorado.

En todos los casos se consideraron algunas muestras de maíz blanco, amarillo y azul comerciales como testigos, los cuales se adquirieron en la Central de Abastos de la Ciudad de México.

La caracterización del maíz se realiza mediante análisis químico proximal con base en la metodología del AOAC, 1995 (humedad, cenizas, extracto etéreo, proteína y carbohidratos, ver en Anexo I), además se evalúa su aspecto físico de acuerdo a la norma NMX-FF-034-1995-SCFI en la cual se consideran los siguientes parámetros: densidad, granos dañados (por calor, por hongos, por insectos, por roedores, y por condiciones meteorológicas), granos quebrados, humedad e impurezas, cada análisis se realizó por duplicado.

3.2.1. Tratamiento de los estándares de fumonisinas (FB₁ y FB₂) con radiación UV. Se prepararon soluciones de 5 µg/mL de cada una de las fumonisinas a partir de la solución base, y se colocaron en 8 vasos de precipitado (uno de ellos se tomó como testigo) con porciones de 200 µL para ser irradiadas ($\lambda < 380$ nm) con una lámpara (100 watts, con arco de mercurio de inmersión y presión media con chaqueta de cuarzo y regulador de voltaje (ACE GLASS Incorporated). La distancia entre la lámpara y las muestras es de 3.0 cm y c/u de los vasos fueron retirándose a intervalos de 30 min hasta concluir 480 min de tratamiento. Después del tratamiento las muestras fueron analizadas por cromatografía de líquidos y espectrometría de masas (GCQ, Finnigan Mat con impacto electrónico y analizador de trampa de iones). Para el análisis de los estándares, se resuspendió el contenido de cada uno de los vasos en 200µL de metanol y se tomaron 25µL para formar el derivado con el reactivo de OPA y 2 –mercaptoetanol.

3.2.2. Tratamiento de harina de maíz con radiación UV ($\lambda < 380$ nm). Las muestras que se emplearon se molieron previamente por 5 minutos, en lotes de 250.0 g (12-14% humedad) usando un tamiz No.1 (molino Brabender Ohg Duisburg) posteriormente se mezclan los gruesos y finos para homogeneizarlos en una sola muestra. Se toman submuestras de harina de maíz (25.0 g) para exponerlas a la radiación ultravioleta de acuerdo a las condiciones de la Tabla 5 en charolas de aluminio (9.5 x 18.6 cm), a una distancia de 3.0 cm de la lámpara de luz ultravioleta, medidos desde la chaqueta de cuarzo hasta el fondo de la charola (Figura 5).

Tabla 5. Condiciones de tratamiento de las muestras de harina de maíz

Condiciones	TiO ₂ (1%)	UV ($\lambda < 380$ nm) 120 min a 25°C	UV ($\lambda < 380$ nm) 240 min a 25°C	UV ($\lambda < 380$ nm) 480 min a 25, 60 y 90°C
Harina de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%)	X	X		
Harina de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%)				X
Harina de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%)		X		
Harina de maíz con alto contenido de humedad (66-67%)	X		X	
Harina de maíz con alto contenido de humedad (66-67%)			X	

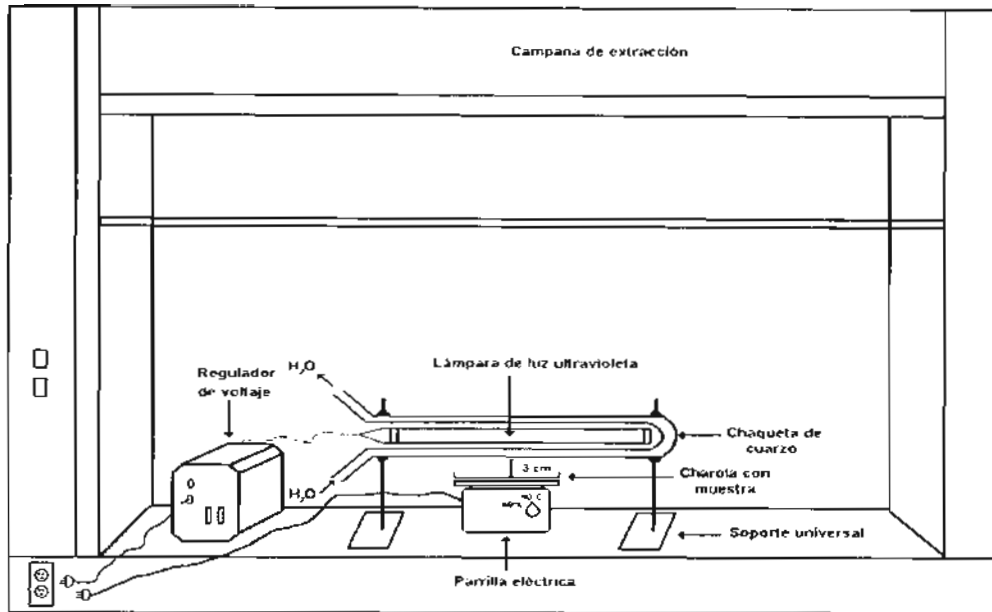


Figura 5. Equipo montado para la radiación ultravioleta de estándares y muestras. (Lámpara de 100 watts, con arco de mercurio de inmersión y presión media con chaqueta de cuarzo y regulador de voltaje ACE GLASS Incorporated)

3.2.3. Tratamiento de estándares de FB₁ y FB₂ con radiación gamma. Se colocaron concentraciones conocidas de estándar de FB₁ en 8 vasos, uno de los 8 vasos se tomó como control ya que no se expuso a la radiación. Los siete vasos restantes se colocan con parafilm a 40.0 cm del vértice formado por las fuentes de Co⁶⁰ (Fig.6C) a 16.5 cm del suelo en la estructura del irradiador tipo alberca Gamma Beam, (Figs. 6A y 6B) y se retiraron al ir alcanzando las dosis de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 y 14.0 KGy a una tasa de dosis de 2.056 KGy/h, después de esto se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis por HPLC (menos de 4 días).

También se realizó la radiación a 15.0 KGy de fumonisina B₁ en estado sólido, posteriormente se llevó a cabo la cuantificación de la fumonisina remanente por HPLC, además de su análisis mediante espectrometría de masas.

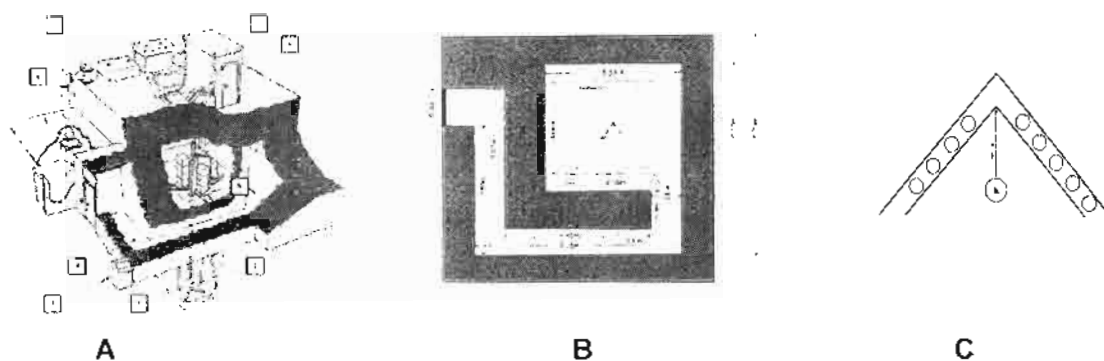


Figura 6. A) Esquema de la fuente Gamabeam 651-PT tipo alberca (Instituto de Ciencias Nucleares, UNAM). Partes del Gammabeam 651-PT: 1 Barras de isótopo ^{60}Co , 2 Alberca, 3 Consola de control, 4 Laberinto, 5 Cámara de radiación, 6 Laberinto, 7 Cuarto de motores, 8 Extractor, 9 Cuarto de compresores. **B)** Vista superior del irradiador, con algunas dimensiones. **C)** Posición dentro del irradiador en la que se colocaron las muestras (posición "P" a un distancia de 16.5 cm del suelo).

3.2.4. Tratamiento de harina de maíz con radiación gamma. Las muestras de harina de maíz se sometieron a la radiación gamma en bolsas de plástico con sello hermético, se colocaron a 40.0 cm de vértice de la estructura del Gamma Beam y a 16.5 cm del suelo (Figura 6). Se fueron retirando al ir alcanzando las dosis de 3.0, 6.0, 9.0, 12.0 y 15.0 KGy, después de esto se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis por HPLC.

A las muestras sometidas a radiación UV o gamma se les cuantificaron las fumonisinas B_1 y B_2 residual para comparar los niveles de las toxinas con una muestra que no recibió tratamiento y así evaluar el efecto de degradación provocado por las radiaciones.

3.3 Extracción de fumonisinas y limpieza

Se tomaron 50g de muestra y se realizó la extracción con metanol-agua (100 mL, 75:25) en sonicador por 15 min. Se centrifugó a 2500 rpm (10 min) para separar la

fase acuosa, si era necesario, se filtraba el sobrenadante a través de papel filtro No. 6. El sobrenadante debía tener un pH de 5.8. Si era necesario, se ajustaba el pH a un intervalo de 5.8 – 6.5 con NaOH (1M). El extracto (10 mL) se aplicó en el cartucho SAX (Cartuchos de extracción en fase sólida, con 500 mg de fase; Phenomenex Torrance, CA), el cual debe de ser preacondicionado con metanol (5 mL) y metanol-agua (5 mL, 75:25). Se aplicaron 10 mL del extracto filtrado al cartucho y se lavó con 5 mL de metanol-agua (75:25 v/v), seguido de metanol (3 mL), manteniendo un flujo ≤ 2 mL/min se desecharon estos lavados. Las fumonisinas (FB₁ y FB₂) fueron eluidas con metanol-ácido acético (10 mL, 99:1 v/v) a un flujo ≤ 1 mL/min. Se colectó el eluido en un vial de vidrio de 20 mL.

Se transfirió una alícuota del eluido a un vial de vidrio y se evaporó el disolvente a sequedad (en atmósfera de nitrógeno) a 60°C. Se resuspendió con metanol (1 mL) lavando lo mejor posible las paredes del vial, se evaporó el metanol adicional a sequedad o hasta que todo el ácido acético fuera removido. Se formó el derivado fluorescente como se menciona más adelante (sección 3.4 inciso d) en el análisis por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

La confirmación de las fumonisinas en las muestras se realiza mediante espectrometría de masas empleando el método de Bombardeo por átomos rápidos o FAB+ por sus siglas en inglés.

Para observar los porcentajes de recuperación de las fumonisinas en las muestras de maíz, se prepararon concentraciones conocidas de c/u de los estándares puros de fumonisinas (100 µg/mL de FB₁ y 100 µg/mL de FB₂). Para cada caso se tomó una alícuota de 100 µL y se agregó a la muestra de 25.0g de harina de maíz. Se realizó la extracción de acuerdo al procedimiento anteriormente mencionado (sección 3.3).

3.4 Análisis químico

Dentro de los análisis usados para la identificación de las fumonisinas, consideramos que el más apropiado es el HPLC, ya que se pueden obtener límites de detección bajos (0.05 a 0.15 $\mu\text{g/mL}$) y los derivados formados con OPA son estables por 4 min y no se forman derivados que pueden interferir con la identificación de las fumonisinas.

3.4.1 Condiciones de análisis del HPLC

a) Equipo: Cromatógrafo de líquidos (Varian) con bomba terciaria modelo 9010 con detector de Fluorescencia modelo 9000. Software de control y procesamiento de datos Varian Star Workstation, versión 4.5 1989-1990, Varian Associates, Inc. Columna analítica de acero inoxidable (Varian 1846150) de 150 x 4.6 mm d.i, empacada con sílice C_{18} de partículas esféricas de 5 μm (ODS2-I-10/5), fase-reversa (RP), λ excitación 335 nm y λ emisión 440 nm. Fase móvil metanol y fosfato de sodio monobásico (77:23, 0.1M v/v). Previamente filtrado en una membrana millipore (0.45 μm).

b) Reactivos: FB_1 y FB_2 , o-Ptaldialdehído ,OPA, 2-Mercaptoetanol, ácido o-fosfórico, (Sigma Aldrich-Química); TiO_2 (Prolabo, Alemania); metanol, acetonitrilo, ácido acético, fosfato monobásico de sodio, hidróxido de sodio, tetraborato disódico, (J.T. Baker).

c) Curva de calibración

Para la identificación de las fumonisinas fue necesario elaborar las curvas de calibración correspondientes, las cuales se realizaron inyectando por triplicado cada una de las concentraciones de las fumonisinas en estudio. Para ello, se prepararon soluciones base (100 $\mu\text{g/L}$) de cada uno de los estándares (FB_1 y FB_2 Sigma Aldrich)

y se realizaron las diluciones correspondientes. En el caso de las FB₁ se prepararon concentraciones de 0.0, 0.25, 0.5, 1.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, y 20.0 µg/mL, y para la FB₂ concentraciones de 0.0, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0 y 20.0 µg/mL, en cada caso se considera la inyección de un blanco de reactivos. El pH de la fase móvil debe de ser igual a 3 y se puede ajustar agregando ácido fosfórico concentrado. Las soluciones base de c/u de las fumonisinas son estables hasta por 6 meses cuando son almacenadas a 4°C. Una vez montada cada una de las metodologías analíticas empleando el método de Sydenham *et al.*, 1996 se estudió la linealidad con soluciones estándar de cada una de las fumonisinas. FB₁ (30 µg/mL) por quintuplicado y FB₂ (1 µg/mL) por triplicado.

d) Reactivo de OPA (o-Ftaldialdehído). Se seleccionó el reactivo de OPA para formar un derivado fluorescente con las fumonisinas debido a que las fumonisinas por sí mismas no fluorescen, además de que pueden ser detectadas a concentraciones bajas si se utilizan longitudes de onda de 330 nm en la excitación y de 450 nm para la emisión.

Se disolvieron 40 mg de OPA en 1 mL metanol, y se diluyó con 5 mL de tetraborato disódico (0.1 M). Se agregaron 50 µL de 2-mercaptoetanol y se mezcló. Posteriormente se almacenó el reactivo de OPA a temperatura ambiente en un vial color ámbar donde puede mantenerse estable máximo por una semana.

Para formar el derivado fluorescente se redisolvió el estándar o la muestra en 200µL de metanol, posteriormente se transfirieron 25 µL a un vial y se agregaron 225 µL del reactivo de OPA. Se mezcló y se inyectaron 20 µL de la solución al sistema cromatográfico (por triplicado), dentro del primer minuto después de haber agregado el reactivo de OPA, como lo recomienda Sydenham *et al.*, (1996). A pH básico, las fumonisinas reaccionan con el OPA y el nucleófilo 2-mercaptoetanol, para formar un derivado altamente fluorescente.

3.5 Datos cinéticos

En esta etapa se determinaron los parámetros cinéticos como son: orden de reacción (n), tiempo de vida media (t , min) y constante de reacción (k , min^{-1}). Con la finalidad de estudiar el efecto de la radiación (UV y gamma) sobre las fumonisinas B_1 y B_2 (Jackson *et al.*, 1996b).

De acuerdo con Jackson *et al.*, (1996b), las velocidades de descomposición de las fumonisinas B_1 (A) y B_2 (B) se expresan con la siguiente ecuación

$$A = - d(C_A)/dt = kC_A^n \quad (11)$$

Donde C_A es la concentración ($\mu\text{g/mL}$) de la fumonisin B_1 remanente, t es el tiempo (min), k es la constante de la reacción (min^{-1}), y n es el orden de la reacción.

La ecuación que expresa una reacción de primer orden se obtiene integrando la ecuación 11, quedando expresada de la siguiente manera:

$$\frac{2.3 \log [C_A]_0}{[C_A]} = k(t-t_0) \quad (12)$$

Donde $[C_A]_0$ = concentración inicial ($\mu\text{g/mL}$) de B_1 y t_0 = tiempo cero, reordenando la ecuación 12 se tiene lo siguiente:

$$2.3 \log \frac{[C_A]_0}{[C_A]} = kt \quad (13)$$

La ecuación 13 puede ser transformada para quedar de la siguiente manera:

$$\log [C_A] = - \frac{k}{2.3} t + \log [C_A]_0 \quad (14)$$

La constante de la velocidad de reacción se calculó a partir de la pendiente de la ecuación linearizada. El tiempo de vida media ($t_{1/2}$) se calculó a partir de la ecuación 14 considerando C_A igual a $0.5 A_0$, quedando relacionada con la ecuación 13 de la siguiente manera:

$$2.3 \log \frac{1}{0.5} = kt_{1/2} \quad ; \quad \frac{2.3 \log 2}{k} = t_{1/2} \quad ; \quad \frac{0.693}{k} = t_{1/2} \quad (15)$$

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. El análisis estadístico modelo lineal general (MLG) y la prueba de Duncan se realizaron empleando el programa SSPS para Windows, versión estándar 10.01 (27 Oct 1999), para ambas pruebas se utilizó un nivel de significancia $\alpha=0.05$.

El análisis de regresión lineal, usado para el cálculo de la constante de reacción, tiempos de vida media de la FB_1 y FB_2 y los correspondientes coeficientes de correlación se obtuvieron mediante EXCEL. El tiempo de vida media se calculó mediante la ecuación 15.

3.6 Espectrometría de masas

La fumonisina B_1 se analizó mediante espectrometría de masas por la técnica de bombardeo por átomos rápidos (FAB), en esta técnica las muestras se introducen al espectrómetro de masas en alcohol nitrobencílico y sus fragmentos aparecen en todos los espectros, los principales fragmentos del alcohol nitrobencílico son: 136, 154, y 307 m/z (Figura 13). El estudio se llevó a cabo en la Unidad de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química en la UNAM con apoyo de la Q. Georgina Duarde.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización físico química de las muestras de maíz de acuerdo a la norma NMX-FF-034-1995-SCFI y al AOAC (1995).

En las muestras de maíz mejorado (maíz con mejoramiento para un mayor contenido de proteína (lisina y triptofano) o QPM por sus siglas en Inglés (Quality Protein Maize) se observó en la caracterización física que la mayoría de las muestras de maíz amarillo se encontraban en la clasificación de México 4 y fuera de norma (FN), que establece un 10% como máximo en la suma de daños para que se clasifique como México 4 (M4) y, si sobrepasa este valor se le denominará como fuera de norma o FN (NMX-FF-034-1995-SCFI). Con respecto al maíz blanco, la mayoría de las muestras se clasificaron como México 3 (Tabla 6).

En las tablas 7 y 9 se presentan los resultados del análisis químico proximal que se realizó a las muestras de maíz blanco y amarillo QPM, inoculados en campo con *Fusarium verticillioides*.

Tabla 6. Características físicas en maíz mejorado o QPM (NMX-FF-034-1995-SCFI).

Muestras de maíz amarillo (A)	Código	Daños por hongos (g) Color	Daños por insectos (g)	Granos chupados (g)	Granos quebrados (g)	Impurezas (g)	Σ de daños
TL99B67011-2	1A	3.5	4.8	1.0	0.5	--	9.8 (M4)
TL99B67011-3	2A	4.8	4.0	1.0	--	0.2	10.0 (M4)
TL99B67011-6	3A	3.1	1.0	0.1	--	0.1	4.3 (M2)
TL99B67011-9	4A	5.0	1.6	0.3	--	--	6.9 (M3)
TL99B67011-26	5A	10.2	2.5	1.3	--	0.2	14.2 (FN)
TL99B67011-29	6A	7.5	--	0.7	0.5	0.2	8.6 (M4)
TL99B67011-30	7A	7.6	2.4	0.8	--	0.4	11.2 (FN)
TL99B67011-35	8A	3.9	--	0.2	0.5	0.2	4.8 (M2)
TL99B67011-47	9A	5.0	1.5	--	0.6	0.7	7.8 (M4)
TL99B67011-51	10A	2.6	0.9	--	--	0.5	4.0 (M2)
TL99B67011-54	11A	2.0	1.1	0.2	--	1.5	4.8 (M2)
TL99B67011-59	12A	mezclado					
TL99B67011-60	13A	9.3	0.3	--	--	0.3	9.9 (M4)
Muestras de maíz blanco (B)							
TL99B67021-1	1B	6.0	1.3	2.0	0.5	3.5	9.8 (M4)
TL99B67021-3	2B	1.4	0.2	0.5	0.4	0.2	2.5 (M1)
TL99B67021-5	3B	3.7	0.1	0.5	--	0.9	4.3 (M2)
TL99B67021-9	4B	2.0	--	1.5	1.0	0.5	4.5 (M2)
TL99B67021-10	5B	1.5	0.3	0.7		0.2	2.5 (M1)
TL99B67021-13	6B	4.0	0.1	0.8	1.0	--	5.9 (M3)

Continuación Tabla 6

Muestras de maíz blanco (B)	Código	Daños por hongos (g) Color	Daños por insectos (g)	Granos chupad os (g)	Granos quebrado s (g)	Impureza s (g)	Σ de daño s
TL99B67021-14	7B	3.7	0.6	--	--	3.0	7.3 (M4)
TL99B67021-19	8B	2.0	1.3		0.5	3.5	7.3 (M4)
TL99B67021-31	9B	1.5	1.3	2.0	--	0.8	5.6 (M3)
TL99B67021-34	10B	4.8	0.7	--	0.7	1.0	7.2 (M4)
TL99B67021-46	11B	4.5	1.6	1.5	--	0.6	8.2 (M4)
TL99B67021-71	12B	3.0	0.1	0.3	--	0.2	3.6 (M2)
TL99B67021-80	13B	3.0	0.7	1.0	1.0	--	5.7 (M3)
Testigos							
Sinaloa	T1	4.5	--	--	6.8	0.3	11.6 (FN)
Toluca	T2	6.9	--	--	6.4	0.1	13.4 (FN)
Milpa Alta (azul)	T3	1.5	1.7	1.0		0.1	4.3 (M2)

Muestra inicial 100 g; (--) = no presenta, FN = Fuera de norma, M1 = México 1, M2 = México 2, M3 = México 3, M4 = México 4 de acuerdo a la Norma NMX-FF-034-1995-SCFI.

La clave TL99B67011-X (Maíz amarillo mejorado o QPM) corresponden a las mazorcas inoculadas en campo con *Fusarium verticillioides*, mismas que se evaluaron para observar la resistencia a pudrición de mazorca. La semilla que se utilizó para establecer la siembra con la clave TL99A1701 se le llama semilla remanente y se almacena en el cuarto frío. La clave TL99B67021-Y (Maíz blanco subtropical mejorado con origen de semilla remanente con clave TL99A1702. Es maíz con mejoramiento para un mayor contenido de proteína (lisina y triptofano) Datos proporcionados por el Dr. Dan Jeffers y el Ing. Locadio Martínez, CIMMYT, El Batán Texcoco México.

Tabla 7. Análisis químico proximal en muestras de maíz mejorado (QPM, AOAC, 1995).

Maíz blanco	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B	11B	12B	13B
Humedad %	11.62±	10.5±	11.01±	10.76±	10.89±	10.76±	10.82±	11.36±	11.70±	11.37±	9.95±	10.74±	12.46±
Cenizas %	0.22	0.43	0.60	0.27	0.77	0.71	0.26	0.37	0.15	0.36	0.37	0.25	0.37
	1.35±	1.18±	1.29±	1.56±	1.35±	1.02±	0.98±	1.20±	1.11±	1.03±	1.27±	1.09±	1.10±
	0.37	0.27	0.13	0.15	0.13	0.21	0.04	0.12	0.13	0.14	0.11	0.10	0.10
Grasa %	3.74±	3.92±	4.16±	4.73±	3.51±	8.69±	8.22±	3.82±	6.53±	4.64±	7.39±	4.84±	6.48±
	0.30	0.13	0.21	0.21	0.13	0.15	0.16	0.16	0.18	0.37	0.26	0.27	0.25
Proteína (N x 6.25) %	9.20±	9.31±	8.14±	10.41±	9.40±	8.80±	8.15±	7.91±	8.44±	8.07±	6.78±	7.76±	8.01±
	0.35	0.29	0.11	0.27	0.30	0.11	0.37	0.46	0.27	0.22	0.17	0.19	0.26
Carbohidratos (por diferencia) %	74.09	75.05	75.38	72.54	74.85	70.73	71.83	75.71	72.22	74.89	74.61	75.57	71.95
Fibra cruda %	4.47±	4.33±	4.89±	2.46±	5.12±	2.04±	2.14±	4.99±	0.19±	4.14±	2.10±	5.78±	0.71±
	0.27	0.20	0.12	0.10	0.20	0.13	0.17	0.19	0.01	0.20	0.20	0.39	0.07
Maíz amarillo	1 ^o	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a	11 ^a	12 ^a	13 ^a
Humedad %	11.34±	11.26±	11.61±	11.53±	10.38±	11.88±	11.50±	11.00±	9.00±	9.42±	10.22±	9.01±	9.58±
	0.31	0.38	0.48	0.32	0.25	0.35	0.16	0.24	0.35	0.11	0.22	0.28	0.21
Cenizas %	1.45±	1.31±	1.38±	1.31±	1.38±	1.32±	1.11±	1.05±	0.98±	1.49±	1.60±	1.08±	1.35±
	0.29	0.27	0.31	0.21	0.22	0.15	0.10	0.09	0.07	0.10	0.12	0.10	0.06
Grasa %	3.93±	4.33±	5.19±	4.05±	3.37±	3.83±	2.87±	3.51±	5.51±	4.16±	3.88±	3.95±	4.71±
	0.11	0.26	0.38	0.35	0.17	0.12	0.24	0.27	0.25	0.37	0.20	0.21	0.13
Proteína (N x 6.25) %	10.43±	8.92±	9.32±	8.81±	8.52±	9.21±	8.29±	8.74±	9.10±	8.78±	9.90±	9.18±	10.23±
	0.13	0.38	0.29	0.27	0.31	0.35	0.35	0.26	0.29	0.17	0.28	0.27	0.18
Carbohidratos (por diferencia) %	72.85	74.18	72.50	74.30	76.35	73.76	76.23	75.70	75.41	76.15	74.40	76.78	74.13
Fibra cruda %	1.48±	1.49±	1.81±	1.69±	3.05±	1.49±	4.83±	1.62±	1.94±	3.03±	6.26±	2.00±	2.07±
	0.02	0.07	0.10	0.07	0.11	0.12	0.02	0.14	0.18	0.37	0.21	0.13	0.17

TESTIGOS	T1	T2	T3
Humedad %	11.83±	9.36±	8.38±
	0.37	0.19	0.15
Cenizas %	1.04±	1.05±	1.39±
	0.21	0.17	0.07
Grasa %	6.35±	5.96±	4.82±
	0.45	0.24	0.11
Proteína (N x	8.11±	8.66±	7.39±
6.25) %	0.27	0.17	0.28
Carbohidratos	72.67	74.97	78.02
(por diferencia) %			
Fibra cruda %	0.43±	0.63±	0.39±
	0.03	0.07	0.03

En las Líneas de maíz amarillo no mejorado (NO QPM) la mayoría de las muestras se clasificaron como México 4 y como fuera de norma (FN), en las Líneas de maíz blanco no mejorado la mayoría de las muestras se clasificaron como fuera de norma (Tabla 8).

Tabla 8. Características físicas en maíz no mejorado (NO QPM, NMX-FF-034-1995-SCFI).

Muestras de maíz amarillo	No de muestra de maíz	Grupo y peso de muestra compuesta (kg)	Daños por hongos (%) y Color
TL99B67131-24 (Mex 4)	9	1	6.3-7.3
TL99B67131-97 (Mex 4)		1.0	
TL99B67131-38 (FN)	4	2	3.3-4.9
TL99B67131-40 (Mex 4)		1.5	
TL99B67131-67 (FN)			
TL99B67131-1 (Mex 4)	8	3	6.4-6.6
TL99B67131-12 (FN)		1.0	
TL99B67131-28 (Mex 4)	3	4	3.3-4.1
TL99B67131-47 (Mex 2)		1.5	
TL99B67131-71 (Mex 4)			
TL99B67131-71 (Mex 4)	10	5	6.4-6.8
TL99B67131-64 (FN)		1.0	
TL99B67131-14 (Mex 3)	6	6	4.1-5.6
TL99B67131-70 (Mex 3)		1.5	
TL99B67131-78 (Mex 3)			
Muestras de maíz blanco		Grupo y peso de muestra compuesta (kg)	Daños por hongos (%) y Color
TL99B67121-14 (FN)	12	I	8.2-9.5
TL99B67121-38 (FN)		1.5	
TL99B67121-50 (FN)			
TL99B67121-51 (FN)			
TL99B67121-67 (FN)			
TL99B67121-60 (FN)			
TL99B67121-1 (FN)	2	II	1.3-2.0
TL99B67121-5 (FN)		1.25	
TL99B67121-20 (Mex 2)			
TL99B67121-22 (FN)			
TL99B67121-46 (FN)			

Continuación **Tabla 8**

Muestras de Maíz blanco	No muestra de maíz	Grupo y peso de muestra compuesta (kg)	Daños por hongos (%) y Color
TL99B67121-9 (Mex 2)	1	III	1.3-1.6
TL99B67121-25 (FN)		0.75	
TL99B67121-41 (Mex 3)			
TL99B67121-15 (FN)	11	IV	7.4-8.1
TL99B67121-17 (FN)		1.0	
TL99B67121-62 (FN)			
TL99B67121-71 (Mex 3)			
TL99B67121-8 (FN)	5	V	2.6-3.7
TL99B67121-32 (Mex 3)		1.75	
TL99B67121-47 (FN)			
TL99B67121-58 (Mex 3)			
TL99B67121-65 (Mex 3)			
TL99B67121-61 (Mex 3)			
TL99B67121-63 (FN)			
TL99B67121-4 (FN)	7	VI	4.3-5.6
TL99B67121-7 (FN)		1.5	
TL99B67121-11 (Mex 3)			
TL99B67121-42 (FN)			
TL99B67121-55 (FN)			
TL99B67121-66 (FN)			

Las claves TL99B67121-X' y TL99B67131-Y' significan que son muestras de maíz blanco y amarillo normales respectivamente, es decir, no han sido mejoradas para un mayor contenido de proteína, sin embargo, es maíz con resistencia a *Fusarium*.

FN = Fuera de norma, M1 = México 1, M2 = México 2, M3 = México 3, M4 = México 4 de acuerdo a la Norma NMX-FF-034-1995-SCFI.

Tabla 9. Análisis químico proximal en muestras de maíz no mejorado (no QPM, AOAC, 1995).

No. Muestra de maíz y grupo	% Humedad	% Cenizas	% Grasa	% Proteína	%Fibra curda	% Carb. (por diferencia)
1-III**	14.02 ± 0.27	1.40 ± 0.07	4.18 ± 0.16	10.98 ± 0.37	3.33 ± 0.13	80.12
2-II	13.35 ± 0.27	1.21 ± 0.07	4.10 ± 0.16	11.14 ± 0.26	2.89 ± 0.15	80.67
3-4	12.4 ± 0.37	1.30 ± 0.07	3.58 ± 0.15	12.02 ± 0.36	2.92 ± 0.05	80.17
4-2	12.85 ± 0.31	1.45 ± 0.03	2.62 ± 0.18	10.77 ± 0.36	3.02 ± 0.12	82.15
5-V	14.36 ± 0.28	1.39 ± 0.05	3.43 ± 0.20	12.23 ± 0.25	1.91 ± 0.13	81.04
6-6*	12.13 ± 0.37	1.19 ± 0.04	7.02 ± 0.17	9.48 ± 0.35	3.21 ± 0.15	79.09
7-VI	13.31 ± 0.22	2.19 ± 0.03	4.05 ± 0.30	11.82 ± 0.11	1.72 ± 0.10	81.15
8-3	13.79 ± 0.11	1.43 ± 0.07	3.32 ± 0.15	11.38 ± 0.26	2.90 ± 0.13	80.98
9-1*	12.83 ± 0.33	1.46 ± 0.08	2.52 ± 0.27	11.70 ± 0.35	2.66 ± 0.19	96.37
10-5	12.73 ± 0.22	1.35 ± 0.05	7.02 ± 0.16	9.06 ± 0.26	2.62 ± 0.27	79.94
11-IV	13.92 ± 0.33	1.31 ± 0.03	3.55 ± 0.27	10.68 ± 0.37	2.04 ± 0.15	82.41
12-I**	12.93 ± 0.27	1.37 ± 0.07	4.03 ± 0.22	11.31 ± 0.27	3.18 ± 0.17	80.11

Grupos con Números arábigos* = Maíz amarillo, Grupos con números romanos = **Maíz blanco

Una vez que se habían agrupado y caracterizado todas las muestras (Tablas 6 a 9) se procedió a determinar el contenido de fumonisinas B₁ y B₂ por cromatografía de líquidos o HPLC (Tablas 12 y 13).

4.2 Análisis por cromatografía de líquidos (HPLC)

4.2.1 Curvas de calibración con estándares de fumonisinas (B₁ y B₂)

Los coeficientes de correlación obtenidos son de 0.998 en FB₁ y de 0.999 en FB₂ demostrándose así una respuesta lineal, el tiempo de retención promedio de la FB₁ fue de 6.86 ± 0.71, y en la FB₂ de 15.04 ± 0.75 min (Figs. 7, 8 y 9).

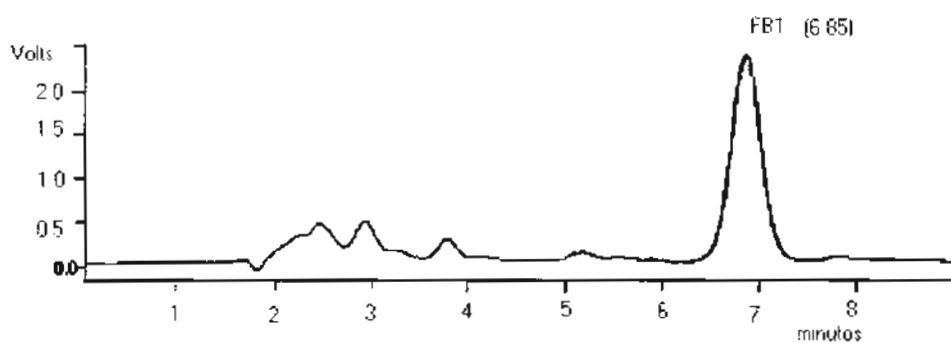


Figura 7. Estándar de Fumonisina B₁ (4 µg/mL). Condiciones en cromatógrafo de líquidos: flujo 1 mL/min, intervalo de los tiempos de retención en FB₁ son de 6.5 a 6.9 min. Fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1M (77+23, v/v). Detector de fluorescencia con λ excitación de 334 nm y λ emisión de 440 nm.

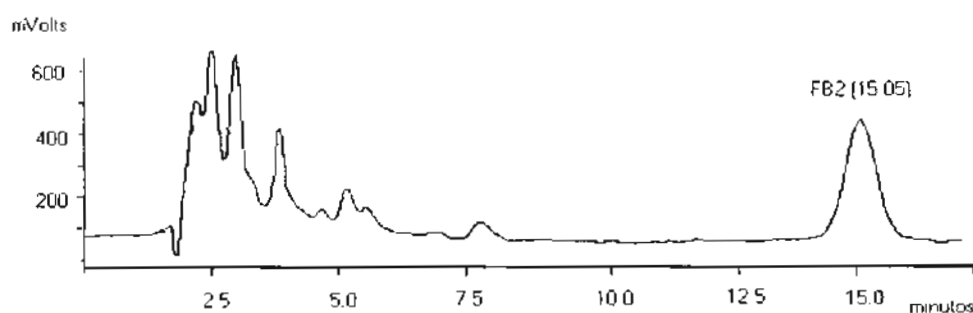
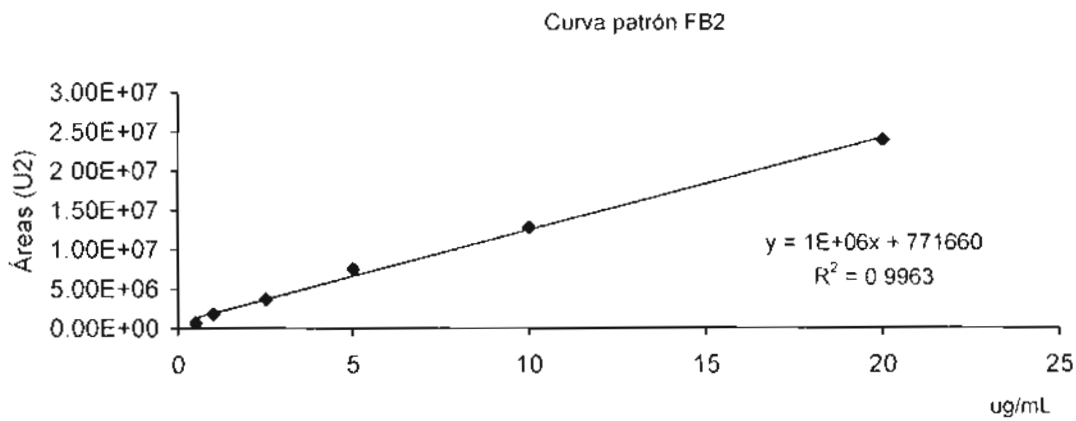
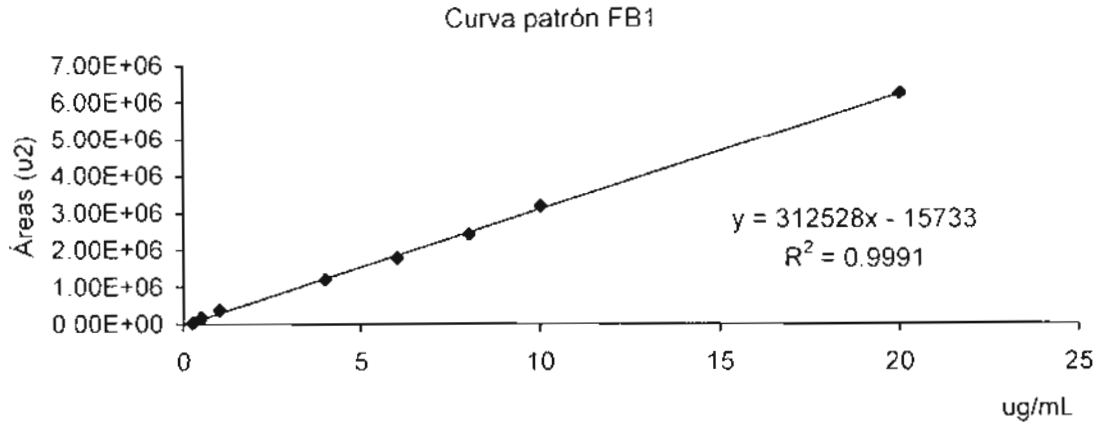


Figura 8. Estándar de Fumonisina B₂ (2 µg/mL). Condiciones en cromatógrafo de líquidos: flujo 1 mL/min, intervalo de los tiempos de retención en FB₂ son de 14.5 a 15.5 min. Fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1M (77+23, v/v). Detector de fluorescencia con λ excitación de 334 nm y λ emisión de 440 nm.

La Figura 9 presenta la linealidad de la determinación de FB₁ y FB₂ con los coeficientes de correlación muy cercanos a la unidad (FB₁, $R^2 = 0.9991$ y FB₂, $R^2 = 0.9963$).



Concentración FB ₁ (µg/mL)	Área (U ²) FB ₁	Concentración FB ₂ (µg/L)	Área (U ²) FB ₂
0.25	3.23×10^4	0	0
0.5	17.41×10^4	0.5	69.30×10^4
1.0	38.05×10^4	1.0	179.23×10^4
4.0	119.50×10^4	2.5	370.31×10^4
6.0	178.56×10^4	5.0	750.34×10^4
8.0	241.79×10^4	No determinada	No determinada
10.0	319.08×10^4	10.0	1271.15×10^4
20.0	624.62×10^4	20.0	2385.05×10^4

Cada una de las determinaciones se realizó por triplicado

Figura 9 Curvas de calibración de FB₁ y FB₂. Método OPA, columna C18, (150 x 4.6 mm d.i.) de partículas esféricas. Flujo 1 mL/min, Tr FB₁ = 6.80 a 6.93 min, Tr FB₂ = 14.92 a 15.15 min fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1 M (77+23, v/v), pH 3.3. Detector de fluorescencia λ excitación 334 nm y λ emisión 440 nm.

En el análisis de fumonisinas B₁ y B₂ los límites de detección encontrados fueron de 0.06 µg/mL y 0.02 µg/mL, los tiempos de retención son de 6.86 ± 0.71 minutos y de 15.04 ± 0.75 minutos respectivamente. Como se puede observar en las tablas 10 y 11 las replicas en las determinaciones del contenido de fumonisinas de una muestra dieron un intervalo de precisión de ± 10 % (8.22 y 7.85 % respectivamente).

Tabla 10. Precisión con una solución estándar de FB₁ a 30 µg/mL

Tiempo de retención (tr) min	Áreas bajo la curva
6.86	968.20 x 10 ⁻⁴
6.86	1052.88 x 10 ⁻⁴
6.80	985.22 x 10 ⁻⁴
6.93	1165.56 x 10 ⁻⁴
6.83	1132.70 x 10 ⁻⁴
Promedio 6.86	1060.91 x 10⁻⁴
Desviación estándar (s) = 0.049	87.31 x 10⁻⁴
Coeficiente de variación	
c.v = (s/promedio)100 = 0.71	8.22

Tabla 11. Precisión con una solución estándar de FB₂ a 1 µg/mL

Tiempo de retención (tr) min	Áreas bajo la curva
15.15	191.71 x 10 ⁻⁴
15.06	179.25 x 10 ⁻⁴
14.92	163.78 x 10 ⁻⁴
Promedio = 15.04	178.25 x 10⁻⁴
Desviación estándar (s) = 0.11	14.00 x 10⁻⁴
Coeficiente de variación	
c.v = (s/promedio)100 = 0.75	7.85

El porcentaje de recuperación de la extracción de fumonisina B₁ fue de 62.00 - 86.19%, y en la fumonisina B₂ de 84.00 - 90% ambos valores están dentro del intervalo mencionado en la literatura que va del 47.00% hasta el 97.00% (Bata y Radomir, 1999). Se observa notable diferencia entre una muestra y otra en el contenido de fumonisinas probablemente a que existe diferencia genética entre un individuo y otro lo que les confiere a cada uno resistencia al *F.verticillioides*, sin embargo, en las muestras analizadas el contenido de fumonisina B₁ es aproximadamente tres veces mayor que el de la fumonisina B₂. En todas las determinaciones se trabajó con una columna C18 con una eficiencia del 86.39%.

4.2.2. Espectros de masas de estándares de fumonisina B₁

El espectro de masas de un estándar de FB₁ (Figuras 12 b y c) presenta los fragmentos 1426, 722, 704, 678, 633, 586, 564, 546 y 44 m/z, que podrían corresponder a: 1) dímero de la fumonisina B₁ (1426 m/z), el peso molecular de la fumonisina B₁ es de 721.84 g/mol y en el espectro se observa un ión con 722 m/z, 2) anhídrido de uno de los ácidos tricarbálicos de la fumonisina 704 m/z, y 3) FB₁ parcialmente hidrolizada (PHFB₁) y el anhídrido de la PHFB₁ 546 y 564 m/z respectivamente. Lo anterior concuerda con los estudios realizados por Bartók *et al* (2006), los cuales proponen la fragmentación de la FB₁ realizada en cromatografía de líquidos fase reversa acoplado a un espectrómetro de masas con ionización por electroespray y trampa de iones (RP-HPLC/ESI-IT-MS por sus siglas en Inglés, reversed-phase high-performance liquid chromatography / electroespray ionization ion trap multistage mass spectrometry) basándose en la pérdida de agua (18 m/z), de los ácidos tricarbálicos (176 m/z) y, de los correspondientes anhídridos de los ácidos tricarbálicos (158 m/z). Sin embargo, el espectro de masas (FAB +) obtenido en el estudio muestra además otros fragmentos (678, 633 y 586 m/z), los cuales posiblemente corresponden a los productos formados después de varias descarboxilaciones lo que generaría CO₂,

el fragmento 44 m/z confirma que la ionización genera descarboxilaciones en la fumonisina (Figuras 10 - 13).

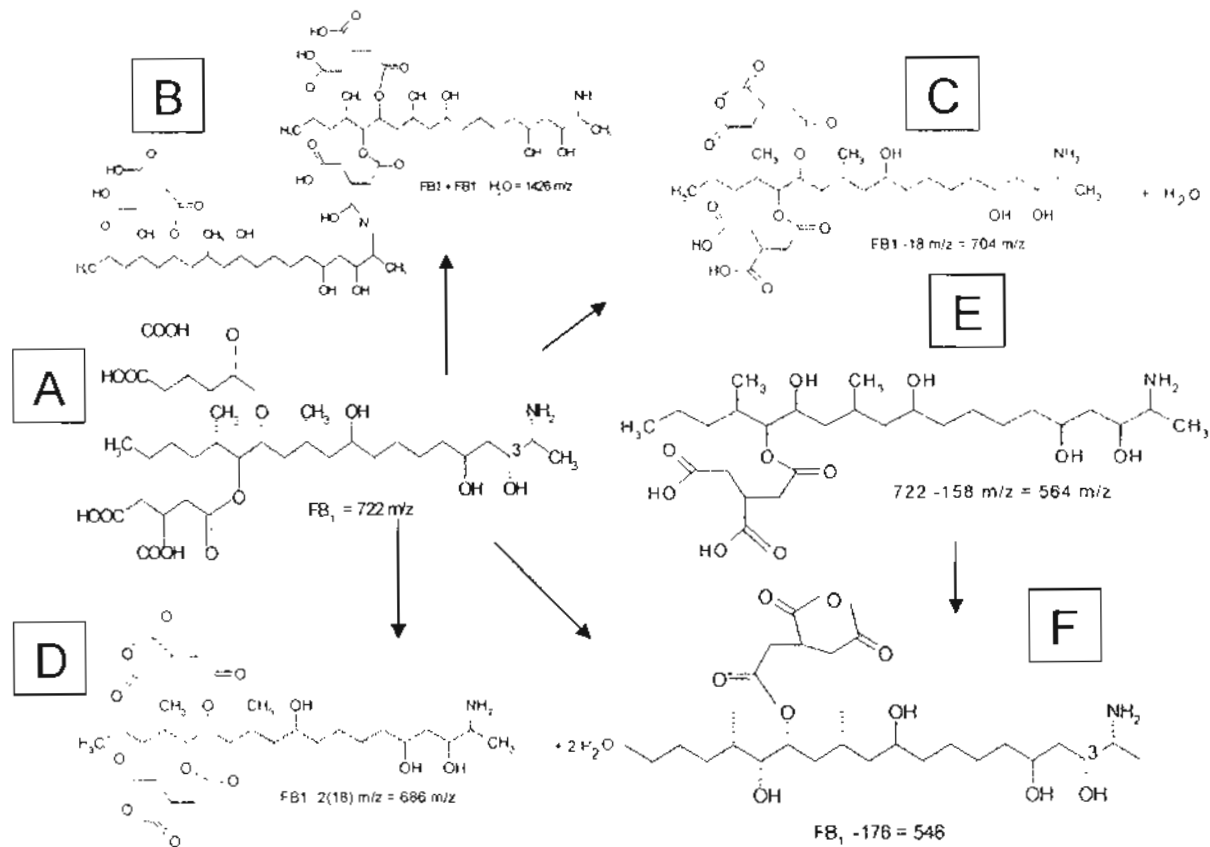
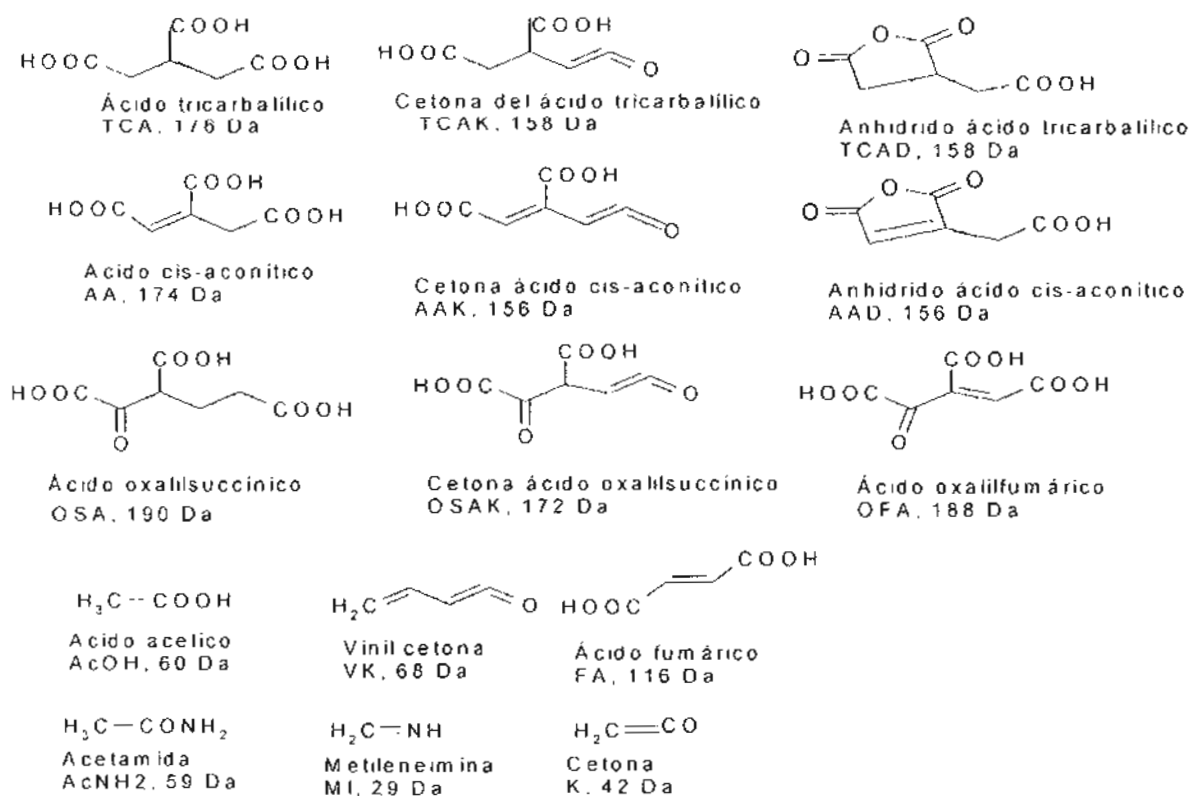


Figura 10. Estructuras probables de los fragmentos formados en la ionización del análisis de masas (FAB) de fumonisina B₁. (A) fumonisina B₁, 722 m/z; (B) dímmero de fumonisina B₁, 1426 m/z; (C) anhídrido del ácido de uno de los ácidos tricarbálicos de la fumonisina B₁, 704 m/z; (D) anhídridos de los ácidos tricarbálicos de la fumonisina B₁, 686 m/z; (E) FB₁ parcialmente hidrolizada (PHFB₁), 564 m/z; (F) anhídrido del ácido tricarbálico de la PHFB₁, 546 m/z (Bartók *et al.*, 2006).



722	-158	564	-158	406		
-18	176	-18	-176	-18		
704	-158	546	-158	388		
-18	-176	-18	-176	-18		
686	-158	528	-158	370		
-18	-176	-18	-176	-18		
668	-158	510	-158	352		
-18	-176	-18	-176	-18		
650	-158	492	-158	334		
-18	-176	-18	-176	-18		
632	-158	474	-158	316	-17	299

Figura 11. Fragmentos formados en la ionización del análisis de masas de fumonisina B₁ (Bartók *et al* 2006)

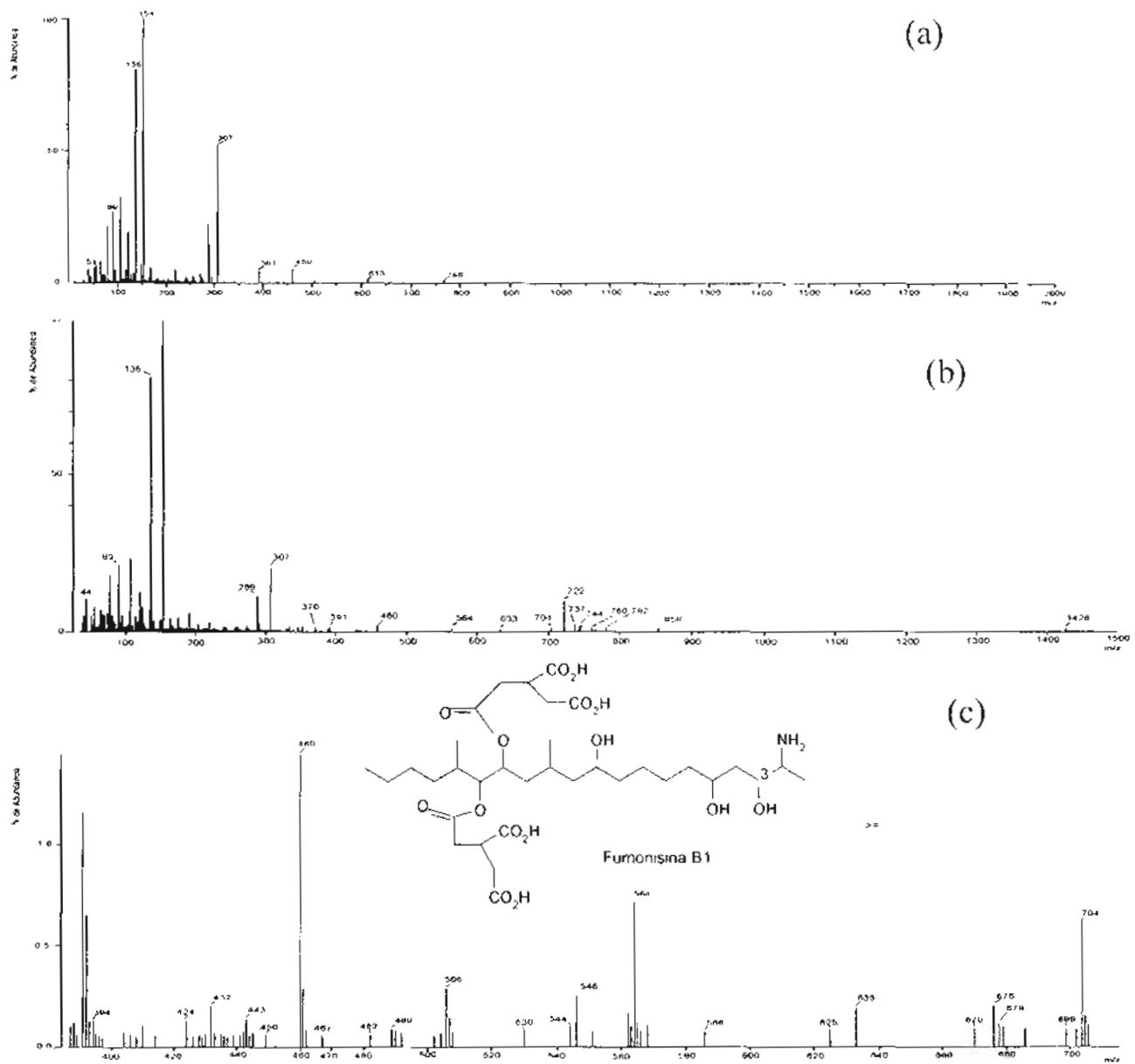


Figura 12. Espectros de masas (a) Alcohol nitrobenílico; (b) Estándar de FB₁; (c) Estándar de FB₁ (acercamiento a los fragmentos de 390 a 710 m/z).

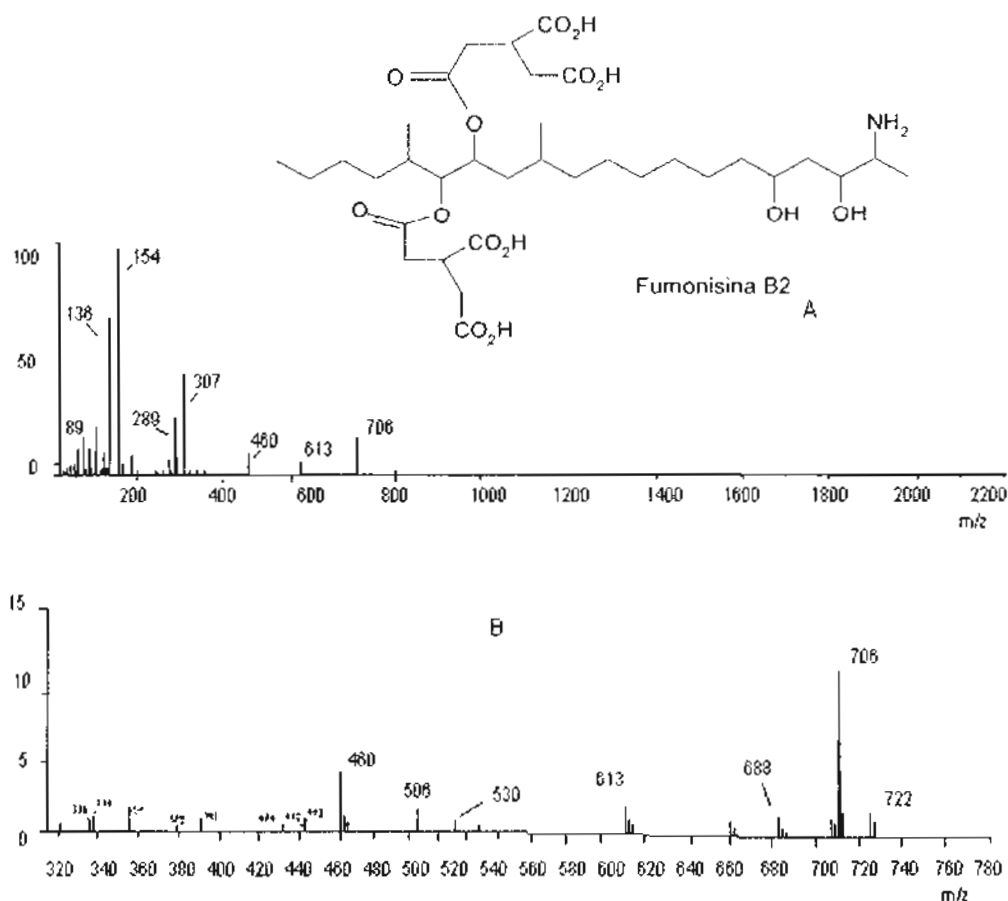


Figura 13. Espectro de masas de estándar de FB₂, (A) en el cual se observa el ión molecular de la FB₂ con un m/z de 706 y abundancia del 10 al 15%. Estándar de FB₂ (B) acercamiento a los fragmentos de 320 a 780 m/z).

4.2.3 Contenido de fumonisinas en muestras de maíz mejorado y no mejorado

Una vez que se han determinado los contenidos de fumonisinas, proteínas y daños por hongos en la totalidad de las muestras, se observa que hay intervalos muy amplios en las concentraciones de FB₁ en maíz mejorado (amarillo de 0.19 – 59.15 mg/kg y blanco de 0.54 – 121.0 mg/kg), no así para el maíz no mejorado (amarillo de 3.53 – 11.39 mg/kg y blanco de 3.83 – 20.87mg/kg). Además, no existe correlación entre estos tres factores, conforme el contenido de fumonisina B₁ aumenta se presentan niveles altos y bajos de los daños por hongos, en cuanto

al contenido de proteína se encuentra en un intervalo del 8 al 10% para todas las muestras y aparentemente no se afecta cuando los niveles de fumonisinas son altos o bajos, y no existe un comportamiento lineal al estar combinados entre ellos (Figs. 14 y 15). Este comportamiento sugiere la existencia de híbridos con diferente susceptibilidad a la infección por *F. verticillioides* y además, tendencias diferentes en la acumulación de fumonisinas en campo (Pascale *et al.*, 1997).

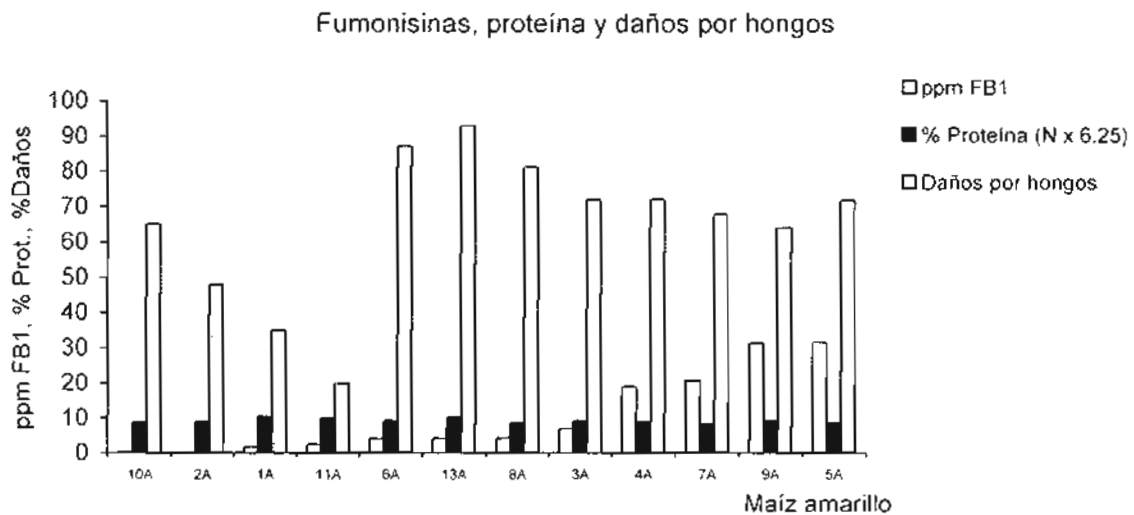


Figura 14. FB₁, proteínas y daños por hongos en maíz amarillo QPM

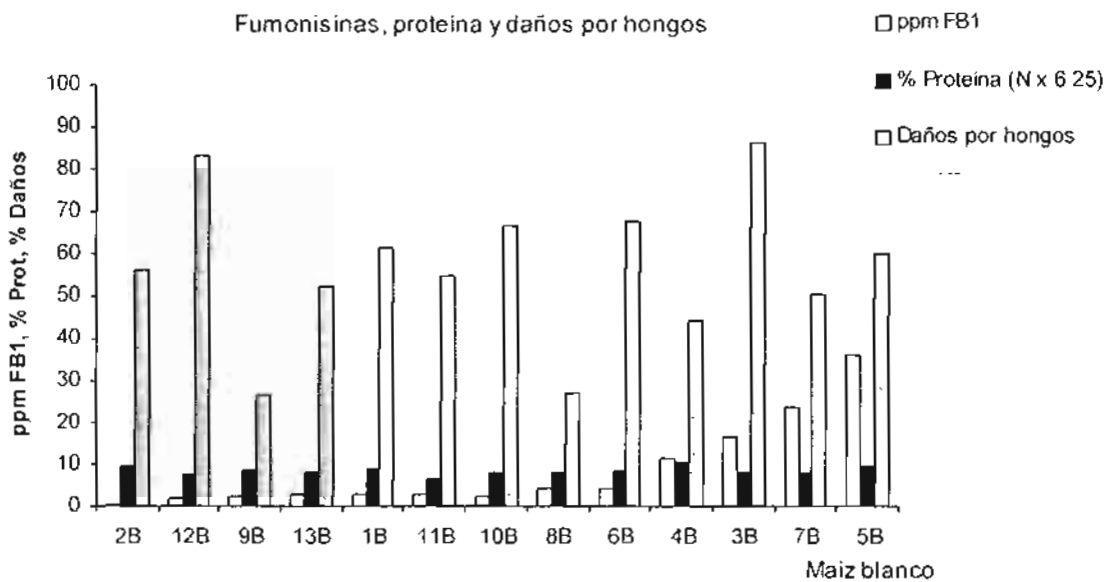


Figura 15. FB₁, proteínas y daños por hongos en maíz blanco QPM

Este comportamiento es similar, independientemente si se trata de maíz mejorado (QPM) blanco o amarillo. En ambos casos los niveles de fumonisina B₂ son bajos y se encuentran en un intervalo de 0.89 a 2.57 mg/Kg (Tabla 12).

Tabla 12. Contenido de FB₁ y FB₂ en muestras de maíz mejorado (QPM) en orden de contenido de FB₁

Muestra de maíz amarillo	FB₁ (mg/kg maíz)	FB₂ (mg/kg maíz)
10 A	0.185 ± 0.96	No detectado
2A	0.186 ± 0.96	No detectado
1A	1.77 ± 0.96	No detectado
11A	2.37 ± 0.71	No detectado
6A	4.02 ± 1.74	No detectado
13A	4.17 ± 1.74	No detectado
8A	4.23 ± 1.74	No detectado
3A	6.92 ± 1.74	No detectado
12A	7.64 ± 1.74	No detectado
4A	18.82 ± 2.54	No detectado
7A	20.72 ± 2.54	2.05 ± 0.52
9A	31.37 ± 2.2	2.57 ± 0.9
5A	31.60 ± 2.2	2.35 ± 0.78
Muestra de maíz blanco		
2B	0.62 ± 0.53	No detectado
12B	1.92 ± 0.53	No detectado
9B	2.31 ± 0.31	0.89 ± 0.3
13B	2.67 ± 0.31	No detectado
1B	2.71 ± 0.31	No detectado
11B	2.93 ± 0.31	No detectado
10B	2.46 ± 0.39	No detectado
8B	4.13 ± 0.39	No detectado
6B	4.27 ± 0.74	2.30 ± 0.70
4B	11.29 ± 3.29	2.50 ± 0.93
3B	16.44 ± 3.29	2.34 ± 0.56
7B	23.71 ± 3.16	2.57 ± 0.8
5B	36.18 ± 3.16	1.75 ± 0.56

En el caso de las muestras de maíz blanco y amarillo no mejorado (no QPM, Tabla 13), presentan niveles menores (3.83 a 20.87 mg/Kg y 3.53 a 11.39 mg/Kg de FB₁ respectivamente) comparadas con las líneas blancas y amarillas QPM

(Tabla 12). Los niveles de FB₂ como se observa siguen siendo bajos tanto para las blancas (1.02 a 7.03) como para las amarillos (1.32 a 3.90 mg/Kg).

Tabla 13. Contenido de FB₁ y FB₂ en muestras de maíz blanco y amarillo no mejorado (no QPM).

No. muestra	Grupo de maíz blanco	FB ₁ (mg/kg maíz)	FB ₂ (mg/kg maíz)
1	III (hongos 1.3 a 1.6 %)	3.83 ± 0.30	1.02 ± 0.15
2	II (hongos 1.3 a 2%)	5.64 ± 0.46	1.92 ± 0.12
12	I (hongos 8.2 a 9.5%)	7.75 ± 0.36	2.67 ± 0.17
7	VI (hongos 4.3 a 5.6%)	9.51 ± 1.29	3.51 ± 0.62
5	V (hongos 2.6 a 3.7%)	12.33 ± 0.96	4.62 ± 0.47
11	IV (hongos 7.4 a 8.1%)	20.87 ± 1.87	7.03 ± 0.66
No. muestra	Grupo de maíz amarillo	FB ₁ (mg/kg maíz)	FB ₂ (mg/kg maíz)
3	4 (hongos 3.3 a 4.1%)	3.53 ± 0.34	1.32 ± 0.17
4	2 (hongos 3.3 a 4.9%)	4.33 ± 0.25	1.60 ± 0.15
6	6 (hongos 4.1 a 5.6%)	7.02 ± 0.4	2.19 ± 0.25
8	3 (hongos 6.4 a 6.6%)	10.67 ± 1.17	3.84 ± 0.36
10	5 (hongos 6.4 a 6.8%)	11.33 ± 2.11	3.90 ± 1.01
9	1 (hongos 6.3 a 7.3%)	11.39 ± 1.07	3.92 ± 0.36

La presencia de las fumonisinas (B₁ y B₂) en las muestras de maíz inoculadas en campo con *Fusarium*, se confirma en los cromatogramas y en los espectros de masas de estándares de FB₁ y FB₂, y del maíz. Como se observa, el ión molecular de cada uno tiene una abundancia del 10 al 20% con un m/z de 722 y 706 respectivamente (Figs. 16 y 17).

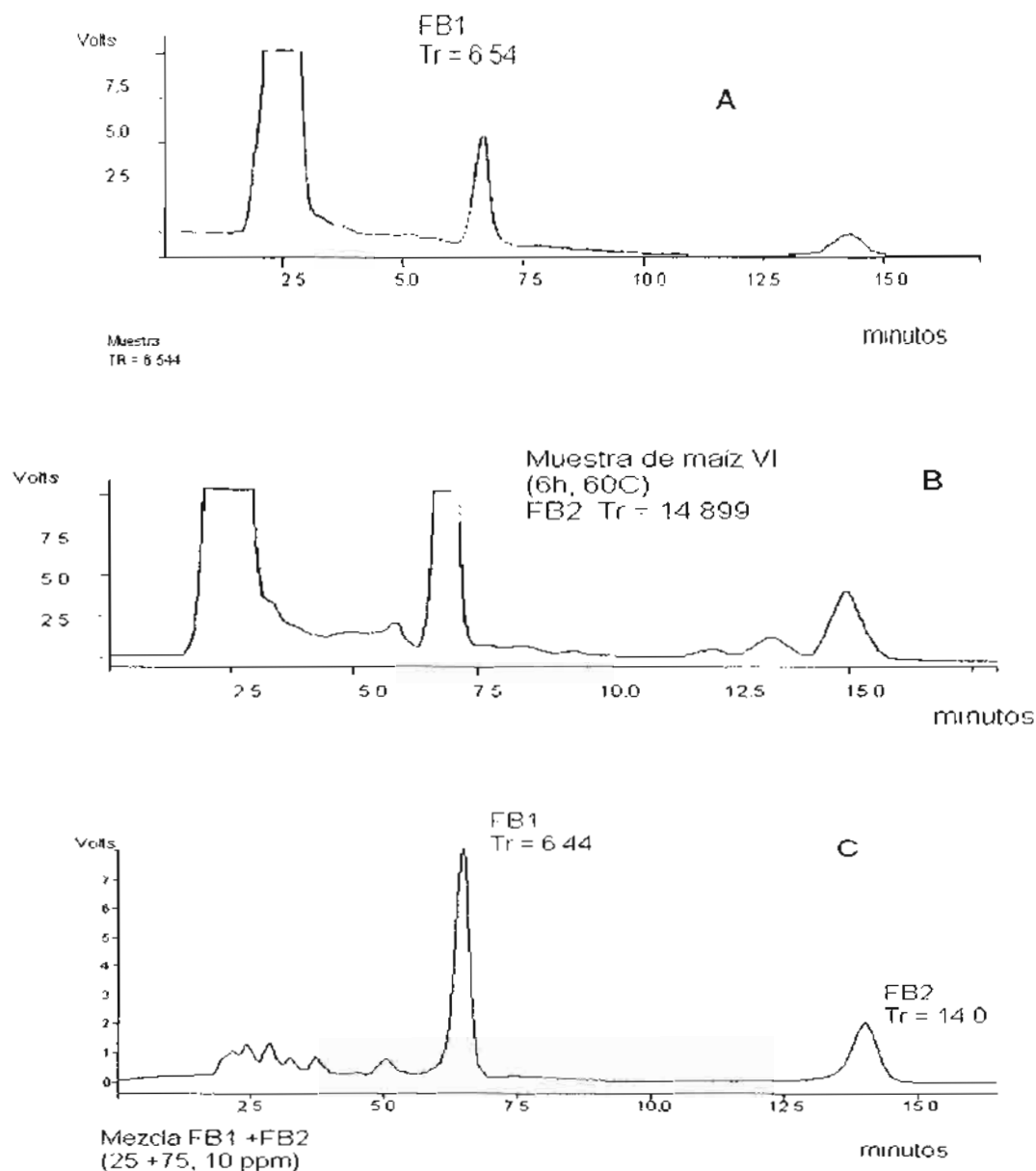


Figura 16. Fumonisin (B₁ y B₂) en muestra de harina de maíz (Tabla 9, maíz blanco no mejorado, 4.05% grasa) inoculadas en campo (A y B). Estándar de Fumonisin (B₁ + B₂, 25+75) a 10 µg/mL (C). Condiciones en cromatógrafo de líquidos: flujo 1 mL/min, tiempo de retención FB₁ = 6.44 min y FB₂ = 14.01 min. Fase móvil metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1M (77+23, v/v). Detector de fluorescencia con λ excitación de 334 nm y λ emisión de 440 nm.

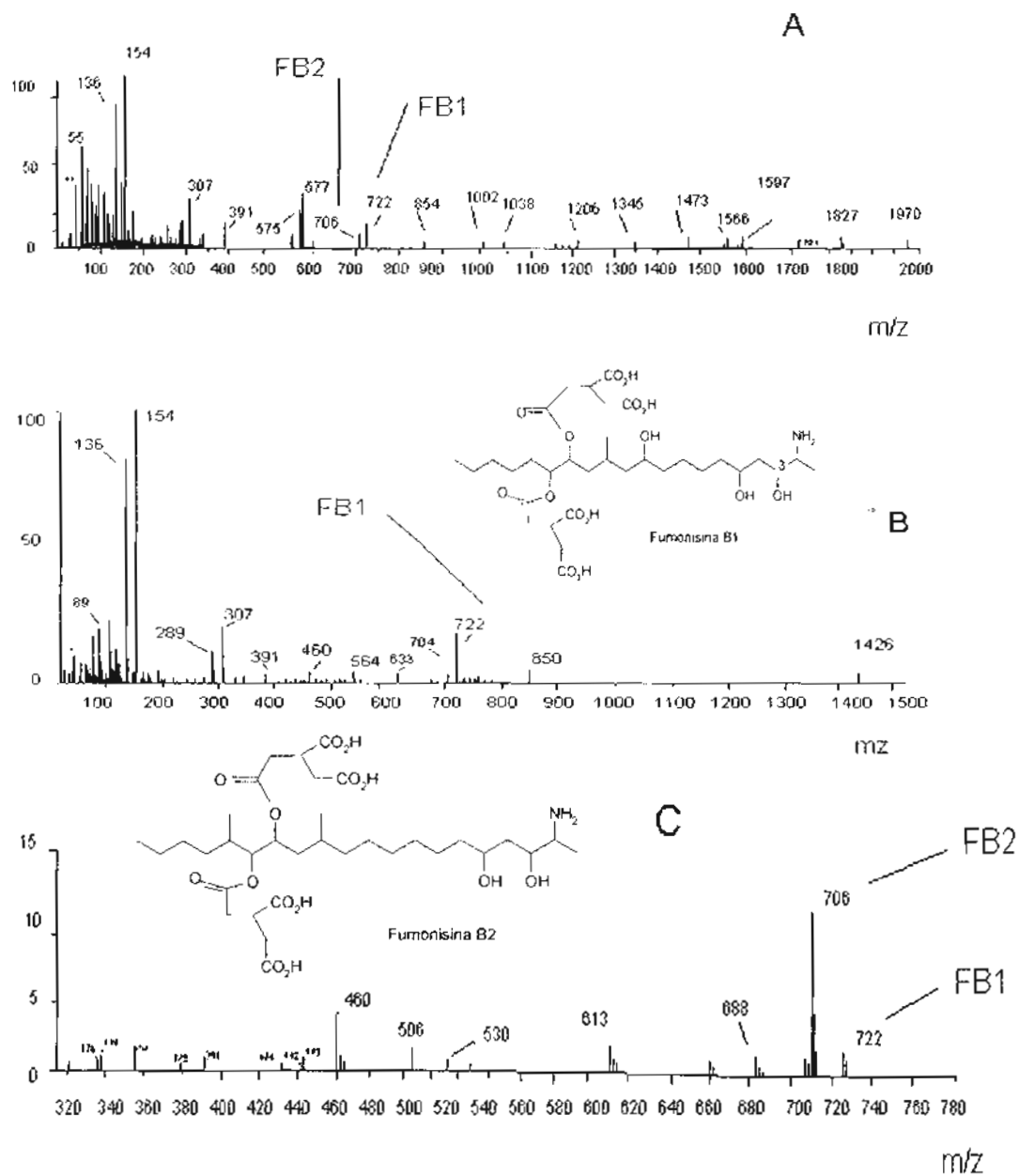
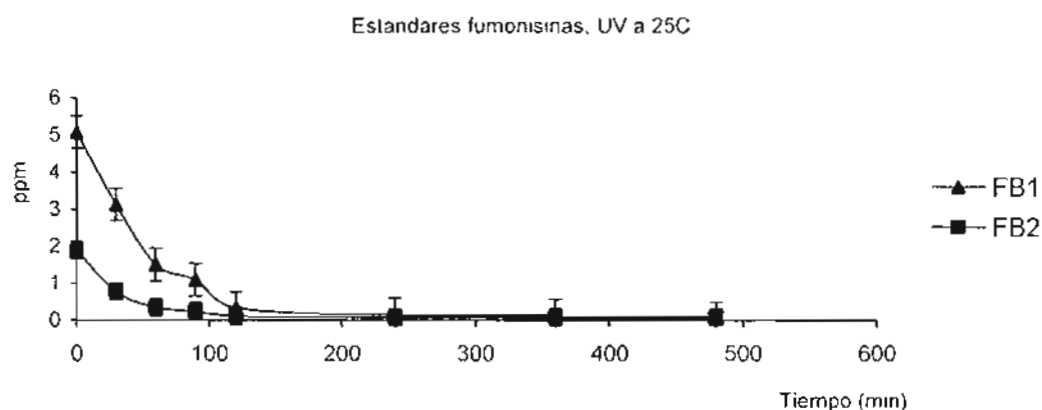


Figura 17. Espectro de masas (FAB+), de muestras de harina de maíz (Tabla 9, maíz blanco no mejorado, 4.05% grasa) inoculadas en campo con *Fusarium* en el cual se confirma la presencia de FB₁ y FB₂ (A) y espectro de masas de estándares de fumonisinas B₁ y B₂ (B, C) en los que se presenta el ión molecular de cada una de ellas m/z de 722 y 706 respectivamente con abundancia superior al 10%.

4.3 Efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en la estabilidad de estándares de fumonisinas (B₁ y B₂)

El método de Sydenham *et al.*, (1996) se empleó para monitorear los efectos de la radiación UV sobre los estándares puros de las fumonisinas B₁ y B₂, las Figuras vs Tablas, 18 y 19 muestran los resultados para la descomposición de FB₁ y FB₂ a 25°C en intervalos de tiempo de 0 a 480 minutos.

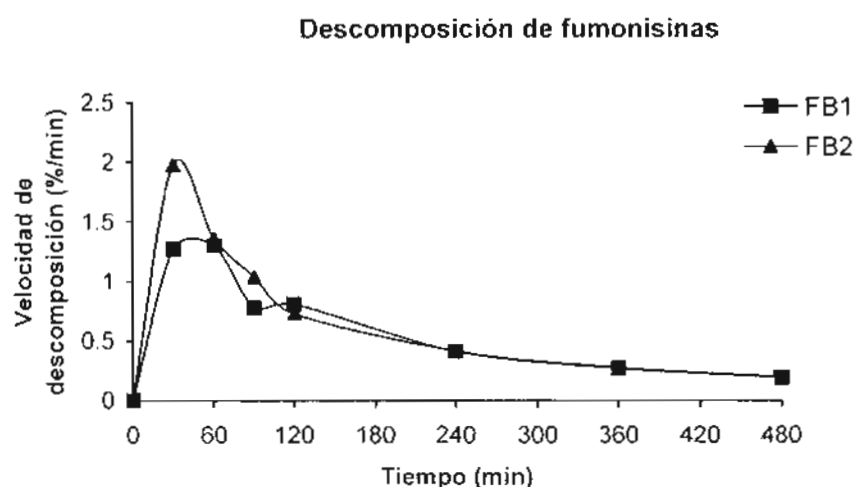


Tiempo (min.)	Concentración remanente (µg/mL)		Reducción de la concentración (%)	
	FB ₁	FB ₂	FB ₁	FB ₂
0	5.08±0.44	2.93± 0.23	0.00	0.00
30	3.13± 0.03	0.78± 0.04	38.38	73.37
60	1.10± 0.05	0.35±0.05	78.34	88.05
90	1.51± 0.20	0.12± 0.07	70.27	95.90
120	0.13± 0.03	0.24± 0.05	97.44	91.80
240	0.04±0.02	0.00	99.21	100.00
360	0.16± 0.04	0.00	96.85	100.00
480	0.33± 0.06	0.08± 0.02	93.50	97.26

Figura vs Tabla, 18. Efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en estándares de FB₁ y FB₂ a 25°C (a 3.0 cm de la lámpara UV de inmersión de presión media de mercurio Conrad-Hanovia ACE glass).

Si consideramos el efecto global del tratamiento (480 min) con radiación UV el porcentaje de descomposición de FB₁ fue de 93.50% y a los 240 min en la FB₂ fue de 100% (Figura vs Tabla, 18).

En ambos casos el efecto es notorio y drástico en los primeros minutos (30-60 min), sin embargo, comparando la velocidad de descomposición de ambas fumonisinas (Figura vs Tabla, 19), podemos observar que la descomposición de la FB₂ es mayor comparada con la velocidad de descomposición de la FB₁, con un máximo a los 60 min (1.31 % descomposición/min) en la FB₁ y a los 30 min en la FB₂ (2.45 % descomposición/min). Después de ese tiempo presentan velocidades muy similares.



Tiempo (min)	Velocidad (% descomposición / min) FB ₁	Velocidad (% descomposición / min) FB ₂
0	0	0
30	1.28	2.45
60	1.31	1.47
90	0.78	1.07
120	0.81	0.77
240	0.41	0.42
360	0.27	0.28
480	0.19	0.20

Figura vs Tabla, 19. Velocidad de descomposición de estándares de fumonisinas (FB₁ y FB₂) expuestas a radiación UV ($\lambda = 380$ nm) a 25 °C.

De acuerdo con Gould (1959) en Jackson *et al.*, 1996 b, donde indican que la hidrólisis ácida de ésteres presenta un comportamiento de una reacción de pseudo primer orden y que la hidrólisis básica de ésteres es una reacción de segundo orden. Pero que, la hidrólisis básica de ésteres en una solución amortiguadora podría llegar a seguir el comportamiento de una cinética de pseudo primer orden, cuando la concentración del ion hidróxido (un reactante en la reacción de hidrólisis) permanezca constante. En el caso del estudio realizado se maneja un sistema con metanol-fosfato monobásico de sodio 0.1 M (77:23, v/v) que podría mantener constante la concentración del ión hidroxilo lo cual favorecería que se lleve a cabo una cinética de pseudo primer orden como se mencionó anteriormente.

Los resultados obtenidos para una cinética de pseudo primer orden (Jackson *et al.*, 1996 a y b) a 25 °C indican que se lleva a cabo una rápida descomposición de FB₁ (k = 20.23 x 10⁻³ min⁻¹ a los 60 min) y FB₂ (k = 29.80 x 10⁻³ min⁻¹ a los 30 min) en los primeros minutos de exposición a la radiación UV en tiempos de vida media de 34.30 min en FB₁ y de 23.25 min en FB₂ (Tabla 14).

Tabla 14. Constantes de reacción (k min⁻¹) y tiempos de vida media (t ½ min) para la descomposición de estándares de FB₁ y FB₂ con radiación UV (λ < 380 nm) a 25°C

Tiempo de tratamiento (min)	k (min ⁻¹)		T ½ (min)		R ²	
	FB ₁	FB ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₁	FB ₂
30	16.16 x 10 ⁻³	29.80 x 10 ⁻³	42.88	23.25	0.98	0.9822
60	20.23 x 10 ⁻³	28.20 x 10 ⁻³	34.30	24.57		
90	16.98 x 10 ⁻³	23.00 x 10 ⁻³	40.81	30.13		
120	22.70 x 10 ⁻³	23.00 x 10 ⁻³	30.52	30.13	0.9614	
240	14.38 x 10 ⁻³	13.20 x 10 ⁻³	48.19	52.5	0.9195	0.8243
360	10.16 x 10 ⁻³	ND	68.20	ND	0.8487	ND
480	10.00 x 10 ⁻³	ND	69.3	ND	0.8976	ND
Promedio	15.80 x 10⁻³	23.40 x 10⁻³	47.78 ±	32.11 ±		
	+ 4.70 x 10⁻³	+ 3.52 x 10⁻³	15.45	11.82		

ND = no determinado

En los primeros 90 min la pérdida de FB_1 a los $25^\circ C$ siguió un comportamiento de una reacción de pseudo primer orden. La ecuación que representa este comportamiento es: $Y = 7.7 \times 10^{-3} X - 0.701$ con un coeficiente de correlación lineal ($R^2 = 0.98$) que indica en este primer segmento la relación directa entre el tiempo de proceso y el log de la fracción remanente de FB_1 . Después de los 90 min, se observó un ligero descenso en la pendiente ($m = 2.4 \times 10^{-3}$), sin embargo, sigue observándose una relación lineal entre el tiempo de proceso y el log de la fracción remanente de FB_1 ($R^2 = 0.9297$, $Y = 2.4 \times 10^{-3} X - 0.1796$) lo cual nos podría indicar que el efecto en esta última etapa fue menos significativo que en la anterior (Fig 20). Si el comportamiento se representa con una sola ecuación se observa un descenso en el coeficiente de correlación lineal ($R^2 = 0.8976$) sin embargo, sigue manteniéndose la tendencia.

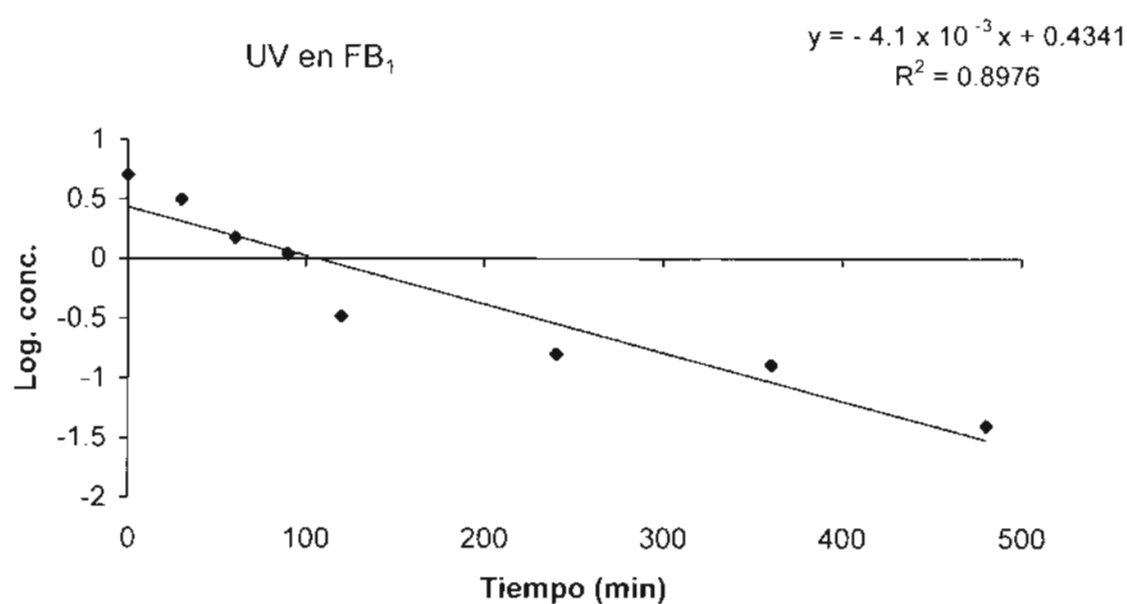


Figura 20. Linealización de datos en el efecto de la radiación UV ($\lambda < 380 \text{ nm}$) en estándar de FB_1 a $25^\circ C$ (a 3.0 cm de la lámpara UV de inmersión de presión media de mercurio Conrad-Hanovia ACE glass)

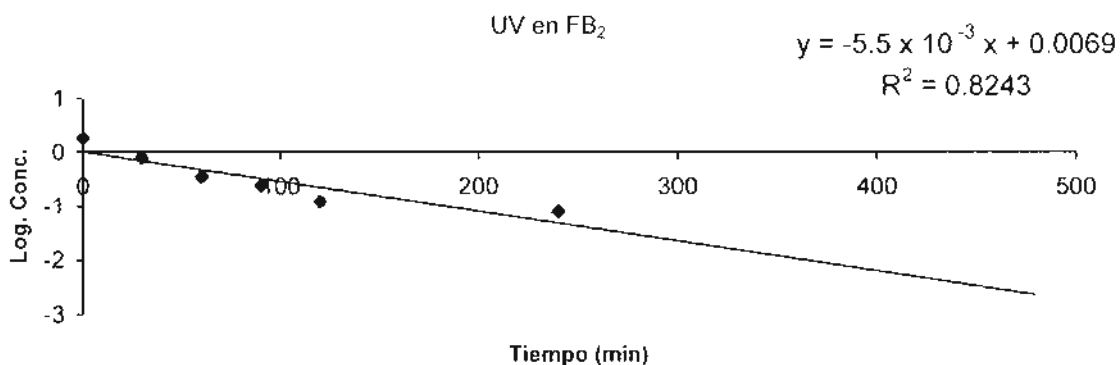


Figura 21. Efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en estándar de FB₂ a 25 °C (a 3.0 cm de la lámpara UV de inmersión de presión media de mercurio Conrad-Hanovia ACE glass).

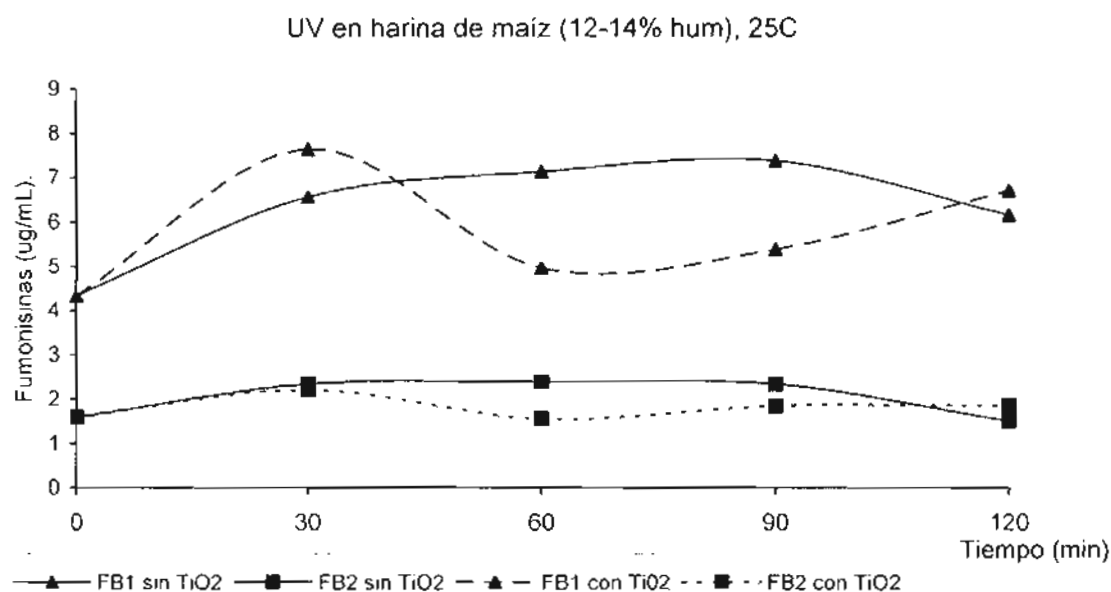
La pérdida de FB₂ a 25°C también sigue un comportamiento de una reacción de pseudo primer orden y se mantiene hasta los 120 min ($Y = -9.7 \times 10^{-3} X + 0.2186$, $R^2 = 0.9822$), después de este tiempo se presenta un descenso en la pendiente ($Y = -5.5 \times 10^{-3} X + 6.9 \times 10^{-3}$, $R^2 = 0.8243$), sin embargo, la relación lineal se conserva (Figura 21) al igual que en el caso de la FB₁. Los resultados anteriores nos indican que la radiación UV ($\lambda < 380$ nm), provoca descensos en las concentraciones de ambas fumonisinas, por lo tanto, se esperarían resultados similares al exponer harinas de maíz contaminadas con fumonisinas a la radiación UV.

4.4. Efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en harina de maíz contaminada en campo con fumonisinas (B₁ y B₂)

Después de que las muestras de harina de maíz habían sido caracterizadas y analizadas para determinar el contenido de fumonisinas (B₁ y B₂) se seleccionaron aquellas muestras de las cuales se tenía suficiente material (maíz blanco y amarillo no mejorado). Dichas muestras se sometieron a radiación UV por intervalos de 0 a 120 min y temperatura de 25.0 °C. Además, se realizaron las pruebas en presencia y ausencia de TiO₂ (1%).

a) Harina de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%)

En ambos casos (con y sin TiO₂) se observan incrementos en la concentración de fumonisinas, debido probablemente a la liberación de éstas del resto de los componentes del maíz (Figura vs Tabla, 22). Sin embargo, en las muestras con TiO₂ las concentraciones de FB₁ y FB₂ alcanzaron los máximos (7.64 µg/mL FB₁ y 2.21 µg/mL FB₂) en los primeros 30 min.



Tiempo (min)	Remanente FB ₁ (µg/mL) sin TiO ₂	Remanente FB ₂ (µg/mL) sin TiO ₂	Remanente FB ₁ (µg/mL) con TiO ₂	Remanente FB ₂ (µg/mL) con TiO ₂
0	4.33 ± 0.11	1.60 ± 0.08	4.33 ± 0.08	1.60 ± 0.08
30	6.57 ± 0.48	2.35 ± 0.21	7.64 ± 0.09	2.21 ± 0.51
60	7.14 ± 0.52	2.39 ± 0.23	4.97 ± 0.83	1.56 ± 0.30
90	7.39 ± 0.10	2.35 ± 0.14	5.39 ± 0.60	1.85 ± 0.26
120	6.16 ± 0.86	1.51 ± 0.16	6.72 ± 0.01	1.85 ± 0.26

Figura vs Tabla, 22. Comportamiento de las muestras de harina de maíz (muestra 4, tabla 9, maíz amarillo no QPM, 2.62% grasa) con bajo contenido de humedad (12-14%) al ser tratadas con radiación UV ($\lambda < 380$ nm).

Después de este tiempo hay incrementos parciales en la concentración de ambas fumonisinas, y un comportamiento discontinuo hasta concluir el tratamiento (120 min). En aquellas muestras sin TiO₂ la radiación UV de igual forma favorece la disponibilidad de las fumonisinas, sin embargo, los incrementos más significativos que se obtienen son a los 90 (7.39 µg/mL FB₁) y 60 min (2.39 µg/mL FB₂).

Comparando el comportamiento que se presenta en el estudio, con los reportados por varios investigadores en los cuales indican que el almidón durante la exposición a radiación UV/TiO₂ (oxidación fotocatalítica), no solamente sufre de ruptura de las cadenas sino también una distorsión en la distribución del peso molecular (Erlandsson *et al.*, 1997) y además, hacen énfasis en que al agregar un agente oxidante al almidón hay mayor formación de radicales. En los estudios realizados por Fiedorowicz *et al.* (1999), indican que esto se ve reflejado en los cambios que hay en la entalpía de transición (ΔH), viscosidad (P_v), peso molecular (M_w) y radio de giro (R_g) en las moléculas de almidón con radiación UV a longitudes de onda mayores a 250 nm., también confirmaron que la redistribución en el peso molecular se lleva a cabo en las primeras 5 h de exposición a radiación UV y, que las reacciones de entrecruzamiento se realiza entre las 5 y 15 h de exposición a la radiación UV. Otros estudios reportan que la degradación térmica del almidón de maíz se lleva a cabo con la formación de radicales, probablemente vía ruptura en los grupos carboxilo (Zhai *et al.*, 2003; Bidzinska *et al.*, 2004). En las primeras etapas de la despolimerización del almidón se forma una estructura amorfa mediante puentes de hidrógeno, si la degradación continúa se pierde dicha integridad y con ello la capacidad de expansión que tiene el almidón (Vatanasuchart *et al.*, 2005).

Tomando en cuenta lo anterior, se puede considerar que durante la ruptura y entrecruzamiento de las cadenas de almidón probablemente se liberan las fumonisinas; por lo tanto, en la extracción antes del tratamiento UV/TiO₂, se cuantificaron las fumonisinas disponibles ($4,33 \pm 0.11$ µg/mL) y después del

tratamiento (Fig. vs Tabla, 22) aumentó la concentración de fumonisinas ($7,64 \pm 0,09 \mu\text{g/mL}$), debido a la liberación de éstas de la matriz (maíz). Por otra parte, la muestra irradiada cuando no contiene TiO_2 se mantiene en asenso constante durante los primeros 90 minutos ($7,39 \mu\text{g/mL}$) y posteriormente descende su concentración, indicando que las fumonisinas que se han liberado del maíz (Figura vs Tabla, 22) se empiezan a degradar, lo anterior se basa en los estudios realizados por McKenzie *et al.*, (1997), los cuales determinaron que la FB_1 en presencia de un agente oxidante forma la 3ceto FB_1 (720 g/mol) y posiblemente otros productos.

Lo cual también ocurre en las muestras con TiO_2 pero en menor tiempo, actuando en este caso como catalizador. Finalmente, la radiación UV (25°C) facilita la biodisponibilidad de las fumonisinas en el maíz y, se favorece en presencia de TiO_2 .

En esta primera etapa y en las condiciones de tratamiento (25°C) el TiO_2 junto con la radiación UV aceleran el proceso de disponibilidad de las fumonisinas el cual es evidente en los primeros minutos.

b) Harina de maíz con alto contenido de humedad (66 - 67%)

En la figura 23 se observa el efecto del TiO_2 sobre la descomposición fotoquímica que sufren las fumonisinas en presencia de luz UV. La radiación UV tiene mayor efecto en las muestras con TiO_2 , observandose descensos del 30.08 % FB_1 y 42.16 % de FB_2 , comparado con las muestra sin TiO_2 que presentan descensos de 19.58% en FB_1 y 23.29 % de FB_2 .

Este mismo efecto es el que presentó la fumonisina B_1 (en harina de maíz con bajo contenido de humedad) sólo que en mayor grado, indicando que el dióxido de titanio promueve la formación de radicales hidroxilo en medio

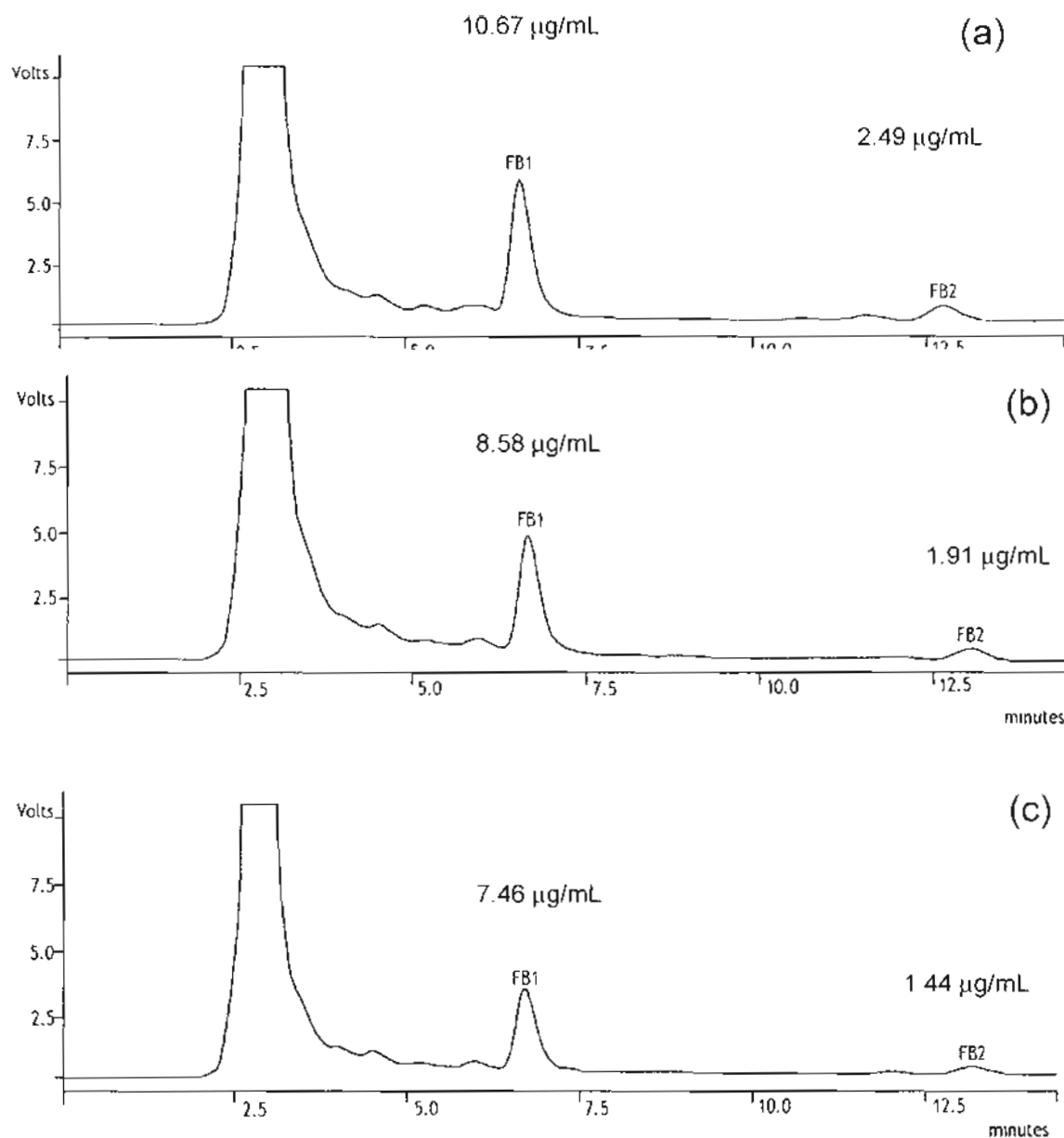
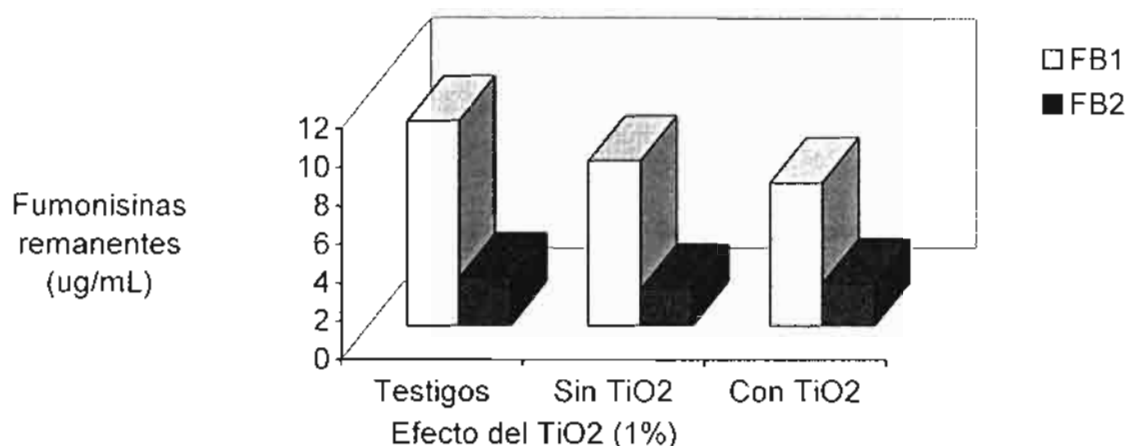


Figura 23. Resultados de la cromatografía de líquidos de extractos de harina de maíz (Tabla 9, muestra 8, maíz amarillo no mejorado, 3.32% grasa) suspendida en agua. (a) Control, (b) Después de recibir un tratamiento de radiación ultravioleta sin TiO_2 durante 240 minutos a 25°C , (c) Después de recibir un tratamiento de radiación ultravioleta con TiO_2 durante 240 minutos a 25°C .

Tratamiento UV (4h, 25C) en Harina de maíz con alto contenido de humedad



Harina de maíz	Remanente FB ₁ (μg/mL)	Remanente FB ₂ (μg/mL)	Descomposición FB ₁ (%)	Descomposición FB ₂ (%)
Testigos	10.67 ± 1.17	2.49 ± 0.36	0.0	0.0
sin TiO ₂	8.58 ± 0.66	1.91 ± 0.14	19.58	23.29
con TiO ₂	7.46 ± 0.77	1.44 ± 0.22	30.08	42.16

Figura vs Tabla, 24. Tratamiento de harina de maíz (Tabla 9, muestra 8, maíz amarillo no mejorado, 3.32% grasa) con 66-67% humedad y radiación UV ($\lambda < 380$ nm).

Uno de los probables factores que pueden explicar como se ve afectada más la FB₂ que la FB₁ bajo las mismas condiciones de proceso es al plegamiento que presenta la FB₁. De acuerdo con los estudios realizados por Momany y Dombrink-Kurtzman (2001), el plegamiento que presenta la FB₁ es debido a varios factores. Entre ellos, es el efecto que causan los grupos cargados en la distribución del disolvente alrededor de la molécula de FB₁ en la región del C-10 a C-20. Mencionan que hay 6 moléculas de agua interactuando con cada grupo carboxilo. Además, la distribución del disolvente alrededor de los grupos ácidos actúa como

una pared negativa polar originando que los ácidos tricarbálicos (ramificaciones en C-14 y C-15) se repelan uno al otro. Un segundo efecto es el de solvatación al tratar de remover estas ramificaciones lo suficiente de la sección hidrocarbonada de la cadena. Este efecto hidrofóbico es bastante conocido, sin embargo, la longitud de la cadena hidrocarbonada en la FB₁ es suficiente para forzar los campos y tratar de que algunos de los grupos no polares entren a la capa polar. El resultado es una conformación parcialmente plegada. Esta conformación parcialmente plegada que muestra la molécula FB₁ probablemente influye para que los radicales hidroxilo formados por la presencia de dióxido de titanio no ataquen tan fácilmente a la molécula.

La diferencia entre FB₁ y FB₂ es solo un hidroxilo en el C-10 y de acuerdo con estudios realizados por Momany y Dombrink-Kurtzman (2001), el agua forma puentes entre los diferentes grupos que conforman la estructura de la molécula de FB₁. Estos puentes de agua se presentan entre los dos grupos carboxilo más cercanos, entre el grupo carboxilo y el átomo de oxígeno del éster (C=O), y entre el grupo carboxilo de la ramificación del C-15 y el grupo hidroxilo del C-10. Si en la FB₂ no se encuentra el grupo hidroxilo en el C-10 se podría considerar que el plegamiento de la molécula es menor y por ello se encontraría más expuesta al ataque de los radicales hidroxilos.

c) Radiación UV con variación en tiempo y temperatura de exposición de harinas de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%)

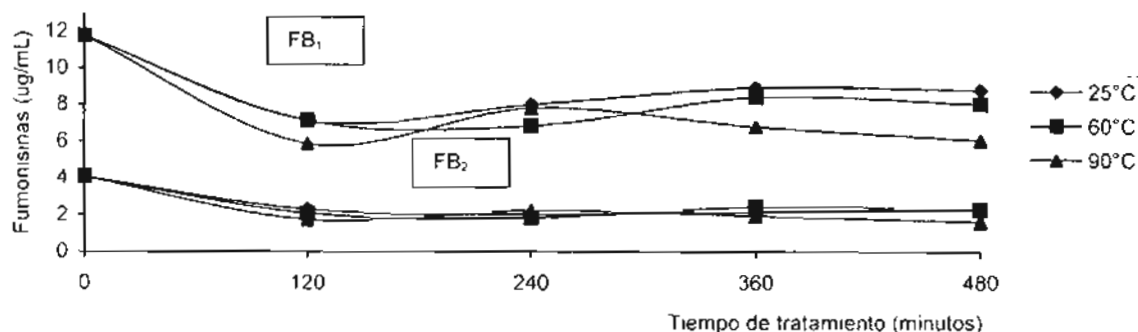
Con objeto de observar el comportamiento de las fumonisinas en las muestras de harina de maíz con bajo contenido de humedad (12-14%) cuando son sometidas a diferentes tiempos y temperaturas de exposición se realizaron pruebas a 25, 60 y 90 °C durante 0 a 480 min, en las cuales se obtuvieron los siguientes resultados (Figura vs Tabla, 25).

Se puede observar que el efecto de la radiación UV sobre las fumonisinas (B_1 y B_2) en los primeros 120 min (a 25, 60 y 90°C) sigue un comportamiento de descenso lineal, sin embargo, después de este tiempo se vuelve a presentar el comportamiento de ascenso y descenso, que probablemente se favorece con la temperatura y a la vez favorece la disponibilidad de las fumonisinas que se encuentran en la matriz, observándose un ligero ascenso a los 240 min (90°C), y a los 360 min (60 y 25°C). Lo que refleja el papel que juega tanto la matriz como la temperatura en el proceso de biodisponibilidad de las fumonisinas (Figura vs Tabla, 25).

Bordson *et al.* (1993), Scott y Lawrence (1995) proponen que las reducciones en los niveles de fumonisinas al calentar el maíz pueden ser debidas a la unión de las fumonisinas a la matriz. Sin embargo, en la presente investigación se trabajó con estándares que fueron sujetos a las mismas condiciones que la matriz (maíz) y en ambos casos se observa un descenso en los niveles de fumonisinas, además, es notorio el efecto que tiene la temperatura en la liberación de las fumonisinas (Figura vs Tabla, 25). La observación que hacen estos investigadores sobre el comportamiento de las fumonisinas puede ser posible cuando las temperaturas de exposición sean mayores a los 100°C.

Por otro lado, es probable que una pequeña fracción de las fumonisinas hayan reaccionado con los azúcares reductores (70.00 – 76.78% carbohidratos), por la formación de una base de Schiff's (Murphy *et al.*, 1996; Lu *et al.*, 1997) y la consecuente formación de la N-(Carboximetil) fumonisina B_1 (Howard *et al.*, 1998), sin embargo, el efecto de la radiación UV es sobresaliente sobre todo porque de acuerdo a estos autores la reacción anteriormente mencionada se favorece en condiciones alcalinas ($pH > 7$) y durante el desarrollo de esta investigación se mantuvieron pHs cercanos a la neutralidad o menores. Además, se trabajó con estándares de ambas fumonisinas y el comportamiento es muy similar al que se presenta en la matriz contaminada naturalmente. Por ello, se puede atribuir el

descenso en la concentración de las fumonisinas al efecto que causa sobre éstas la radiación UV.



Temperatura (°C)	25		60		90	
Tiempo (min)	µg/mL FB ₁	µg/mL FB ₂	µg/mL FB ₁	µg/mL FB ₂	µg/mL FB ₁	µg/mL FB ₂
0	11.33 ± 0.11	3.9 ± 1.01	11.33 ± 0.11	3.9 ± 1.01	11.33 ± 0.11	3.9 ± 1.01
120	6.33 ± 0.84	1.93 ± 0.45	7.13 ± 0.59	2.10 ± 0.18	6.36 ± 0.21	1.82 ± 0.20
240	5.3 ± 0.90	1.74 ± 0.56	6.84 ± 0.59	2.02 ± 0.20	7.77 ± 0.11	2.22 ± 0.12
360	6.75 ± 0.57	2.18 ± 0.80	8.39 ± 0.12	2.46 ± 0.05	6.77 ± 0.69	1.94 ± 0.20
480	8.78 ± 0.43	2.28 ± 0.79	8.39 ± 0.27	2.28 ± 0.08	5.84 ± 0.12	1.6 ± 0.88

Tiempo (minutos)	Degradación FB ₁ (%)			Degradación FB ₂ (%)		
	25°C	60°C	90°C	25°C	60°C	90°C
0.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
120.0	44.13	50.51	37.06	46.15	43.86	53.33
240.0	53.22	55.38	39.62	48.20	31.42	43.07
360.0	40.42	44.10	25.94	36.92	40.24	50.25
480.0	22.50	41.53	25.94	41.53	48.45	58.97

% disminución FB₁ = (C₀ - C_t)/C₀ * 100, C₀ = 11.33 ± 0.11, C_t = µg/mL determinada a cada tiempo de proceso.

Figura vs Tabla, 25. Efecto de la radiación UV ($\lambda < 380$ nm) en harina de maíz (Tabla 9, muestra 10, maíz amarillo mo mejorado, 7.02 % grasa) con bajo contenido de humedad (25g harina de maíz en un área de 9.5 x 18.6 cm² a 3.0 cm de la lámpara UV).

Se presenta un mayor efecto en la FB₂ a los 25°C y 240 min (48.20% degradación). Como en los experimentos anteriores el efecto de la radiación UV es mayor en la FB₂ que en la FB₁ (Figura vs Tabla, 25 y Tabla 15).

Tabla 15. Velocidad de degradación de FB₁ y FB₂ en harina de maíz tratada con radiación ultravioleta a diferentes temperaturas (Tabla 9, muestra 10, maíz amarillo no mejorado).

Tiempo (minutos)	Velocidad (% degradación / min) FB ₁			Velocidad (% degradación / min) FB ₂		
	a 25°C	a 60°C	a 90°C	a 25°C	a 60°C	a 90°C
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
120.0	0.37	0.42	0.31	0.38	0.36	0.46
240.0	0.22	0.23	0.17	0.20	0.13	0.18
360.0	0.11	0.12	0.07	0.10	0.11	0.14
480.0	0.05	0.09	0.05	0.09	0.10	0.12

Para cada temperatura y tiempo se obtuvo el Log de la concentración (µg/mL) para linearizar el comportamiento de FB₁ y FB₂ (Tabla 16) y obtener la constante de reacción (k min⁻¹) y el tiempo de vida media (t ½ min).

Tabla 16. Constantes de reacción (k, min⁻¹) y tiempos de vida media (t ½, min) para la descomposición de FB₁ en harina de maíz (12 -14% humedad sin TiO₂) en presencia de radiación UV (λ < 380 nm, Tabla 9, muestra 10, maíz amarillo no mejorado).

Tiempo de tratamiento (min)	*k (min ⁻¹) 25°C		*k (min ⁻¹) 60°C		*k (min ⁻¹) 90°C	
	FB ₁	FB ₂	FB ₁	FB ₂	FB ₁	FB ₂
120	4.85 x 10 ⁻³	5.87 x 10 ⁻³	3.85 x 10 ⁻³	5.16 x 10 ⁻³	4.79 x 10 ⁻³	6.34 x 10 ⁻³
240	3.16 x 10 ⁻³	3.36 x 10 ⁻³	2.15 x 10 ⁻³	2.74 x 10 ⁻³	1.57 x 10 ⁻³	2.35 x 10 ⁻³
360	1.44 x 10 ⁻³	1.62 x 10 ⁻³	0.84 x 10 ⁻³	1.28 x 10 ⁻³	1.43 x 10 ⁻³	1.94 x 10 ⁻³
480	0.53 x 10 ⁻³	1.12 x 10 ⁻³	0.63 x 10 ⁻³	1.12 x 10 ⁻³	1.38 x 10 ⁻³	1.85 x 10 ⁻³
Promedio	2.49 x 10 ⁻³	2.99 x 10 ⁻³	1.86 x 10 ⁻³ ±	2.57 x 10 ⁻³	2.29 x 10 ⁻³ ±	3.12 x 10 ⁻³ ±
	± 2.5 x 10 ⁻³	± 2.2 x 10 ⁻³	1.9 x 10 ⁻³	± 1.9 x 10 ⁻³	2.3 x 10 ⁻³	2.2 x 10 ⁻³
T ½ (min)	278.31	231.77	372.18	269.33	302.62	222.186
R ²	0.9134	0.8444	0.8261	0.7944	0.9941	0.9785

*El valor de k se obtiene mediante la ecuación: $\log [C_A] = - (k/2.3) t + \log [C_A]_0$, donde [C_A] y [C_A]₀ están en µg/mL.

Ámbas fumonisinas presentan una rápida degradación en los primeros 120 min de tratamiento a las tres temperaturas (25°C, FB₁, k = 4.85 x 10⁻³ min⁻¹; FB₂, k = 5.87 x 10⁻³ min⁻¹; 60°C, FB₁, k = 3.85 x 10⁻³ min⁻¹; FB₂, k = 5.16 x 10⁻³ min⁻¹; y 90°C FB₁, k = 4.79 x 10⁻³ min⁻¹; FB₂, k = 6.34 x 10⁻³ min⁻¹)

En los primeros 120 min la pérdida de FB₁ y FB₂ a las 3 temperaturas (25, 60 y 90°C) siguen un comportamiento de una reacción de pseudo primer orden y el comportamiento es lineal. Después de este tiempo, la ecuación que describe el comportamiento de ascenso y descenso que se presenta durante el tratamiento es la de una ecuación polinomial.

En el análisis de varianza para este experimento se encontró lo siguiente: Existe diferencia significativa (95% de confianza) en el contenido de fumonisina remanente en el harina de maíz (12-14% humedad sin TiO₂) al variar las temperaturas de exposición a la radiación UV. Sin embargo, en la prueba de intervalos múltiples de Duncan para distinguir la diferencia entre los tiempos de tratamiento se observó lo siguiente: con un 95% de confianza los tratamientos de 120 a 240 min, de 240 a 360 min y de 360 a 480 min son iguales. Sin embargo, en los tratamientos de 0 a 120 min hay diferencia significativa (Tablas A, B, C y D en Anexo II)

Al comparar las constantes de reacción (k min⁻¹) de los estándares de fumonisinas a los 120 min a 25°C (B₁ = 22.70 x 10⁻³ y B₂ = 23.00 x 10⁻³ min⁻¹), con los obtenidos en el maíz contaminado con fumonisinas a 25°C (B₁ = 4.85 x 10⁻³ y B₂ = 5.87 x 10⁻³ min⁻¹). Se observa en ambos casos (FB₁ y FB₂) que son 4.7 y 4 veces más pequeñas respectivamente, las obtenidas en el maíz contaminado, probablemente por el efecto que ejerce la matriz impidiendo un ataque directo de la radiación UV sobre las fumonisinas. Lo cual concuerda si se comparan las velocidades de descomposición de los estándares de las fumonisinas B₁ y B₂ (Figura vs Tabla, 19) con las obtenidas en el maíz contaminado (Tabla 16), siendo

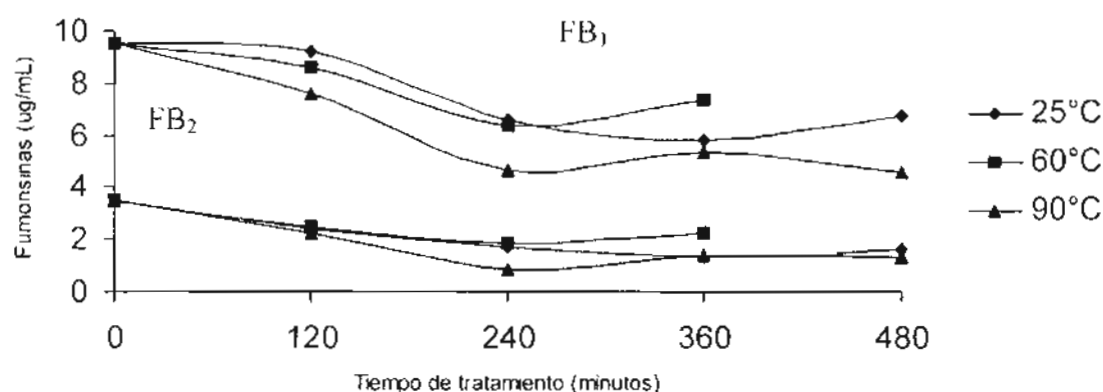
éstas últimas 2.18 y 2 veces más pequeñas respectivamente que las primeras (considerando 120 min de tratamiento).

Para corroborar que los resultados anteriores describen el comportamiento de las fumonisinas en harina de maíz cuando es expuesta a radiación ultravioleta se realizó el mismo experimento con una harina de maíz de diferente composición, esta harina identificada como muestra 7 (Tabla 9, maíz blanco no mejorado, 4.05% grasa) presentó un comportamiento similar al que se observó para las fumonisinas de la muestra 10 (Tabla 9, maíz amarillo no mejorado, 7.02% grasa), en donde la concentración de fumonisinas se ve alterada conforme aumenta el tiempo de proceso, sin embargo, en la muestra 7, la alteración en la concentración se realiza en más tiempo.

Los resultados de las variaciones en las concentraciones de las fumonisinas se resumen en la Figura vs Tabla, 26. En la muestra 7, al igual que en las otras, la FB₂ se ve más afectada por la radiación ultravioleta que la FB₁ lo que coincide con el resultado de la muestra 10.

Las razones por las que la concentración de fumonisinas no tienen una disminución constante en la concentración, posiblemente se deba a la complejidad de la matriz alimenticia, en donde los factores que podrían intervenir son las alteraciones que sufre el almidón de maíz durante la exposición a la radiación UV/TIO₂ (oxidación fotocatalítica), favoreciendo su extracción y provocando los incrementos observados en la concentración, mientras que las disminuciones del mismo pueden ser originadas por los efectos de la radiación mediante radicales generados a partir de grasas o efectos directos de la radiación sobre las fumonisinas. En harinas de maíz con alto contenido de grasa, la radiación por UV/TIO₂ favorece en primer término, la formación de radicales libres provenientes de las grasas que causan descensos en la concentración de FB₁ y FB₂, sin embargo, en muestras con bajo contenido de grasa primero se lleva a cabo la

acción de la radiación por UV/TiO₂ sobre el almidón causando ruptura y entrecruzamiento de las cadenas lo que favorece la disponibilidad de las fumonisinas y posteriormente su degradación.



Tiempo de exposición (minutos)	25°C		60°C		90°C	
	FB ₁ (µg/mL) ^a	FB ₂ (µg/mL) ^a	FB ₁ (µg/mL) ^a	FB ₂ (µg/mL) ^a	FB ₁ (µg/mL) ^a	FB ₂ (µg/mL) ^a
Control	9.51 ± 0.9	3.51 ± 0.3	9.51 ± 0.9	3.51 ± 0.3	9.51 ± 0.9	3.51 ± 0.3
120	9.21 ± 0.9	2.40 ± 0.2	8.63 ± 0.9	2.45 ± 0.2	7.62 ± 0.8	2.27 ± 0.2
240	6.61 ± 0.7	1.72 ± 0.2	6.39 ± 0.6	1.84 ± 0.2	4.68 ± 0.5	0.86 ± 0.1
360	5.78 ± 0.6	1.35 ± 0.1	7.34 ± 0.7	2.23 ± 0.2	5.32 ± 0.5	1.40 ± 0.1
480	6.76 ± 0.7	1.69 ± 0.2			4.55 ± 0.4	1.35 ± 0.1

^a Cada valor es el promedio de al menos tres determinaciones

Figura vs Tabla, 26. Comportamiento de las fumonisinas B₁ y B₂ en harina de maíz (muestra 7, Tabla 9, maíz blanco no mejorado, 4.05% grasa) frente a la radiación ultravioleta.

Haciendo una comparación de la composición de la muestra 10 con la muestra 7 se observa que la muestra 10 (maíz amarillo no mejorado) tiene un contenido de grasa de 7.02% en base seca (bs) y la muestra 7 (maíz blanco no mejorado) tiene 4.05% de grasa bs (Tabla 10), esta diferencia en la composición de las muestras muy posiblemente sea la razón por la cual el punto mínimo de concentración alcanzada con el tratamiento es a 120 minutos en el caso de la muestra 10 y a 240 minutos en la muestra 7, suponemos que la grasa es la razón de estas diferencias

por su reactividad relacionada con la radiación ultravioleta (la radiación induce la oxidación de los lípidos), por lo que posiblemente la grasa acorta el tiempo en que aparece la primera disminución (Tükenmez *et al.*, 1997). Si el contenido de grasa afecta de manera proporcional al efecto de la radiación se esperaría una disminución más lenta en una harina con menos grasa para un mismo tiempo de tratamiento a una temperatura dada. Esto se pudo comprobar al observar el comportamiento que mostró la harina muestra 4 (Tabla 9, maíz amarillo no mejorado, 2.62% grasa bs,) al ser irradiada por 120 minutos a una temperatura de 25°C, el porcentaje de reducción en la concentración que alcanzó en 120 minutos fue de 16.64% para FB₁ y 36.82% para FB₂, después de éste tiempo la concentración de fumonisinas permaneció casi constante, mientras que las harinas con mayor contenido de grasa mostraron una mayor degradación de las fumonisinas, como se puede observar en la Tabla 17. Ya que la radiación provoca alteraciones en los componentes mayoritarios del maíz (almidón y grasa), generando entre otros cambios radicales libres y la oxidación de las grasas.

Tabla 17. Disminución en el contenido de fumonisinas B₁ y B₂ después de 120 minutos de tratamiento con luz ultravioleta a 25°C en harinas de maíz con diferente contenido de grasa.

Tratamiento	Grasa b.s (%)	Degradación (%)	
		FB ₁	FB ₂
T3 (maíz amarillo no mejorado, 120 min)	7.02	44.13	46.15
T2 (maíz blanco no mejorado, 480 min)	4.05	28.92	51.85
T1 (maíz amarillo no mejorado, 120 min)	2.62	16.64	36.82

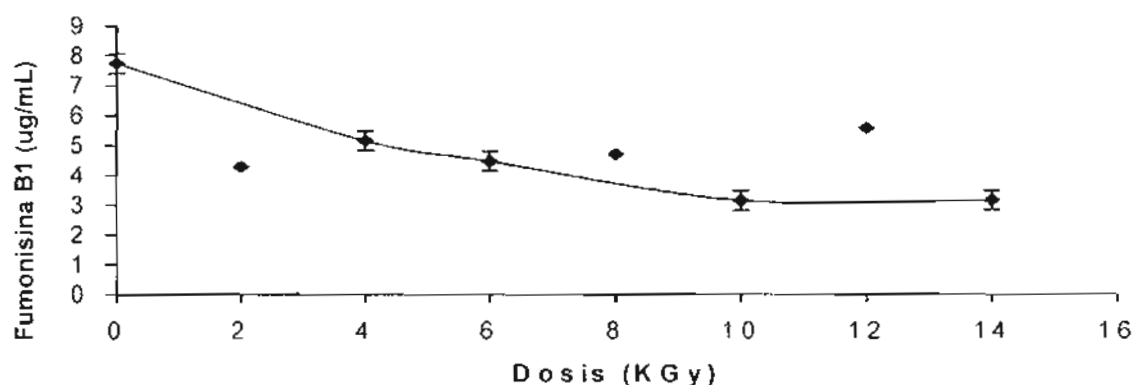
Tabla 9, muestra 10 = 7.02 % grasa, muestra 7 = 4.05 % grasa, muestra 4 = 2.62 % grasa

4.5. Efecto de la radiación gamma en estándares de fumonisinas

Al someter fumonisina B₁ a radiación gamma se observó que a mayor dosis de radiación gamma se presenta un mayor descenso en la concentración de FB₁ hasta llegar a la dosis de 14 KGy a una tasa de dosis de 2144 Gy/h (3.17 µg/mL

Figura vs Tabla, 27), a partir de la cual no se observó cambio notable en la concentración de FB₁.

Posteriormente se irradiaron 0.35 mg de FB₁ sólida a una dosis de 15 KGy (7.21 hrs, 2144 Gy/h). Después de irradiado el estándar sólido se resuspendió en 4 mL de metanol debiendo de dar una concentración de 86.75 mg/L, la concentración determinada después del tratamiento fue 22.84 mg/L lo cual representa apenas el 26.33% de la concentración esperada, esto implica que la radiación a 15 KGy provoca una reducción del 73.67%, lo cual coincide con la obtenida en el experimento anterior (Figura vs Tabla, 27).



Dosis (KGy)	Concentración (ug/mL) ^a	Degradación (%)
0	7.73 ± 0.93	0.00
2	4.29 ± 0.42	44.46
4	5.17 ± 0.11	33.16
6	4.47 ± 0.49	42.13
8	4.71 ± 0.20	39.11
10	3.15 ± 0.13	59.21
12	5.59 ± 0.23	27.73
14	3.17 ± 0.17	59.03

^a Cada valor es el promedio de al menos tres repeticiones

Figura vs Tabla, 27. Estándar de Fumonisina B₁ con radiación gamma (2144 Gy/h), los datos de 2, 8 y 12 KGy no se tomaron en cuenta para la línea de tendencia.

Además, se observa ascenso y descenso en la concentración de fumonisinas, debido a que se presenta una liberación de las fumonisinas de la matriz causado por el entrecruzamiento, y degradación de las moléculas de almidón (Erlandsson *et al.*, 1997; Nagasawa *et al.*, 2004). En el tratamiento de los estándares con radiación UV este comportamiento no es tan notorio, sin embargo, en las muestras de maíz tratadas con radiación UV es claro este desarrollo.

Los resultados obtenidos para una cinética de pseudo primer orden (Jackson *et al.*, 1996 a y b) indican que se lleva a cabo una rápida descomposición de FB₁ ($k = 10.51 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) en los primeros minutos de exposición al igual que en el tratamiento con radiación UV (Tabla 18).

Tabla 18. Constantes de reacción ($k \text{ min}^{-1}$) y tiempos de vida media ($t_{1/2} \text{ min}$) para la descomposición de estándar de FB₁ con radiación gamma a una tasa de dosis de 15 KGy (7 horas a 2144 Gy/h).

Tiempo de tratamiento (min)/ Dosis (KGy)		k (min^{-1})	T $\frac{1}{2}$ (min)	R ²
		FB ₁	FB ₁	FB ₁
0	0	-----	-----	-----
56	2	10.51×10^{-3}	65.91	0.9276 *
112	4	3.59×10^{-3}	192.87	
168	6	3.26×10^{-3}	212.70	
224	8	2.21×10^{-3}	314.00	
280	10	3.20×10^{-3}	216.33	
336	12	0.97×10^{-3}	718.06	
392	14	2.27×10^{-3}	305.28	

* No considera los puntos a 56, 280 y 336 min

La ecuación que representa este comportamiento es $Y = 9 \times 10^{-4} X + 0.8507$ con un coeficiente de correlación lineal $R^2 = 0.9276$ que indican la relación directa entre el tiempo de proceso y el log de la fracción remanente de FB₁ (Figura 28).

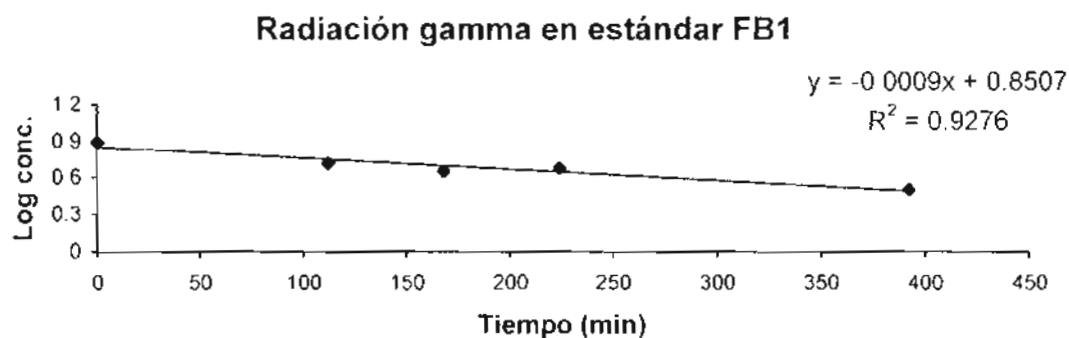


Figura 28. Linearización de los datos en el efecto de radiación gamma en estándar de FB₁ a una tasa de dosis de 15 KGy (7 horas a 2144 Gy/h).

Comparando la constante obtenida ($K = 20.23 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) en el tratamiento con radiación UV del estándar de FB₁ (60 min, Tabla 15) con la constante obtenida en el tratamiento con radiación gamma ($k = 10.51 \times 10^{-3} \text{ min}^{-1}$) se puede observar una gran similitud, ya que ambas se encuentran en el mismo orden de magnitud.

La fumonisina B₁ fue irradiada con 15 KGy de radiación gamma, después de este tratamiento se realizó un análisis de espectrometría de masas (Figura 29) en los que se observan los fragmentos que se generan durante la ionización de las moléculas que se formaron durante el tratamiento de radiación gamma, este espectro de masas al tener fragmentos diferentes a los que se observaron en la FB₁ no irradiada indica que la radiación gamma modifica la estructura de la fumonisina, los fragmentos que aparecen después del tratamiento con radiación gamma son: 551, 561, 579, 591, 635, 640, 656, 684, 691 y 751 m/z. Ya que el espectro de masas es de una mezcla formada por la fumonisina que no sufrió cambio por la radiación gamma y por los productos del tratamiento de radiación, es difícil proponer la molécula que corresponde a cada una de estas señales.

4.6 Efecto de la radiación gamma en harina de maíz contaminada con fumonisinas (B₁ y B₂) en presencia y ausencia de dióxido de titanio

El experimento anterior indica que la radiación gamma afecta a la fumonisina B₁ y se consideró que lo mismo sucede con la FB₂ dada su similitud, por lo que se trataron dos harinas de maíz con radiación gamma, los resultados se resumen en las Figuras vs Tablas, 30 y 31, asimismo, se observa en las constantes obtenidas que el máximo valor se presenta en los primeros 84 min de tratamiento (Tablas 20 y 21). Sin embargo, al comparar los valores de las constantes (K min⁻¹) en la muestra 4 (Tablas 21 y 22), se observa que son más pequeñas que las obtenidas en el tratamiento de la muestra 10 (Tablas 19 y 20).

Además, la concentración de fumonisinas en la muestra 10 presenta un incremento al ser sometida a la dosis de 15 KGy (7 horas a 2144 Gy/h) a diferencia de la muestra 4 que presenta una disminución continua, esta diferencia en el comportamiento, puede ser debida a los cambios químicos y moleculares que la radiación gamma causa en el almidón (Kollengode *et al.*, 1996, Kyung *et al.*, 2006), dando como resultado numerosos productos. Se ha observado en polisacáridos, como el almidón, la formación de nuevas ramificaciones y la posible relocalización de los puntos de ramificación (Grant y D' Applonia, 1991). Sin embargo, el comportamiento de FB₁ y de FB₂ es el mismo en ambas muestras.

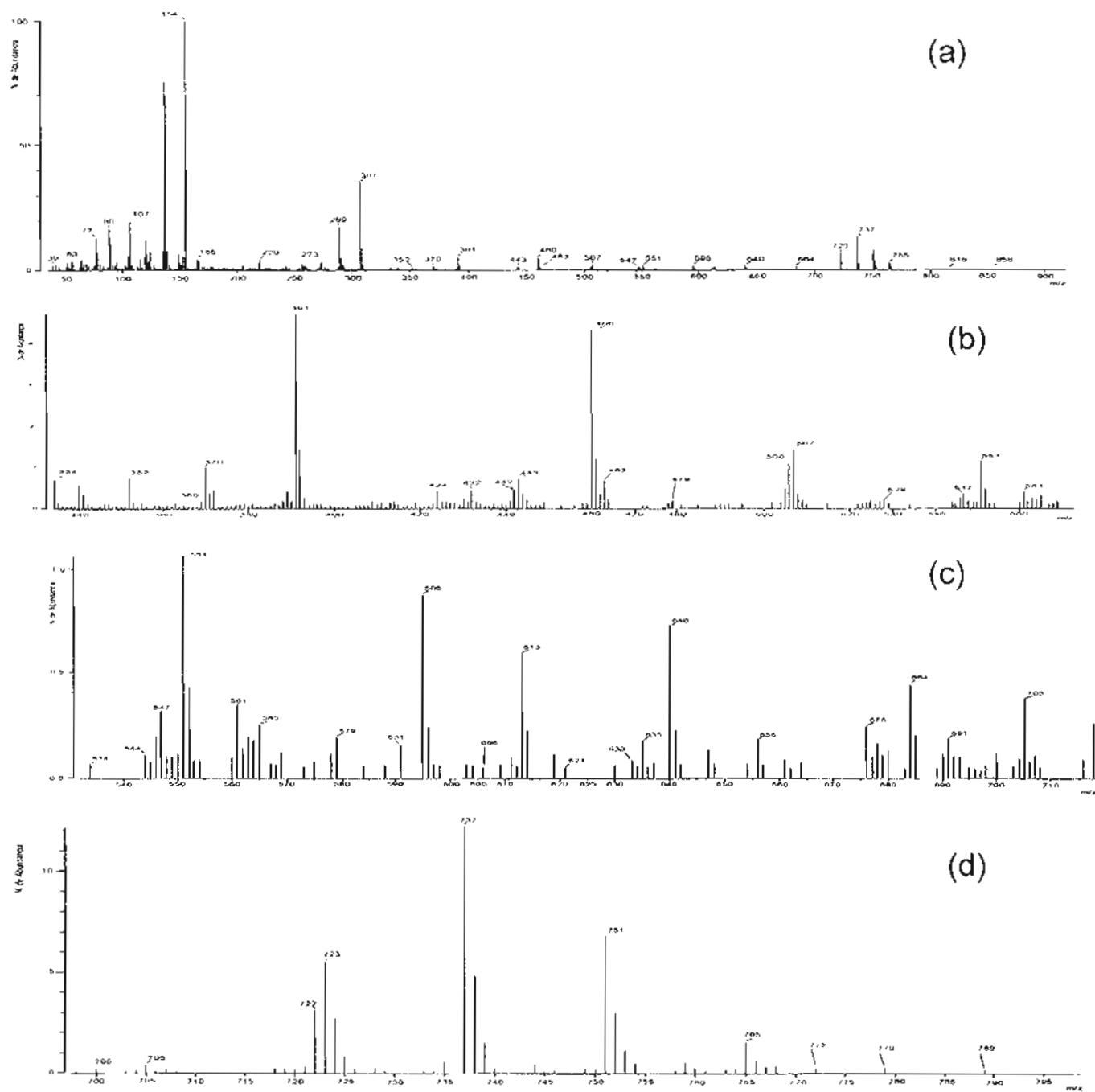
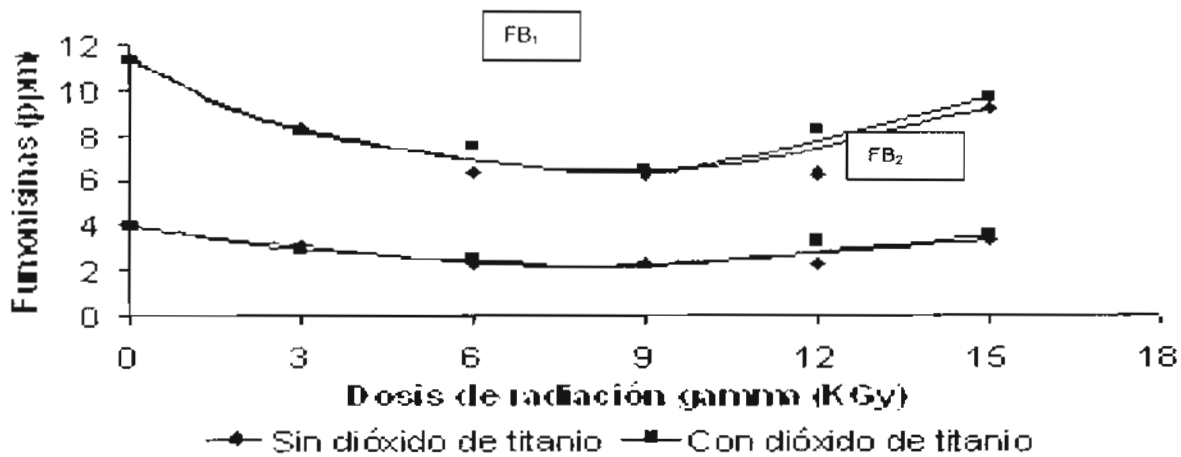


Figura 29. Espectro de masas en diferentes regiones de un estándar de FB₁ irradiado con 15 KGy. (a) Intervalo de 39 a 900 m/z; (b) de 334 a 565 m/z; (c) de 535 a 710 m/z; (d) de 700 a 795 m/z.



Dosis en (K Gy)	Sin TiO ₂		Con TiO ₂		Sin TiO ₂		Con TiO ₂	
	FB ₁ (µg/mL) ^a	Disminución (%)	FB ₁ (µg/mL) ^a	Disminución (%)	FB ₂ (µg/mL) ^a	Disminución (%)	FB ₂ (µg/mL) ^a	Disminución (%)
Control	11.33 ± 1.1	-----	11.33 ± 1.1	-----	3.90 ± 0.4	-----	3.90 ± 0.4	-----
3	8.32 ± 0.8	26.57	8.19 ± 0.8	27.71	3.03 ± 0.3	22.39	2.90 ± 0.3	25.64
6	6.32 ± 0.6	44.22	7.53 ± 0.7	33.54	2.30 ± 0.2	41.03	2.45 ± 0.2	37.24
9	6.26 ± 0.6	44.75	6.41 ± 0.6	43.42	2.23 ± 0.2	42.82	2.14 ± 0.2	45.26
12	6.22 ± 0.6	45.10	8.23 ± 0.8	27.36	2.27 ± 0.2	41.79	3.27 ± 0.3	16.15
15	9.17 ± 0.9	19.06	9.64 ± 1.0	14.89	3.30 ± 0.3	15.38	3.49 ± 0.3	10.43

^a Cada valor es el promedio de al menos tres repeticiones.

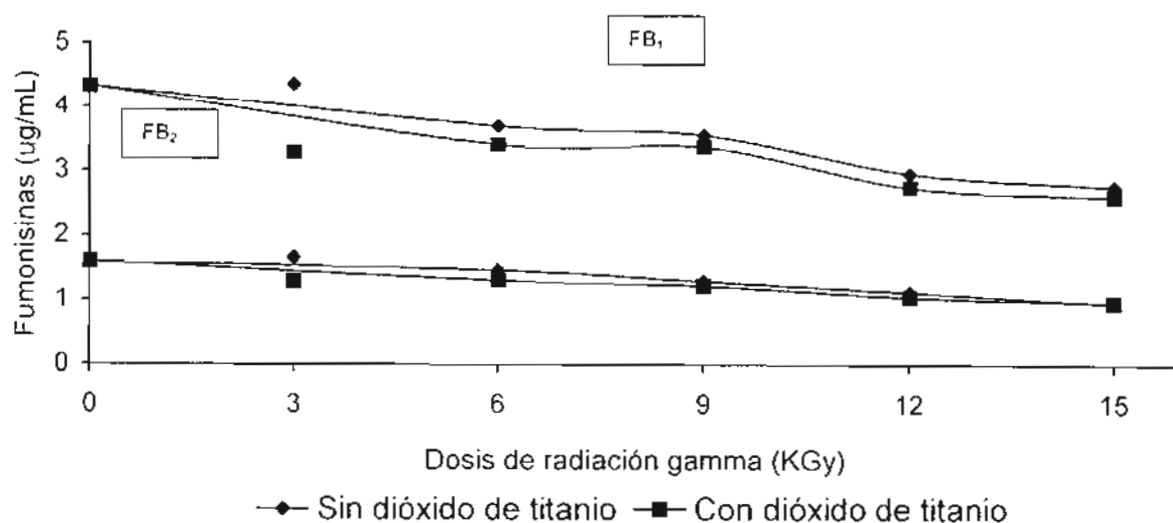
Figura vs Tabla, 30. Comportamiento de las fumonisinas B₁ y B₂ en harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no mejorado, 7.02% grasa) al exponerlas a la radiación gamma (tasa de dosis de 15 K Gy, 7 horas a 2144 Gy/h) en presencia y ausencia de dióxido de titanio. Los datos de 6 K Gy para FB₁ y 12 K Gy para FB₂ no se tomaron en cuenta para las líneas de tendencia.

Tabla 19. Constantes de reacción ($k \text{ min}^{-1}$) y tiempos de vida media ($t_{1/2} \text{ min}$) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h) de FB_1 (con y sin TiO_2) en harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no mejorado).

Tiempo (min)		FB_1 sin TiO_2		FB_1 con TiO_2	
/ Dosis (KGy)		$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$
0	0				
84	3	3.67×10^{-3}	188.88	3.86×10^{-3}	179.53
168	6	3.48×10^{-3}	199.31	1.06×10^{-3}	654.39
252	9	2.35×10^{-3}	294.39	0.98×10^{-3}	704.19
336	12	1.79×10^{-3}	388.02	0.41×10^{-3}	1675.53
420	15	0.50×10^{-3}	1375.55	0.17×10^{-3}	4159.66

Tabla 20. Constantes de reacción ($k \text{ min}^{-1}$) y tiempos de vida media ($t_{1/2} \text{ min}$) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h) de FB_2 (con y sin TiO_2) en harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no mejorado).

Tiempo (min)		FB_2 sin TiO_2		FB_2 con TiO_2	
/ Dosis (KGy)		$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$
0	0				
84	3	3.01×10^{-3}	230.15	3.53×10^{-3}	196.20
168	6	3.15×10^{-3}	220.13	2.76×10^{-3}	250.63
252	9	2.22×10^{-3}	312.58	2.38×10^{-3}	290.93
336	12	0.69×10^{-3}	990.84	0.53×10^{-3}	1314.99
420	15	0.39×10^{-3}	1733.80	0.27×10^{-3}	2582.92



Dosis en (KGy)	Sin TiO ₂		Con TiO ₂		Sin TiO ₂		Con TiO ₂	
	FB ₁ (µg/mL) ^a	Disminución (%)	FB ₁ (µg/mL) ^a	Disminución (%)	FB ₂ (µg/mL) ^a	Disminución (%)	FB ₂ (µg/mL) ^a	Disminución (%)
Control	4.34 ± 0.4	----	4.34 ± 0.3	----	1.60 ± 0.2	----	1.60 ± 0.2	----
3	4.37 ± 0.4	0.00	3.29 ± 0.3	24.19	1.66 ± 0.2	0.00	1.29 ± 0.1	19.38
6	3.71 ± 0.4	14.52	3.42 ± 0.3	21.20	1.47 ± 0.1	8.13	1.31 ± 0.1	18.13
9	3.58 ± 0.4	17.51	3.39 ± 0.3	21.89	1.30 ± 0.1	18.75	1.23 ± 0.1	23.13
12	2.98 ± 0.3	31.34	2.77 ± 0.3	36.18	1.13 ± 0.1	29.38	1.05 ± 0.1	34.38
15	2.78 ± 0.3	35.94	2.62 ± 0.3	39.63	0.96 ± 0.1	40.00	0.97 ± 0.1	39.38

^a Cada valor es el promedio de al menos tres replicas.

Figura vs Tabla, 31. Degradación de las fumonisinas presentes en harina de maíz (muestra 4, maíz amarillo no mejorado, 2.62% grasa) al exponerlas a la radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h) en presencia y ausencia de dióxido de titanio. Los datos de 3 KGy no se tomaron en cuenta para la línea de tendencia.

Tabla 21. Constantes de reacción ($k \text{ min}^{-1}$) y tiempos de vida media ($t_{1/2} \text{ min}$) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h) de FB_1 (con y sin TiO_2) en harina de maíz (muestra 4, maíz amarillo no mejorado).

Tiempo (min)		FB_1 sin TiO_2		FB_1 con TiO_2	
/ Dosis (KGy)					
0	0	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$
84	3	0.08×10^{-3}	9727.96	3.29×10^{-3}	210.25
168	6	0.93×10^{-3}	742.29	1.42×10^{-3}	489.40
252	9	0.76×10^{-3}	907.18	0.98×10^{-3}	707.65
336	12	1.12×10^{-3}	620.41	1.34×10^{-3}	519.18
420	15	1.06×10^{-3}	654.39	1.20×10^{-3}	577.50

Tabla 22. Constantes de reacción ($k \text{ min}^{-1}$) y tiempos de vida media ($t_{1/2} \text{ min}$) para la descomposición con radiación gamma (tasa de dosis de 15 KGy, 7 horas a 2144 Gy/h) de FB_2 (con y sin TiO_2) en harina de maíz (muestra 4, maíz amarillo no QPM, 2.62% grasa).

Tiempo (min)		FB_2 sin TiO_2		FB_2 con TiO_2	
/ Dosis (KGy)					
0	0	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$	$k \text{ (min}^{-1}\text{)}$	$T_{1/2} \text{ (min)}$
84	3	0.44×10^{-3}	1582.19	2.56×10^{-3}	270.49
168	6	0.50×10^{-3}	1475.54	1.19×10^{-3}	582.84
252	9	0.82×10^{-3}	841.83	1.04×10^{-3}	665.07
336	12	1.03×10^{-3}	670.21	1.25×10^{-3}	553.51
420	15	1.21×10^{-3}	570.84	1.19×10^{-3}	582.84

Los resultados de la cuantificación de fumonisinas por HPLC en la muestra 10 (maíz amarillo no mejorado o no QPM, 7.02% grasa) tratada con 9 KGy en presencia y en ausencia de TiO_2 muestran como disminuye el área de los picos correspondientes a las fumonisinas B_1 y B_2 y que esta disminución es prácticamente la misma en ambos tratamientos (Figura 32).

Nuevamente, se presenta el fenómeno de variación en la concentración de fumonisinas (B_1 y B_2), solo que, al aumentar el contenido de grasa de las muestras (2.62 % grasa en la muestra 4 y 7.02 % de grasa en la muestra 10) se puede retardar esta variación, la cual, aparentemente es independiente del contenido de TiO_2 , para las muestras con alto contenido de grasa; pero no para aquellas que tienen bajo contenido, ya que la constante ($k \text{ min}^{-1}$), presenta un valor muy pequeño en la muestra que no se les añadió TiO_2 y que tienen un valor bajo de grasa (muestra 4), pero al agregar TiO_2 , se observa que la constante ($k \text{ min}^{-1}$) es muy similar a las que presentan las muestras con alto contenido de grasa (muestra 10, 7.02 % grasa).

Además, en éstas últimas se observan los primeros incrementos en la concentración de fumonisinas entre los 12 y 15 KGy (Figura vs Tabla, 30), en este caso, se podría llevar a cabo primero la descomposición de las fumonisinas via radicales libres provenientes de las grasas del maíz, y en las muestras con menor contenido graso que presentan estos incrementos en la concentración de FB_1 y FB_2 entre los 3 y 6 KGy se podría llevar a cabo primero la liberación de las fumonisinas por acción de la radiación gamma sobre las moléculas del almidón (reacciones de entrecruzamiento) y posteriormente se lleve a cabo la degradación de las fumonisinas cuando en el sistema existan además de los radicales libres de las grasas formados por la radiación, los radicales libres provenientes de la degradación del almidón. Lo cual concuerda con aquellas muestras que tienen mayor contenido graso ya que la radiación altera primero a las moléculas más reactivas, que en este caso son las grasas y posteriormente se llevarían a cabo los fenómenos descritos por Kang *et al.*, (1999); Zhai *et al.*, (2002, 2003); y Kóber *et al.*, (2007). Los cuales mencionan que la radiación provoca descensos en la viscosidad intrínseca del almidón (incrementa la solubilidad y decrece el poder de hinchazón) y promueve el entrecruzamiento y la formación de radicales libres los cuales pueden alterar el tamaño y estructura de las moléculas de almidón (Bertolini *et al.*, 2001), generando pequeños fragmentos de dextrinas que pueden

estar eléctricamente cargadas o como radicales libres (Yuryev *et al.*, 1995; Kang *et al.*, 1999; Kóber *et al.*, 2007; Aziz *et al.*, 2007).

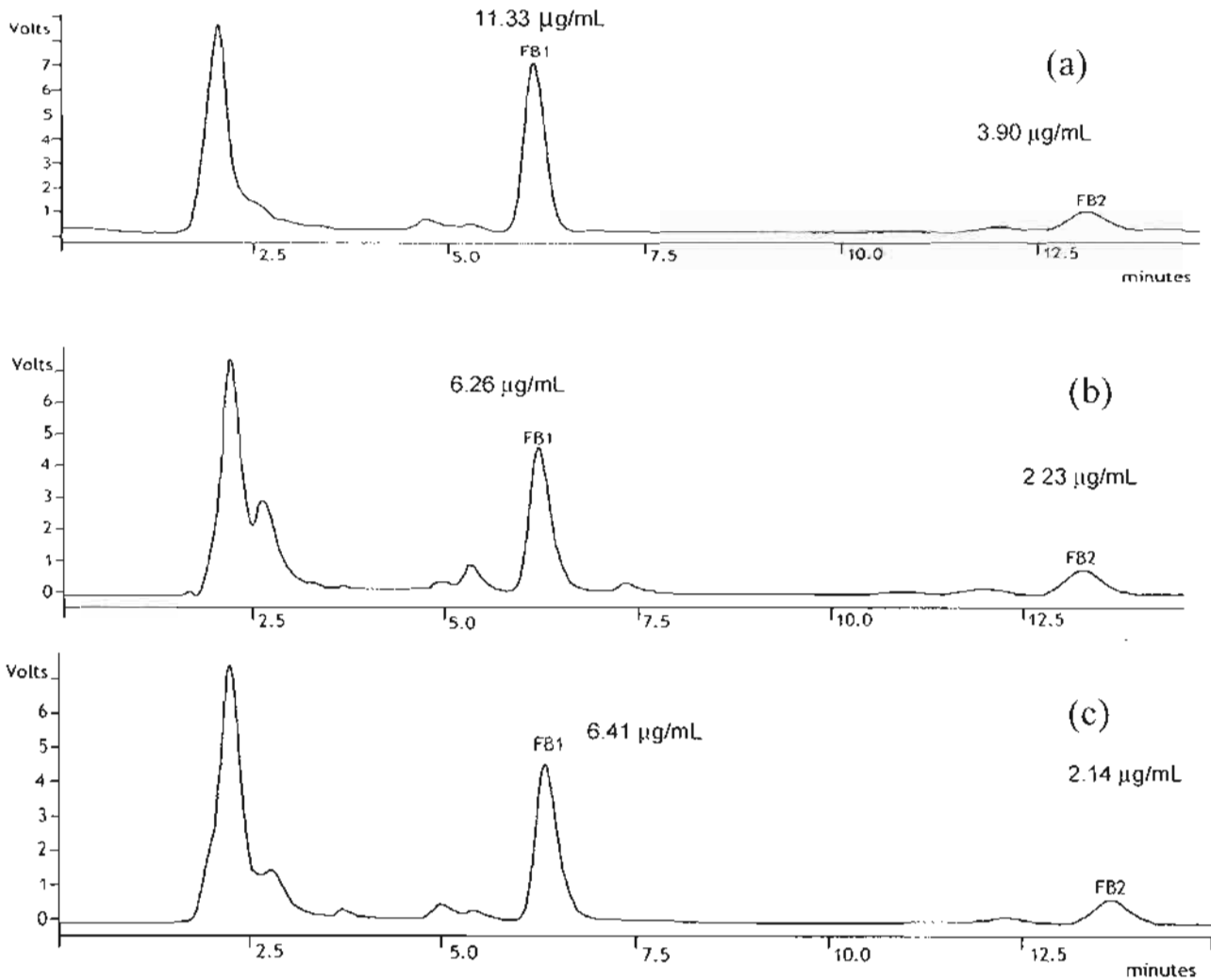


Figura 32. Efecto del dióxido de titanio en la degradación de fumonisinas con radiación gamma (9 KGy), sobre harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no mejorado o no QPM). (a) Cromatograma de un extracto de harina de maíz sin tratamiento; (b) Cromatograma de un extracto de harina de maíz después de recibir tratamiento de radiación gamma sin TiO_2 ; (c) Cromatograma de un extracto de harina de maíz después de recibir tratamiento de radiación gamma con TiO_2

De los extractos que sirvieron para la cuantificación de las fumonisinas B_1 y B_2 , se analizaron por espectrometría de masas los correspondientes al harina no tratada y la que recibió un tratamiento de 15 KGy, ambos de la muestra 10, en el

espectro del harina que no recibió tratamiento (Fig. 33 a) se observan señales a relaciones m/z superiores a 1000 m/z , esto puede deberse a que en el extracto están presentes compuestos propios del maíz, tales como, grasas, proteínas, carbohidratos, entre otros algunos de ellos con altos pesos moleculares.

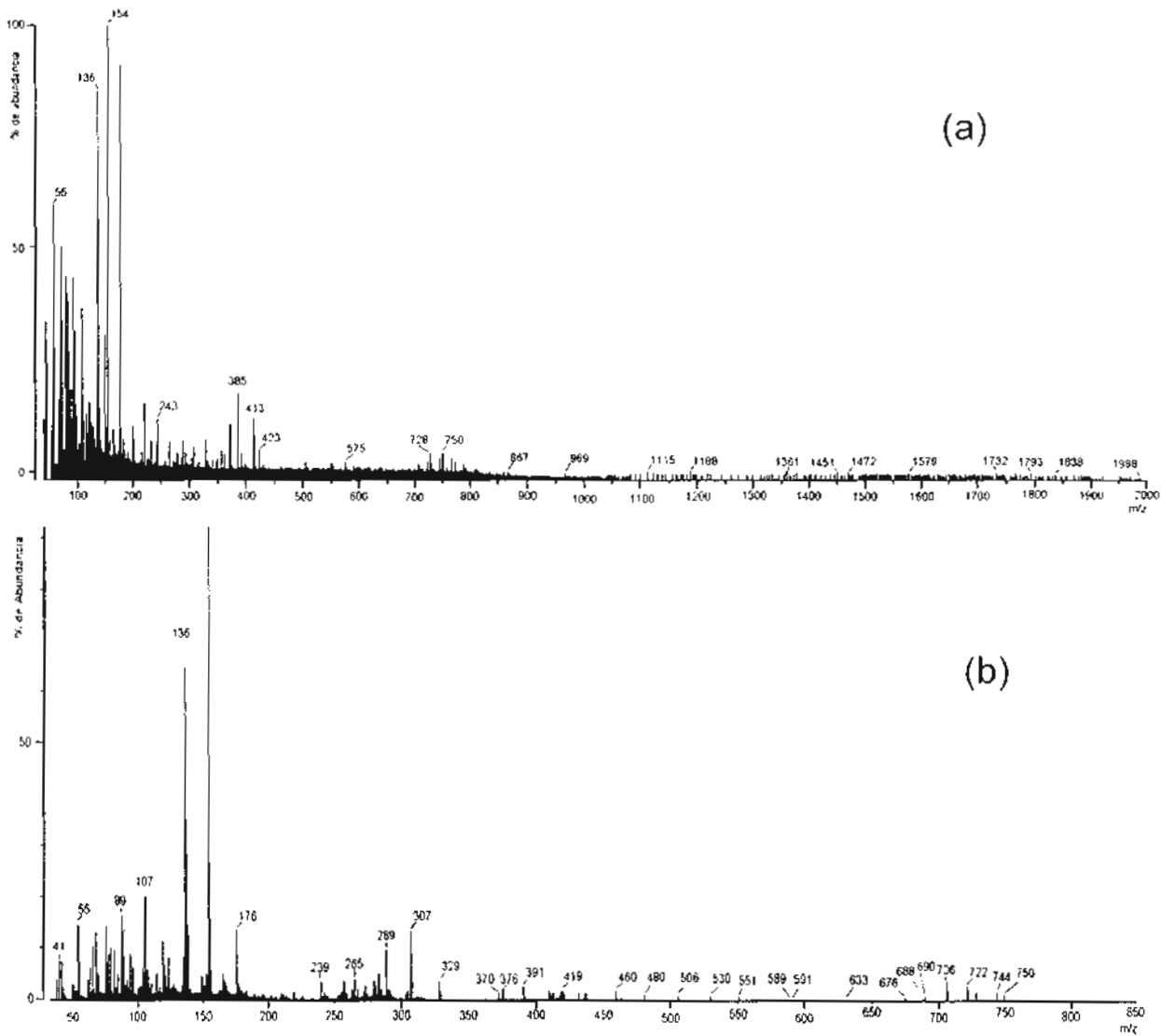


Figura 33. Espectro de masas de un extracto metanol-agua de harina de maíz (a) sin tratamiento de radiación gamma; (b) tratada con radiación gamma (15 KGy).

De la misma manera se realizó la extracción y purificación de las fumonisinas en harina de maíz irradiada a 15 KGy, y se analizó mediante espectrometría de

masas. Comparando el espectro de un extracto de harina de maíz no tratada con el espectro del extracto del harina irradiada (Fig. 33 b) se observa que en este último no se encuentran señales arriba de 1000 m/z, lo cual puede atribuirse a las reacciones de degradación y entrecruzamiento de las moléculas de almidón (30% amilosa que es lineal y 70% de amilopectina que es ramificada) como lo describen Zhai *et al.*, (2003). Además, mencionan que el almidón en solución acuosa diluida es un tipo de polímero de degradación por radiación (Zhai *et al.*, 2002). Pero en soluciones concentradas este puede presentar entrecruzamiento, lo cual es similar a otros polímeros naturales tales como la carboximetil celulosa (CMC). También se ha reportado que en el almidón en estado físico de gel se presenta como un sistema de dos fases debido a la inmiscibilidad termodinámica de los componentes principales (amilosa con estructura lineal y la amilopectina con estructura ramificada). Lo cual significa que en el estado físico de gel se presentan diferentes interacciones entre la amilosa y el agua y entre la amilopectina y el agua.

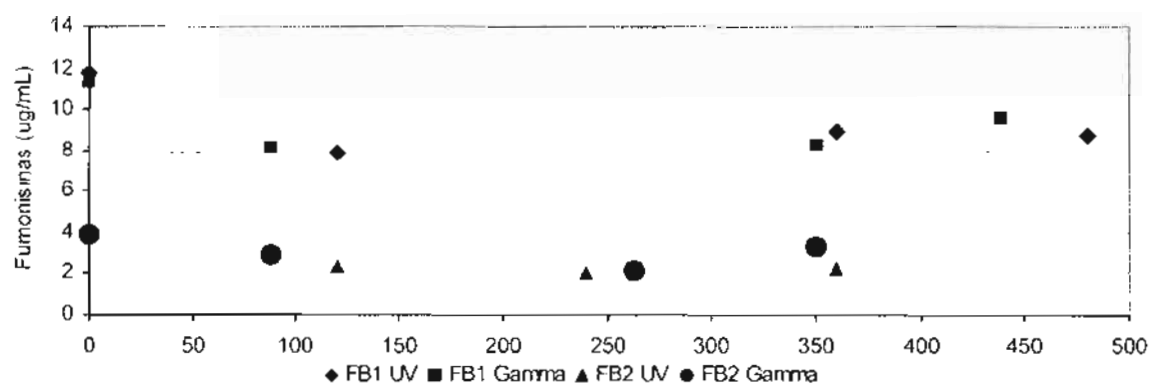
Pese a la gran variedad de señales en el espectro de masas que dificultan la identificación de las señales, se alcanzan a observar los fragmentos 706 y 722 que podrían corresponder a las fumonisinas FB₂ y FB₁ respectivamente, sin embargo, cabe la posibilidad de que sean productos de la ionización de moléculas ajenas a las fumonisinas que hayan sido extraídas junto con ellas.

Realizando las pruebas estadísticas del Modelo Lineal General (MLG) y la prueba de Duncan se encontró que las dosis de radiación probadas causan diferencia significativa en el contenido de fumonisinas en ambas harinas (Tablas E a L en Anexo II).

4.7. Comparación de los tratamientos realizados

Comparando los efectos de degradación de las fumonisinas B₁ y B₂ que logran las radiaciones gamma con las de ultravioleta para las condiciones en las que se irradiaron las muestras, se observa que tarda el mismo tiempo en lograrse un mismo efecto, como lo muestra la Figura vs Tabla, 34, el análisis estadístico (GLM) indica que no hay diferencia significativa entre los dos tipos de radiaciones empleadas para disminuir los niveles de fumonisinas en harina de maíz (Tablas LL y M en Anexo II), sin embargo, el mecanismo por el cual se obtiene este efecto muy posiblemente no sea el mismo, ya que ambas radiaciones difieren en penetrabilidad y energía asociada, se observa en la Figura vs Tabla, 34 que las fumonisinas frente a la radiación ultravioleta y frente a la radiación gamma durante una cantidad de tiempo similar se afectan en la misma proporción, por ejemplo, para FB₁ la disminución que logran (12 KGy a una tasa de dosis de 2.056 KGy/hr) 350 minutos dentro del irradiador gamma beam es de 27.36% muy similar a la que logran 360 minutos frente a la lámpara de luz ultravioleta de 100 watts que es de 24.06%.

A pesar de las similitudes observadas en la disminución en el contenido de fumonisinas por ambas radiaciones, hay diferencias entre estas dos formas de disminuir el contenido de fumonisinas, ya que en el tratamiento con luz ultravioleta sólo se puede tratar una muestra de 25 g a la vez, mientras que en el caso de la radiación gamma es posible irradiar grandes cantidades de muestra (toneladas) pero es más costoso al inicio y requiere de un técnico especializado, además de que la radiación gamma por ser de mayor penetrabilidad puede causar más cambios a la composición del alimento que la radiación ultravioleta.



TIEMPO (minutos)	FB ₁					FB ₂					
	Gamma		Ultravioleta			Gamma		Ultravioleta			
	(µg/mL) ^a	Disminución (%)	TIEMPO (minutos)	(µg/mL) ^a	Disminución (%)	TIEMPO (minutos)	(µg/mL) ^a	Disminución (%)	TIEMPO (minutos)	(µg/mL) ^a	Disminución (%)
Control	11.33	-----	Control	11.76	-----	Control	3.90	-----	Control	4.08	-----
88	8.19	27.71	120	7.85	33.28	88	2.90	25.64	120	2.31	43.30
175	7.53	33.54				175	2.45	37.24			
263	6.41	43.42	240	8.77	25.40	263	2.14	45.26	240	2.02	50.39
350	8.23	27.36	360	8.93	24.06	350	3.27	16.15	360	2.19	46.45
438	9.64	14.89	480	8.78	25.36	438	3.49	10.43	480	2.29	44.00

^a Cada valor es el promedio de al menos tres determinaciones.

Figura vs Tabla, 34. Comparación de los efectos obtenidos por la radiación gamma y la radiación ultravioleta sobre las fumonisinas B₁ y B₂ en harina de maíz (muestra 10, maíz amarillo no QPM).

V. CONCLUSIONES

5.1. Caracterización física

El 38.46% del maíz amarillo y blanco mejorado tienen calidad México 4 y del 23.07 - 30.77% México 2, y 15.38% se encontró Fuera de Norma.

El 46.6% del maíz amarillo no mejorado tiene calidad México 4 y 26.66% Fuera de Norma. El 70.96% del maíz blanco no mejorado tiene calidad Fuera de norma.

5.2. Caracterización química

La calidad del maíz amarillo y blanco mejorado > calidad del maíz amarillo y blanco no mejorado > testigos comerciales.

Con relación al contenido de FB_1 y FB_2 , en todos los casos $FB_1 > FB_2$ y el Maíz blanco y amarillo mejorado > maíz blanco y amarillo no mejorado > testigos comerciales.

Mediante el análisis de masas (FAB+) se confirmó la presencia de FB_1 y FB_2 en las muestras de maíz analizadas. El ión molecular de cada uno de los estándares presentó una abundancia del 10 al 20% con un m/z de 722 y 706 respectivamente.

5.3. Tratamiento con radiación UV y gamma

El análisis de varianza de los tratamientos a 25, 60 y 90°C y tiempos de exposición de 0 a 120 min ($\lambda = 380$ nm) demuestra que SI hay diferencia significativa en el contenido de fumonisina (B_1 y B_2) entre los diferentes tiempos de exposición ($\alpha = 0.05$) y que los tratamientos a 25, 60 y 90°C son iguales

Además, se observó en ambos tratamientos, que la matriz juega un papel muy importante en el efecto que tiene la radiación (UV o gamma) sobre las

fumonisinias, observándose un mayor descenso en el contenido inicial cuando fueron sometidos los estándares puros comparados con los niveles de descenso que presentaron las fumonisinias que se encontraban presentes como contaminantes naturales del maíz.

No se observó un efecto significativo del TiO_2 en las fumonisinias, si el contenido de agua en la matriz se encuentra entre 12 y 14 %. Sin embargo, en las muestras con mayor contenido de agua (50%) se observó un efecto catalizador y un mayor descenso total en la concentración de FB_1 y FB_2

La radiación UV, por ser de tipo no ionizante, favorece la formación de radicales libres a partir de la grasa presente en la muestra, además, las reacciones de entrecruzamiento y degradación de las moléculas del almidón liberan a las fumonisinias favoreciendo su degradación

En muestras con alto contenido de grasa, tanto la radiación gamma (con y sin TiO_2) como la radiación UV/ TiO_2 favorecen primero la degradación de las fumonisinias vía radicales libres provenientes de las grasas y posteriormente la biodisponibilidad de éstas por las reacciones de degradación y entrecruzamiento de las moléculas del almidón, y en aquellas muestras con menor contenido de grasa primero se llevan a cabo las reacciones de degradación y entrecruzamiento del almidón que favorecen la disponibilidad de las fumonisinias y posteriormente su degradación.

Ambas radiaciones provocan en la harina de maíz contaminado, reacciones de entrecruzamiento y ruptura de las cadenas del almidón, induciendo en ambos casos un comportamiento errático de ascenso y descenso en la concentración de fumonisinias.

BIBLIOGRAFÍA

Abbas, H. K., Cartwright, R. D., Shier, W. T., Abouzied, M. M., Bird, C.B., Rice, L., G., Ross, P. F., Sciumbato, G. L., and Meredith, F. I. 1998. Natural occurrence of fumonisins in rice with *Fusarium* sheath rot disease. *Plant Disease*, 82:22-25.

Abbas, H. K., Williams, W. P., Windham, G. L., Pringle III, H. C., Xie, W., and Shier, W. T. 2002. Aflatoxin and fumonisin contamination of commercial corn (*Zea mays*) hybrids in Mississippi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5246-5254.

Alves, S. H., Mendes, R., Nunes, M. L., and Empis, J. 2006. Protein changes after irradiation and ice storage of horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *European Food Research Technology*, 224: 83-90.

Amusia, M. Y. 2007. Fast electron and X-ray scattering as a tool to study target's structure. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 159: 81-90

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, AOAC. Horwitz, W. 16a ed. Washington D.C., USA.

Alberts J.F., Gelderblom, W.C.A., Thiel P.G., Marasas, W.F.O., Van Schalkwyk, D.J., and Behrend, Y. 1990. Effects of temperature and incubation period on production of fumonisin B₁ by *F. moniliforme*. *Applied and Environmental Microbiology*, 56:1729-1733.

Andrellos, P. J., Beckwith, A. C., and Eppley, R. M. 1967. Photochemical changes of aflatoxin B₁. *Journal of the Association of official Analytical Chemists*, 50: 346-350.

Aziz, N. H., El-Far, F. M., Shahim, A. A. M., and Roushy, S. M. 2007. Control of fusarium moulds and fumonisin B1 in seeds by gamma irradiation. *Food Control*, 18: 1337-1342.

Bacon, C. W., and Williamson, J. W. 1992. Interactions of *Fusarium moniliforme*, its metabolites and bacteria with corn. *Mycopathologia*, 117: 65-71.

Bahnemann, W., Munner, M., and Haque, M.M. 2007. Titanium dioxide-mediated photocatalysed degradation of few selected organic pollutants in aqueous suspensions. *Catalysis Today*, doi: 10.1016/j.cattod.2007.03.031.

Bartók, T., Szécsi, A., Szekeres, A., Mesterházy, A., and Bartók M. 2006. Detection of new fumonisin mycotoxins and fumonisin-like compounds by reverse-phase high-performance liquid chromatography/electrospray ionization ion trap mass spectrometry, *Rapid communications in mass spectrometry*, 20: 2447-2462.

Bata, Á. and Radomir, L. 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 223-228.

Bertolini, A.C., Mestres, C., Colonna, P., and Raffi, J. 2001. Free radical formation in UV and gamma-irradiated cassava starch. *Carbohydrate Polymers*, 44: 269-271.

Bezuidenhout, S. C., Gelderblom, W. C. A., Gorst-Allman, C. P., Marthinus Horak, R., Marasas, W. F. O., Spiteller, G., and Vleggaar, R. 1988. Structure elucidation of fumonisins, mycotoxins from *Fusarium moniliforme*. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 743-745.

Bhat, Ramesh, V., Shetty, Prathap Kumar, H., Amruth, Rao, P., and Sudershan, Rao, V. 1997. A foodborne disease outbreak due to the consumption of moldy

sorghum and maize containing fumonisin mycotoxins. *Journal of Toxicology-Clinical Toxicology*, 35:249-255.

Bidzinska, E., Dyrek, K., Fortuna, T., Labanowska, M., and Pietrzyk, S. 2004. EPR studies of thermally treated oxidized corn starch. *Starch*, 56:461-468.

Blackwell, B. A., Edwards, O. E., Fruchier, A., ApSimon, J. W., and Miller, J. D. 1996. NMR structural studies of fumonisin B₁ and related compounds from *Fusarium moniliforme*. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 392, 75-91.

Bojja, R. S., Cerny, R. L., Proctor, R. H., and Du, L. 2004. Determining the Biosynthetic Sequence in the Early Steps of the Fumonisin Pathway by Use of three Gene-Disruption Mutants of *Fusarium verticillioides*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:2855-2860.

Bolger, M., Coker, R. D., DiNovi, M., Gaylor, D., Gelderblom, W., Olsen, M., Paster, N., Riley, R.T., Shephard, G., and Speijers, G. J. A. 2001. Fumonisin. In *Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food*; WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition paper 74; prepared by the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA); WHO: Geneva, Switzerland. 103-279.

Bordson, G., Meerdink, G., Bauer, K., and Tumbleson, M. 1993. Fumonisin recovery from samples dried at various temperatures. Presented at the Midwest Section Meeting, AOAC International, Des Moines, I. A. June 7-10.

Borrell, P. 1980. *Fotoquímica*. Ed. El Manual Moderno. México D.F. 5-11.

Branham, B. E., and Plattner, R. D. 1993. Alanine is a precursor in the biosynthesis of fumonisin B1 by *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*, 124:99-104.

Brunella, M.F., Diamanti, M. V., Pedferri, M. P., and Fonzo, F. D. 2007. Photocatalytic behavior of different titanium dioxide layers. *Thin Solid Films*, 515: 6309-6313.

Bullerman, L. B. 1998. Fusaria and toxigenic molds other than Aspergilli and Penicillia, capítulo 23. En M.P. Doyle, L.R. Beuchat and J.J. Montville (eds). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers* 2da edición. ASM Press Washington, D.C. USA. pp 419-434.

Cameron, B. R. 1995. Procesos malignos del esófago. En: *Oncología práctica*. Ed. Cameron B. R. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina. 242-253.

Castelo, M. M., Summer, S. S., and Bullerman, L. B. 1998. Stability of fumonisins in thermally processed corn products. *Journal of Food Protection*, 61: 1030-1033.

Castellá, G., Bragulat, M. R., and Cabañes, F. J. 1999. Surveillance of fumonisins in maize-bases feed and cereals from Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4707-4710.

Cavret, S; and Lecoœur, S. 2006. Fusariotoxin transfer in animal. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 444-453.

Chiou, R. Y. Y., Lin, C. M., and Shyu, S. L. 1990. Property characterization of peanut kernels subjected to gamma irradiation and its effect on the outgrowth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. *Journal of Food Science*, 55: 210-213.

Chu, F.S., and Li, G. Y. 1994. Simultaneous occurrence of FB₁ and other mycotoxins in moldy corn collected from the people's Republic of China in regions with high incidences of esophageal cancer. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 847-852.

Colaboradores de FDA/CFSAN. 2001. Guidance for Industry Fumonisin level in human food and animal feeds. [en línea] U.S. Department of Health and Human Services, *Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Center for Veterinary Medicine*. pag. 1-5. [fecha de consulta: 9 de enero del 2006]. Disponible en: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/fumongu2.html>>

Colaboradores de Future Harvest. 35 years in the making, high-protein, high - yielding corn to prevent malnutrition among millions, [en línea]. Future Harvest, CIMMYT. 2000 [fecha de consulta: 13 de marzo del 2006]. Disponible en <http://www.cimmyt.mx/research/maize/world_food_prize_qpm/qpm_wfp.html>

Colaboradores de Wikipedia, 2006. *Radiación ultravioleta* [en línea]. Wikipedia, La enciclopedia libre, [fecha de consulta: 31 de mayo del 2006]. Disponible en <http://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Radiaci%C3%B3n_ultravioleta&oldid=3284409>

Collins, T. F. X., Sprando, R. L., Black, T. N., Olejnik, N., Rorie, J. I., Bryant, M., and Ruggles, D. I. 2006. Effects of aminopentol on in utero development in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 44: 161-169.

Cutrubinis, M., Chirita, D., Savu, D., Secu, C. E., Mihai, R., Secu, M., and Ponta, C. 2007. Preliminary study on detection of irradiated foodstuffs from the Romanian market. *Radiation Physics and Chemistry*, 76: 1450-1454.

Da Silva, J. B., Pozzi, C. R., Mallozzi, A. B., Ortega, E. M., and Correa, B. 2000. Mycoflora and occurrence of aflatoxin B₁ and fumonisin B₁ during storage of Brazilian sorghum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 4352-4356.

Diccionario de Especialidades para la Industria Alimentaria (DEIA) 2006. Edición 16, Thomson PLM, S.A. de C.V. Av. Barranca del muerto No. 8 Col. Crédito constructor 03940 México D.F. pag. 170-171.

De la Campa, R., Miller, D., and Hendricks, K. 2004. Fumonisin in tortillas produced in small-scale facilities and effect of tradicional masa production methods on this mycotoxin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 4432-4437.

De Nijs, M., Van Egmond, H. P., Nauta, M., Rombouts, F.M. and Notermans, S.H. 1998. Assessment of human exposure to fumonisin B₁. *Journal of Food Protection*, 61: 879-884.

Desjardins, A.E., Plattner, R.D., and Nelson, P.E. 1994. Fumonisin production and other trail of *Fusarium moniliforme* strain from maize in Northeast of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 1695-1697.

Diehl, J.F. 1990. Safety of irradiated foods, Ed. J. Diehl, Marcel Dekker, Press New York, USA. 145-179.

Dombrinck-Kurtzman, M. A., and Dvorak, T. J. 1999. Fumonisin content in masa and tortillas from México. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 622-627.

Duvick, J., Rood, T., Maddox, J., and Gilliam, J. 1998. Detoxification of mycotoxins in plants as a strategy for improving grain quality and disease resistance: identification of fumonisin-degrading microbes from maize. *In: Molecular Genetics of Host-Specific toxins in plant disease*. 369-381.

Erlandsson, B., Karlsson, S., and Albertsson, A. C. 1997. The mode of action of corn starch and a pro-oxidant system in LDPE: influence of thermo-oxidation and UV-irradiation on the molecular weight changes. *Polymer Degradation and Stability*, 55: 237-245.

Fandohan, P., Gbenou, J. D., Gnonlonfin, B., Hell, K., Marasas, W. F. O., and Wingfield, M. J. 2004. Effect of essential oils on the growth of *Fusarium verticillioides* and Fumonisin contamination in corn. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 6824-6829.

Farkas, J. 2006. Irradiation for better foods. *Trends in Food Science and Technology*, 17: 148-152.

Feng, H., and Le-cheng, L. 2004. Degradation kinetics and mechanisms of phenol in photo-Fenton process. *Journal of Zhejiang University SCIENCE*, 5:198-205.

Fernández-Surumay, G., Osweiler, G. D., Yaeger, M. J., Hauck, C. C., Hendrich, S., and Murphy, P. A. 2004. Glucose reaction with fumonisin B₁ partially reduces its toxicity in swine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 7732-7739.

Fernández-Surumay, G., Osweiler, G. D., Yaeger, M. J., Rottinghaus, G. E., Hendrich, S., Buckley, L. K., and Murphy, P. A. 2005. Fumonisin B-glucose reaction products are less toxic when fed to swine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4264-4271.

Fiedorowicz, M., Tomasik, P., You, S., and Lim, S-T. 1999. Molecular distribution and pasting properties of UV-irradiated corn starches. *Starch*, 51:126-131.

Gelderblom, W.C.A., Marasas, W.F.O., Jaskiewick, K., Combrinck, S., and van Schalkwyk, D. J. 1988. Cancer promoting potential of different strains of *Fusarium moniliforme* in a short-term cancer initiation/promotion assay. *Carcinogenesis*, 9: 1405-1409.

Gelderblom, W.C.A., Marasas, W.F.O., Vleggaar, R., Thiel, P.G., and Cwood, M.E. 1992. Fumonisin: isolation, chemical characterization and biological effects. *Mycopathologia*, 117: 11-16.

Grant, L. A., and D'Applonia, B. L. 1991. Effect of low level gamma radiation on water-soluble nonstarchy polysaccharides isolated from hard red spring wheat flour and bran. *Cereal Chemistry*, 68: 651-652.

Haschek, W. M., Gumprecht, L. A., Smith, G. W., Tumbleson, M. E., and Constable P. D. 2001. Fumonisin toxicosis in swine: An overview of porcine pulmonary edema and current perspectives. *Environmental Health Perspectives*, 109: 251-257.

Hendrich, S., Miller, K. A., Wilson, T. M and Murphy, P. A. 1993. Toxicity of *Fusarium proliferatum* fermented nixtamalized corn-based diets fed to rats: Effect of nutritional status. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 1649-1654.

Hopmans, E. C., and Murphy, P. A. 1993. Detection of fumonisins B₁ B₂ and B₃ hydrolyzed fumonisin B₁ in corn-containing food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41: 1655-1658.

Howard, P. C., Churchwell, M. I., Couch, L. H., Marques, M. M., and Doerge, D. R. 1998. Formation of N-(Carboximethyl) fumonisin B₁ following the reaction of fumonisin B₁ with reducing sugars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 3546-3557.

Huwig A., Freimund S., Käppeli O., and Dutler H. 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbents. *Toxicology Letters*, 122: 179-188.

International Agency for Research on Cancer (IARC). 2002. Fumonisin B₁. *In* IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to humans, Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. IARC. Lyon, France, vol. 82: 301-366.

Jackson, L. S., Hlywka, J. J., Senthil, K. R., Bullerman, L. B. and Musser, S. M. 1996a. Effects of thermal processing on the stability of fumonisin B₂ in an aqueous model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1984-1987.

Jackson, L. S., Hlywka, J. J., Senthil, K. R., Bullerman, L. B. and Musser, S. M. 1996b. Effects of time, temperature and pH on the stability of fumonisin B₁ in an aqueous model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 906-912.

Jackson, L. S., Hlywka, J. J., Senthil, K. R. and Bullerman, L. B. 1996c. Effect of thermal processing on the stability of fumonisins. *In*. Fumonisin in Food; Jackson L., De Vries J. W., Bullerman L. B., Eds., Plenum Press. New York: USA. 345-353.

Jackson, L. S., Katta, S. K., Fingerhut, D. D., De Vries, J. W. and Bullerman, L. B. 1997. Effects of baking and frying on the fumonisin B₁ content of corn-based food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 4800-4805.

Joshi, K. B., and Sharma, B. K. 2007. Electronic structure and momentum density distribution of titanium dioxide. *Journal of Alloys and Compounds*, 440: 51-56.

Kang, I. J., Byun, M. W., Yook, H. S., Bae, C. H., Lee, H. S., Kwon, J. H., and Chung, C. K. 1999. Production of modified starches by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 54: 425-430.

Kellerman, T. S., Marasas, W. F. O., Thiel, P. G., Gelderblom, W. C. A., Cawood, M., and Coetzer, J. A. W. 1990. Leukoencephalomalacia in two horses induced by oral dosing of fumonisin B₁. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 57: 269-275.

Kim, E. K., Kim, Y. B., Shon, D. H., Ryu, D., and Chung, S. H. 1998. Natural occurrence of fumonisin B₁ in Korean rice and its processed foods by enzyme-linked immunosorbent assay. *Food Science and Biotechnology*, 7: 221-224.

Kim, E. K., Maragos, C. M., and Kendra, D. 2004. Liquid chromatographic determination of Fumonisin B₁, B₂ and B₃ in Corn Silage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 196-200.

Kóber, E., González, M. E., Gavioli, N., and Salmoral, E.M. 2007. Modification of water absorption capacity of a plastic based on bean protein using gamma irradiated starches as additives. *Radiation Physics and Chemistry*, 74: 55-60.

Kollengode, A. N. R., Bhatnagar, S., and Hanna, M.A. 1996. ⁶⁰Co Radiation effect on copolymers of starch and plastics. *Engineering and Processing*, 73: 539-542.

Kyung, K. J., Jo, Ch., Jin, P. H., and Woo, B. M. 2006. Effect of gamma irradiation on the physicochemical properties of a starch-based film. *Food Hydrocolloids*, doi:10.1016/j.foodhyd.2006.11.010.

Lemke, S. L., Ottinger, S. E., Ake, C. L., Mayura, K., and Phillips, T. D. 2001. Deamination of Fumonisin B₁ and biological assessment of reaction product toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 14: 11-15.

Liu, C., Liu, F., Xu, W., Kofoet, A., Humpf, H. U., and Jiang, S. 2005. Occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in asparagus from Shandong province, P. R. China. *Food Additives and Contaminant*, 22: 673-676.

Liu, H., Lu, Y., Haynes, J. S., Cunnick, J. E., Murphy, P., and Hendrich, S. 2001. Reaction of fumonisin with glucose prevents promotion of hepatocarcinogenesis in female F344/N rats while maintaining normal hepatic sphinganine/sphingosine ratios. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 4113-4121

Logrieco, A., Doko, B., Moretti, A., Frisullo, S., and Visconti, A. 1998. Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in *Fusarium proliferatum* infected asparagus plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46: 5201-5204.

Lu, Z., Dantzer, W. R., Hopmans, E. C., Prisk, V., Cunnick, J. E., Murphy, P.A., and Hendrich, S. 1997. Reaction with fructose detoxifies fumonisin B₁ while stimulating liver-associated natural killer cell activity in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 803-809.

Malta, R. A., De Olivera de Jesus, E. F. 1994. Una radiación que conserva. *Ciencia Hoy* 5, 27 16 pag. Centro Brasileiro de pesquisas fisicas, Universidade Federal do rio de janeiro, Brasil.

Mantena, S. K., and Katiyar, S. K. 2006. Grape seed proanthocyanidins inhibit UV-radiation-induced oxidative stress and activation of MAPK and NF-κB signaling in human epidermal keratinocytes. *Free Radical Biology and Medicine*, 40:1603-1614.

Maragos, C.M., and Richard, J. L. 1994. Quantitation and stability of fumonisins B₁ and B₂ in milk. *Journal of Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International*, 77: 1162-1167.

Marasas, W. F. O., Kellerman, T. S., Gelderblom, W. C. A., Coetzer, J. A. W., Thiel, P. G., and Van Der Lugt, J. J. 1988. Leuko-encephalomalacia in a horse induced by fumonisin B₁ isolated from *Fusarium moniliforme*. *The Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 55: 197-203.

Maron, S. H., y Pruton, C. F. 1996. Fundamentos de fisicoquímica. Ed. Limusa, México D.F. 787-812.

Martins, M. L., Martins, H. M., and Bernardo, F. 2001. Fumonisins B₁ and B₂ in black tea and medicinal plants. *Journal of Food Protection*, 64: 1268-1270.

Masaero, F., Maschini, M., Rossi, F., Prandini, A., and Pietri, A. 1999. Nutritive value, mycotoxin contamination and *in vitro* rumen fermentation of normal and generically modified corn (Cry 1 A (B)) grown in northern Italy. *Maydica*, 44: 205-209.

McKenzie, K. S., Sarr, A. B., Mayura, K., Bailey, R. H., Miller, D.R., Rogers, T. D., Norred, W. P., and Voss, K. A. 1997. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. *Food and Chemical Toxicology*, 35: 807-820.

McMurry, J. 1994. Química orgánica. Editorial Iberoamérica. México. p. 389-418.

Merrill, A. H., Jr., van Echten, G., Wang, E., and Sandhoff, K. 1993. Fumonisin B₁ inhibits sphingosine (sphinganine) N-acyltransferase and de novo sphingolipid

biosynthesis in cultured neurons in situ. *The Journal of Biological Chemistry*, 268: 27299-27306.

Miller, M.A., Honstead, J.P., and Lovell, R.A. 1996. Regulatory aspects of fumonisins with respect to animal feed. *In: Fumonisin in Food*; Jackson L., De Vries J.W., Bullerman L.B., Eds., Plenum Press. New York USA. 363-368.

Molinie, A., Faucet, V., Castegnaro, M., and Pfohl-Leszkowicz, A. 2005. Analysis of some breakfast cereals on the French market for their contents of ochratoxin A, citrinin and fumonisin B₁: development of a method for simultaneous extraction of ochratoxin A and citrinin. *Food Chemistry*, 92: 391-400.

Momany, F.A., and Dombrink-Kurtzman, M.A. 2001. Molecular dynamics simulations on the mycotoxin fumonisin B₁. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 1056-1061.

Murphy, P.A., Hendrich, S., Hopmans, E.C., Hauck, C.C., Lu, Z., Buseman, G., and Munkvald, G. 1996. Effect of processing on fumonisin content of corn. *In: Fumonisin in Food*. Jackson, L., De Vries J. W., Bullerman L.B. Eds. Plenum Press: New York, USA. 323-334.

Musser, S. M., Gay, M. L., Mazzola, E. P., and Plattner, R. D. 1996. Identification of a new series of fumonisins containing 3-hydroxypyridine. *Journal of Natural Products*, 59: 970-972.

Nagasawa, N., Yagi, T., Kume, T., and Yoshii, F. 2004. Radiation crosslinking of carboxymethyl starch. *Carbohydrate Polymers*, 58: 109-113.

Narváez-González, E. D., and Figueroa-Cárdenas, J de D. 2006. Kernel microstructure of Latin American races of maize and their thermal and rheological properties. *Cereal Chemistry*, 83: 605-610.

Navarrete, M., y Cabrera, L. 1993. Introducción al estudio de los radioisótopos. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Sección Nuclear, Departamento de Química Inorgánica y Nuclear.

Nguefack, J., Leth, V., Amvam Zollo, P. H., and Mathur, S.B. 2004. Evaluation of five essential oils from aromatic plants of Cameroon for controlling food spoilage and mycotoxin producing fungi. *International Journal of Food Microbiology*, 94:329-334.

Norma oficial Mexicana NOM-033-SSA1. 1993. Bienes y Servicios, Irradiación de alimentos. Dosis permitidas en alimentos, materias primas y aditivos alimentarios. Diario Oficial de la Federación, Secretaría de Salud, México D.F a 7 de marzo de 1995.

Norma Mexicana NMX-FF-034-1995-SCFI. 1995. Productos alimenticios no industrializados - Cereales – Maiz (*Zea mays* L.) – Especificaciones y métodos de prueba. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial Norma Mexicana. Dirección General de Normas. México, D.F. a, 28 jul. 1995. 14 p.

Ollis, D.F. 1993. Comparative aspects of advanced oxidation processes. Ed. American Chemical Society. North Carolina, USA. 35-118.

Omurtag, G. Z., and Yazicioglu, D. 2004. Determination of fumonisins B₁ and B₂ in herbal tea and medicinal plants in Turkey by high-performance liquid chromatography. *Journal of Food Protection*, 67:1782-1786.

Osweller, G.D., Kehrl, M.E., Stabel, J.R., Thurston, J.R., Ross, P.F., and Wilson, T. M. 1993. Effects of fumonisin-contaminated corn screenings on growth and health of feeder calves. *Journal of Animal Science*, 71: 459-466.

Paepens, C., De Saeger, S., Sobanda, L., Barna-Vetró, I., Anselmo, M., Larondelle, Y., and Van Peteghem, C. 2005. Evaluation of fumonisin contamination in cornflakes on the Belgian market by "flow-through" assay screening and LC-MS/MS analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 7337-7343.

Park, D. L., Rua, S. M., Mirocha, C. J., Abd-Alla, A. M., and Weng, C. Y. 1992. Mutagenic potentials of fumonisin contaminated corn following ammonia decontamination procedure. *Mycopathologia*, 117: 105-108.

Pascale, M., Visconti, A., Pronczuk, M., Wisniewska, H., and Chelkowski, J. 1997. Accumulation of fumonisins in maize hybrids inoculated under field conditions with *Fusarium moniliforme* Sheldon. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74: 1-6.

Patel, U. D., Govindarajen, P., and Dave, P. J. 1989. Inactivation of aflatoxin B₁ by using the synergistic effect of hydrogen peroxide and gamma radiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 55: 465-467.

Patel, S., Hazel, C. M., Winterton, A. G. M., and Mortby, E. 1996. Survey of ethnic foods for mycotoxins. *Food Additives and Contaminants*, 13: 833-841.

Patel, S., Hazel, C. M., Winterton, A. G. M., and Gleade, A. E. 1997. Surveillance of fumonisins in UK maize-based foods and other cereals. *Food Additives and Contaminants*, 14: 187-191.

Pelizzetti, E., Minero, C., and Vincenti, M. 1994. Photocatalytic degradation of organic contaminants. *Technologies for Environmental cleanup. Toxic and hazardous waste management*. 101-138.

Pimblott, S. M., and La Verne, J. A. 2007. Production of low energy electrons by ionizing radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 76: 1244-1247.

Pittet, A., Parisod, V., and Schellenberg, M. 1992. Occurrence of fumonisins B₁ and B₂ in corn-based products from the Swiss market. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1352-1354.

Placinta, C. M., D'Mello, J. P. F., and Macdonald, A. M. C. 1999. A review of worldwide contamination of cereal grains and animal feed with *Fusarium* mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 78: 21-37.

Plattner, R.D., Ross, P.F., Reagor, J., Stedelin, J., and Rice, L.G. 1991. Analysis of corn and cultured corn for fumonisin B₁ by HPLC and GC/MS by four laboratories. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 3: 357-358.

Plattner, R. D., and Shackelford, D. D. 1992. Biosynthesis of labeled fumonisins in liquid cultures of *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*, 117: 17-22.

Poling, S. M., and Plattner, R. D. 1999. Rapid purification of fumonisins and their hydrolysis products with solid-phase extraction columns. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 2344-2349.

Prathapkumar, H. S., and Bhat, R. V. 1997. Natural occurrence of fumonisin B₁ and its co-occurrence with aflatoxin B₁ in Indian sorghum, maize and poultry feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 2170-2173.

Proctor, R. H., Plattner, R. D., Desjardins, A. E., Busman, M., and Butchko, R. A. E. 2006. Fumonisin Production in the Maize Pathogen *Fusarium verticillioides*: Genetic Basis of Naturally Occurring Chemical Variation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 10.1021/jf0527706.

Quiroga, M.A. 1990. *Revista Veterinaria Argentina*, 7 (67): 477-483.

Rheeder, J. P., Marasas, W. F. O., Thiel, P. G., Sydenham, E. W., Shephard, G. S., and Van Schalkwyk, D. J. 1992. *Fusarium moniliforme* and fumonisins in corn in relation to human esophageal cancer in Transkei. *Phytopathology*, 82: 353-357.

Rheeder, J. P., Marasas, W.F.O., and Vismer, H. F. 2002. Production of fumonisin analogues by *Fusarium* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 2101-2105.

Rohan, A. T., and Smith, J. S. 1996. Determination of fumonisins B₁ and B₂ and their major hydrolysis products in corn, feed, and meat, using HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1047-1052.

Riley, R. T., Showker, J. L., Owens, D. L., and Ross, P. F. 1987. Disruption of sphingolipid metabolism and induction of equine leukoencephalomalacia by *Fusarium proliferatum* culture material containing fumonisin B₂ or B₃. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 3: 221-228.

Ross, P. F., Rice, L. G., Reagor, J. C., Osweiler, G. D., Wilson, T. M., Nelson, H. A., Owens, D. L., Plattner, R. D., Harlin, K. A., and Richard, J. L. 1991. Fumonisin B₁ concentrations in feeds from 45 confirmed equine leukoencephalomalacia cases. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 3, 238-241.

Rumbeiha, W. K., and Oehme, F. W. 1997. Fumonisin exposure to Kansans through consumption of corn-based market. *Veterinary and Human Toxicology*, 39: 220-225.

Saini, K. K., Sharma, S. D., Chanderkant, Kar, M., Singh, D., and Sharma, C.P. 2007. Structural and optical properties of TiO₂ thin films derived by sol-gel dip coating process. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 353: 2469-2473.

Samapundo, S., De Meulenaer, B., and De Muer, N. 2006. Influence of experimental parameters on the fluorescence response and recovery of the high-performance liquid chromatography analysis of fumonisin B₁. *Journal of chromatography A*, 1109: 312-316.

Samarajeewa, U., Sen, A. C., Cohen, M. D. and Wei, C. I. 1990. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical and chemical methods. *Journal of Food Protection*, 53: 489-501.

Saquib, M., Tariq, M. A., Haque, M.M., and Muneer, M. 2007. Photocatalytic degradation of disperse blue 1 using UV/TiO₂/H₂O₂ process. *Journal of Environmental Management*, doi:10.1016/j.jenvman.2007.03.012.

Scott, P. M., and Lawrence, G. A. 1995. Analysis of beer for fumonisins. *Journal of Food Protection*, 58: 1379-1382.

Seefelder, W., Gossmann, M., and Humpf, H. U. 2002. Analysis of fumonisin B₁ in *Fusarium proliferatum* infected asparagus spears and garlic bulbs from Germany by liquid chromatography electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2778-2781.

Servicio de información y estadística agroalimentaria y pesquera (Siap), Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) [en línea]. Fecha de consulta: [7 de abril del 2006]. Disponible en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/ar_comdetagr1.html>.

Sewram, V., Mshicileli, N., Shephard, G. S., Vismer, H. F., Rheeder, J. P., Lee, Y. W., Leslie, J. F., and Marasas, W. F. O. 2005. Production of Fumonisin B and C Analogues by Several *Fusarium* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 4861-4866.

Shantha, T., and Murthy, V. S. 1977. Photo-destruction of aflatoxin in groundnut oil. *Indian Journal of Technology*, 15. 453-454.

Shantha, T., and Murthy, V. S. 1980. Storage of groundnut oil detoxified by exposure to sunlight. *Indian Journal of Technology*, 18: 346-347.

Shantha, T., and Murthy, V. S. 1981. Use of sunlight to partially detoxify groundnut cake flour and casein contaminated with aflatoxin B₁. *Journal of the Association of official Analytical Chemists*, 64: 291-293.

Shantha, T., Murthy, V. S., Rat, E. R., and Prema, V. 1986. Detoxification of groundnut seeds by urea and sunlight. *Journal of Food Safety*, 7: 225-231.

Shephard, G. S., Thiel, P. G., Stockenstrom, S., and Sydenham, W. 1996. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *Journal of the Association of official Analytical Chemists International*, 79: 671-686.

Shephard, G. S., and van der Westhuizen, L. 1998. Liquid chromatographic determination of the sphinganine/sphingosine ratio in serum. *Journal of Chromatography B*, 710: 219-222.

Shephard, G. S., Van Der Westhuizen, L., Gatyeni, P. M., Somdyala, N. I. M., Burger, H. M., and Marasas, W. F. O. 2005a. Fumonisin mycotoxins in traditional Xhosa maize beer in South Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9634-9637.

Shephard, G. S., Van Der Westhuizen, L., Gatyeni, P. M., Katerene, D.R., and Marasas, W. F. O. 2005b. Do fumonisin mycotoxins occur in wheat? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 9293-9296.

Shao, R., Wang, Ch., McCready, D. E., Droubay, T. C., and Chambers, S. A. 2007. Growth and structure of MBE grown TiO₂ anatase films with rutile nano-crystallites. *Surface Science*, 601: 1582-1589.

Siame, B. A., Mpuchance, S. F., Gashe, B. A., Allotey, J., and Teffera, G. 1998. Occurrence of aflatoxins, fumonisin B₁, and zearalenone in foods and feeds in Botswana. *Journal of Food Protection*, 61: 1670-1673.

Silverstein, R. M., and Bassler, G. C. 1980. Spectrometric identification of organic compounds. Ed. John Wiley and Sons. California, USA. 85-171.

Sinha, K. K and Bhatnagar, D. 1998. Mycotoxins in agriculture and food safety. Marcel Dekker Inc. United States of America. 510 paginas.

Solomons, W. G. 1988. Organic Chemistry. Ed. John Wiley and Sons. California, USA. 575-596.

Stack, M. E. 1998. Analysis of fumonisin B₁ and its hydrolysis product in tortillas. *Journal of the Association of official Analytical Chemists International*, 81: 737-740.

Sydenham, E. W., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O., Shephard, G. S., Van Schalwyk, D. J. and Koch, K. R. 1990. Natural occurrence of some Fusarium mycotoxins in corn from low and high esophageal cancer prevalence areas of the Transkei, Southern Africa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38: 1900-1903.

Sydenham, E. W., Shephard, G. S., Thiel, P. G., Marasas, W. F. O., and Stockenström, S. 1991. Fumonisin contamination of commercial corn-based human foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39: 2014-2018.

Sydenham, E. W., Marasas, W. F. O., Shephard, G. S., Thiel, P. G., and Hirooka, E. Y. 1992. Fumonisin concentrations in Brazilian feeds associated with field outbreaks of confirmed and suspected animal mycotoxicoses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 994-997.

Sydenham, E., Shephard, G.S., Thiel, P.G., Stockenstrom, S., and Snijman, P.W. 1996. AOAC-IUPAC collaborative study. *Journal of the Association of official Analytical Chemists International*, 79: 688-696.

Temcharoen, P., and Thilly, W. G. 1982. Removal of aflatoxin B₁ toxicity but not mutagenicity by 1 megarad gamma radiation of peanut meal. *Journal of Food Safety*, 4: 199-205.

Thakur, B. R., and Singh, R. K. 1995. Combination processes in food irradiation. *Trends in Food Science and Technology*, 6: 7-11

Thakur, R. A., and Smith, J. S. 1996. Determination of fumonisins B₁ and B₂ and their major hydrolysis products in corn, feed and meat, using HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 1047-1052.

Torres, M. R., Sanchis, V., and Ramos, A. J. 1998. Occurrence of fumonisins in Spanish beer analyzed by an enzyme-linked immunosorbent assay method. *International Journal of Food Microbiology*, 39: 139-143.

Tseng, T. C., and Liu, C. Y. 1997. Occurrence of fumonisin B₁ and B₂ in corn-based foodstuffs in Taiwan market. *Mycopathologia*, 137: 57-61.

Van Dyck, P. J., Tobback, P., Feys, M., and Van De Voorde, H. 1982. Sensitivity of aflatoxin B₁ to ionizing radiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 43: 1317-1319.

Vanamala, J., Cobb, G., loaiza, J., Yoo, K., and Pike, L. M. 2007. Ionizing radiation and marketing simulation on bioactive compounds and quality of grapefruit (*Citrus paradisi* cv Rio Red). *Food Chemistry*, doi: 10.1016/j.foodchem.2007.05.042.

Vatanasuchart, N., Naivikul, O., Charoenrein, S., and Siroth, K. 2005. Molecular properties of cassava starch modified with different UV irradiations to enhance baking expansion. *Carbohydrate Polymers*, 61: 80-87.

Velluti, A., Sanchis, V., Ramos, A., and Marin, S. 2004. Effect of essential oils of cinnamon, clove, lemon grass, oregano and palmarosa on growth of and fumonisin B₁ production by *Fusarium verticillioides* in maize. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 84:1141-1146.

Visconti, A. 1996. Fumonisins in maize genotypes grown in various geographic areas. *In: Fumonisin in food*; Jackson L., De Vries, J. W., Bullerman L.B. Eds., Plenum Press. New York. 193-204.

Visconti A., Solfrizzo M., Doko M.B., Boenke A., and Pascale M. 1996. Stability of fumonisins at different storage periods and temperatures in γ -irradiated maize. *Food Additives and Contaminants*, 13, (8): 929-938.

Wilkes, J. G., Sutherland, J. B., Churchwell, M. I., and Williams, A. J. 1995. Determination of fumonisins B₁, B₂, B₃ and B₄ by high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection. *Journal of Chromatography A*, 695: 319-323.

Wise, H., and Oudar, J. 1990. Material concepts in surface reactivity and catalysis. ED. Academic Press. New York, USA. 57-59.

Yescas, H. K. 2001, Fumonisin, toxinas contaminantes de maiz, producidas por *Fusarium* spp. propiedades, incidencia y análisis. Trabajo monográfico de actualización. Tesis Licenciatura, Facultad de Química, UNAM. México D.F.

Yoshizawa T., Yamashita A., and Luo Y. 1994. Fumonisin occurrence in corn from high and low-risk areas for human esophageal cancer of China. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 1626-1629.

Yousef, A. E., and Marth, E. H. 1985. Degradation of aflatoxin M₁ in milk by ultraviolet energy. *Journal of Food Protection*, 48: 697-698.

Yousef, A. E., and Marth, E. H. 1987. Kinetics of interaction of aflatoxin M₁ in aqueous solutions irradiated with ultraviolet energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35: 785-789.

Yu, H., Zhang, K., Rossi, C. 2007. Theoretical study on photocatalytic oxidation of VOCs using nano-TiO₂ photocatalyst. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 188: 65-73.

Yuryev, V.P., Nemirovskaya, I. E., and Maslova, T.D. 1995. Phase state of starch gels at different water contents. *Carbohydrate Polymers*, 26: 43-46.

Zaleta-Rivera, K., Xu, Ch., Yu, F., Butchko, R. A. E., Proctor, R. H., Hidalgo-Lara, M. E., Raza, A., Dussault, P. H., and Du, L. 2006. A Bidomain Noribosomal Peptide Synthetase Encoded by FUM14 Catalyzes the Formation of Tricarballic Esters in the Biosynthesis of Fumonisin. *Biochemistry*, 45: 2561-2569.

Zhai, M., Yoshii, F., Kume, T., and Hashim, K. 2002. Syntheses of PVA/starch grafted hydrogels by irradiation. *Carbohydrate Polymers*, 50: 295-303.

Zhai, M., Yoshii, F., and Kume, T. 2003. Radiation modification of starch-based plastic sheets. *Carbohydrate Polymers*, 52: 311-317.

Zöllner, P., and Meyer-Helm, B. 2006. Trace mycotoxin analysis in complex biological and food matrices by liquid chromatography-atmospheric pressure ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1136:123-169.

Zomborszky-Kovács, M., Kovács, F., Horn, P., Vetési, F., Repa, I., Tornyos, G., and Tóth, A. 2002. Investigations into the time- and dose-dependent effect of fumonisin B₁ in order to determine tolerable limit values in pigs. *Livestock Production Science*, 76: 251-256.

ANEXO I

Metodologías realizadas para la caracterización química (Análisis proximal) de acuerdo al AOAC, 1995

CENIZAS (14.006): Se pesa la muestra de maíz (3.0 g) en un crisol a peso constante, para calcinar la muestra primero carbonizarla con mechero, introducirla a la mufla a 500°C por 240.0 minutos y se enfría en desecador para pesarse.

HUMEDAD (14.004): En un pesafiltro con tapa a peso constante se pesa la muestra de harina de maíz (3.0 g) y se mantiene en la estufa por 60.0 minutos a 130°C, se deja enfriar en un desecador hasta temperatura ambiente y enseguida se pesa la muestra.

EXTRACTO ETÉREO (Grasa Cruda, 14.018): Se coloca un vaso para equipo Goldfish con perlas de ebullición a la estufa a 100°C hasta peso constante. En un papel la harina de maíz se pesa (4.0 g), para colocarse en un cartucho de celulosa, y se tapa con algodón. El cartucho se sitúa en un recipiente de fondo perforado y es colocado en el contenedor del equipo.

Al vaso Goldfish se adiciona éter de petróleo (40.0 mL) y se coloca en el equipo mediante un anillo metálico con empaque. El vaso Goldfish se calienta hasta alcanzar la extracción completa de la grasa, se quita el vaso del equipo y el extracto es secado a 100°C por 30.0 minutos, se enfría y pesa.

PROTEÍNA CRUDA (14.026, Método de Micro Kjeldahl): Se pesa la muestra de harina de maíz (0.1 g) en un papel, se agregan 0.5 g de sulfato de sodio, 0.04 g de sulfato de cobre pentahidratado, 0.01 g de óxido de mercurio y se introducen en un matraz micro Kjeldahl, al cual se agregan 3 mL de ácido sulfúrico concentrado y se añaden piedras de ebullición.

El matraz se coloca en el digestor del equipo micro Kjeldahl y se calienta hasta la completa digestión de la materia orgánica.

Se deja enfriar a temperatura ambiente, se redisuelve con la mínima cantidad de agua destilada, el contenido del matraz se pasa cuantitativamente a la copa de adición del dispositivo de microdestilación, a la salida del dispositivo de microdestilación se coloca un vaso de precipitado con 50.0 mL de solución de ácido bórico*; se pasa el contenido de la copa de adición al bulbo de reacción interior, se depositan aproximadamente 20.0 mL de NaOH (15.0 M) en la copa de adición y se adiciona al bulbo de reacción. Se destila hasta obtener un volumen de 100.0 mL, se retira el vaso del dispositivo y se coloca el destilado en un matraz Erlen Meyer de 250.0 mL y titulamos con la solución valorada de HCl 0.01 N, hasta el vire de la solución de ácido bórico verde a rojo. Además se efectúa una prueba en blanco empleando la misma cantidad de papel.

* ácido bórico 0.5% m/V con indicadores (se pesan 5.0 g de ácido bórico y se colocan en un matraz aforado de 1.0 L, se adiciona agua destilada hasta solubilizar el ácido; a continuación se adicionan 35.0 mL de indicador A** y 10 mL de indicador B***, se mezclan y se adiciona suficiente agua hasta dejar un espacio de 2 cm en el cuello del matraz aforado, para ajustar el color de esta solución con ácido o base a un tono café rojizo, por último aforar con agua destilada).

**solución indicadora A (se pesan 100.0 mg de fenolftaleína se disuelven y aforan a 100.0 mL con alcohol etílico).

***solución indicadora B (se pesan 33.0 mg de verde de bromocresol y 66.0 mg de rojo de metilo los cuales se disuelven y se aforan con 100.0 mL de alcohol etílico).

FIBRA CRUDA (14.020): Se coloca la muestra desengrasada (2.0 g) en un vaso especial de digestión de 600.0 mL, se adiciona fibra de vidrio preparada* (1.5-2.0 g), 200.0 mL de una solución de ácido sulfúrico (0.13 M) caliente y piedras de ebullición, se realiza el mismo procedimiento solamente con la fibra de vidrio, a manera de blanco. (*La fibra de vidrio se prepara digiriéndola 30.0 min. en ebullición con ácido sulfúrico (0.13 M) y 30.0 min. en ebullición con NaOH (0.31 M) en el vaso de digestión).

Se coloca el vaso en el aparato de digestión con refrigerante, se deja hervir exactamente 30.0 minutos. Se remueve el vaso del equipo y se filtra en un embudo cónico sobre tela especial, enjuagando el vaso con agua caliente (75.0 mL), se lava con agua caliente (150.0 mL), usando succión ligera.

Se recupera el material del embudo y se coloca de nuevo en el vaso de digestión para repetir el tratamiento de hidrólisis con NaOH (0.31 M), se retira el vaso del digestor, y en el crisol Goosh con fibra de vidrio a peso constante se filtra con succión, se lava con 25.0 mL de solución de ácido sulfúrico 0.13 M caliente y con tres porciones de 50.0 mL de agua, se deshidrata parcialmente con 25.0 mL de alcohol al 95.0%. El residuo obtenido es secado en estufa a 130°C durante 120.0 minutos y pesado en frío. Se coloca en una mufla a 600°C durante 30.0 minutos y se pesa de nuevo en frío.

CARBOHIDRATOS TOTALES: Se determinan por diferencia.

Método, OPA (Sydenham et al., 1996)

Se aplica para muestras de maíz con un contenido total de FB₁, FB₂ y FB₃ de 800-12800 ng/g

Todo el material de laboratorio debe de ser lavado con una solución de hipoclorito de sodio al 5% seguido de agua.

- 1) Se muele la muestra hasta que el 90% pase la malla 500-250µm, tomar una muestra representativa de 50g y agregarle 100 mL de metanol:agua (75:25), homogeneizar en sonicador (15 min), centrifugar (10 min) a 2500 rpm.
- 2) Filtrar en papel con tamaño de poros de 0.45µm, el pH del filtrado debe ajustarse a un intervalo de 5.8-6.5, si es necesario.
- 3) El acondicionamiento de los cartuchos SAX se realiza con metanol 5 mL) seguido de metanol:agua (5 mL, 75:25).
- 4) Se aplican 10 mL del filtrado de la muestra y se lava con de metanol:agua (5 mL, 75:25), seguido de metanol (5 mL), cuidar que el flujo se mantenga \geq 2 mL/min y no dejar que el cartucho se seque. Desechar estos lavados
- 5) Las fumonisinas se recuperan con ácido acético-metanol (10 mL, 1+99) sin exceder flujo de 1 mL/min
- 6) Se colectan aproximadamente 20 mL en un vial (concentrar con flujo de nitrógeno al menor volumen posible)
- 7) Tomar una alícuota (4 mL) y evaporar el disolvente a 60°C en atmósfera de nitrógeno hasta sequedad
- 8) Recuperar con metanol (1 mL), evaporar metanol a sequedad y repetir hasta estar seguros de que el ácido acético ha sido removido. Una vez la muestra seca puede almacenarse por una semana a 4°C.
- 9) Para formar los derivados se mezclan el estándar (25µL) o el problema* (25µL) con el reactivo de OPA (225µL).
- 10) Inyectar (20µL) en el cromatógrafo

*El extracto seco se resuspende en metanol (200µL)

Después de agregar el reactivo de OPA no debe de pasar más de 1 min para inyectar en el cromatógrafo porque hay un decaimiento progresivo de la fluorescencia de los derivados del OPA-Fumonisina (más de 2 min)

Preparación del reactivo de OPA

40 mg OPA + 1 ml metanol + 5 mL borato de sodio (0.1 M) + 50 μ L de 2 mercaptoetanol. Se recomienda guardarlo en vial ámbar a temperatura ambiente y emplearlo en la primera semana.

Con este método se obtienen porcentajes de recuperación > 75% con una sensibilidad del 0.01 μ g/g en alimentos a base de maíz como son cereales, harinas, cereales procesados etc. Todos los disolventes empleados en las diferentes metodologías son grado HPLC.

ANEXO II

Tabla A. Resultados estadísticos del modelo lineal general para FB₁ en harina de maíz (muestra 10) irradiada con ultravioleta a diferentes temperaturas y tiempos.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Tiempo de Tratamiento	4	245.300	61.325	26.625	2.61	Si hay diferencia
Temperatura	2	11.957	5.979	2.596	3.23	No hay diferencia
Interacción Tiempo *Temperatura	8	16.888	2.111	0.917	2.18	No hay interacción
Error	45	103.649	2.303			
Total	60	5146.635				
Total corregido	59	408.619				

Tabla B. Prueba de Duncan para la FB₁ en harina de maíz (muestra 10) a diferentes tiempos en el tratamiento con radiación ultravioleta.

Tiempo (min)	Grupos de promedios (FB ₁ ppm)	
	1	2
120.0	6.7545	
240.0	7.5625	
480.0	7.7555	
360.0	7.9250	
0.0		11.7614

Tabla C. Resultados estadísticos del modelo lineal general para FB₂ en harina de maíz (muestra 10) irradiada con ultravioleta a diferentes tiempos y temperaturas.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Tiempo de Tratamiento	4	49.557	12.389	27.961	2.61	Si hay diferencia
Temperatura	2	0.671	0.336	0.757	3.23	No hay diferencia
Interacción Tiempo *Temperatura	8	1.591	0.199	0.449	2.18	No hay interacción
Error	45	19.939	0.443			
Total	60	505.811				
Total corregido	59	72.021				

Tabla D. Prueba de Duncan para la FB₂ en harina de maíz (muestra 10) en el tratamiento con radiación ultravioleta

Tiempo (min)	Grupos de promedios (FB1 ppm)	
	1	2
120.0	2.026	
240.0	2.042	
480.0	2.107	
360.0	2.199	
0.0		4.080

Tabla E. Resultados estadísticos del modelo lineal general para FB₁ en harina de maíz (muestra 10) que recibió radiación gamma a diferentes dosis.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Presencia o ausencia de TiO ₂	1	0.37	0.37	0.17	4.17	No hay diferencia
Dosis de Tratamiento	3	143.71	47.90	21.98	2.92	Sí hay diferencia
Interacción TiO ₂ Dosis	3	0.25	8.320×10^{-2}	0.04	2.92	No hay interacción
Error	32	69.74	2.18			
Total	40	3682.58				
Total corregido	39	214.61				

Tabla F. Prueba de Duncan para la FB₁ en harina de maíz (muestra 10) a diferentes dosis en el tratamiento con radiación gamma.

Dosis (KGy)	Grupos de promedios (FB ₁ µg/mL)		
	1	2	3
9	6.34		
3		8.40	
15		9.41	
0			11.33

Tabla G. Resultados estadísticos del modelo lineal general para FB₂ en harina de maíz (muestra 10) que recibió radiación gamma a diferentes dosis.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Presencia o ausencia de TiO ₂	1	1.77×10^{-3}	1.77×10^{-3}	0.004	4.08	No hay diferencia
Dosis de Tratamiento	4	20.71	5.18	12.95	2.61	Si hay diferencia
Interacción TiO ₂ Dosis	4	0.18	4.56×10^{-2}	0.11	2.61	No hay interacción
Error	35	14.00				
Total	45	459.20				
Total corregido	44	34.84				

Tabla H. Prueba de Duncan para la FB₂ en harina de maíz (muestra 10) a diferentes dosis en el tratamiento con radiación gamma.

DOSIS (KGy)	Grupos de promedios (FB ₂ µg/mL)			
	1	2	3	4
9	2.19			
6	2.38	2.38		
3		2.97	2.97	
15			3.40	3.40
0				3.90

Tabla I. Resultados estadísticos del modelo lineal general para FB₁ en harina de maíz (muestra 4) que recibió radiación gamma a diferentes dosis

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Presencia o ausencia de TiO ₂	1	0.11	0.11	2.84	4.96	No hay diferencia
Dosis de Tratamiento	4	7.88	1.97	49.74	3.48	Si hay diferencia
Interacción TiO ₂ Dosis	4	5.82×10^{-2}	1.46×10^{-2}	0.37	3.48	No hay interacción
Error	10	0.40	3.96×10^{-2}			
Total	20	272.59				
Total corregido	19	9.20				

Tabla J. Prueba de Duncan para la FB₁ en harina de maíz (muestra 4) a diferentes dosis en el tratamiento con radiación gamma.

Dosis (KGy)	Grupos de promedios (FB ₁ µg/mL)		
	1	2	3
15	2.67		
12	2.84		
9		3.51	
6		3.61	
0			4.34

Tabla K. Resultados estadísticos del modelo lineal general para FB₂ en harina de maíz (muestra 4) que recibió radiación gamma a diferentes dosis.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Presencia o ausencia de TiO ₂	1	1.49 x 10 ⁻²	1.49 x 10 ⁻²	0.88	4.75	No hay diferencia
Dosis de Tratamiento	4	1.39	0.35	20.49	3.26	Si hay diferencia
Interacción TiO ₂ Dosis	4	1.75 x 10 ⁻²	4.37 x 10 ⁻³	0.257	3.26	No hay interacción
Error	12	0.20	1.70x 10 ⁻²			
Total	22	39.62				
Total corregido	21	1.66				

Tabla L. Prueba de Duncan para la FB₂ en harina de maíz (muestra 4) a diferentes dosis en el tratamiento con radiación gamma

Dosis (KGy)	Grupos de promedios (FB ₂ µg/mL)			
	1	2	3	4
15	0.97			
12	1.10	1.10		
9		1.25	1.25	
6			1.41	1.41
0				1.59

Tabla LL. Resultados estadísticos del modelo lineal general para comparar la disminución que logran la radiación gamma con la que logra la radiación ultravioleta sobre la fumonisina B₁ en harina de maíz (muestra 10)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Tipo de radiación	1	1.38	1.38	0.46	4.17	No hay diferencia
Tiempo de radiación	4	104.42	26.10	8.73	2.69	Sí hay diferencia
Interacción Tipo de radiación Tiempo de radiación	4	11.44	2.86	0.96	2.69	No hay interacción
Error	32	95.64	2.99			
Total	42	3978.86				
Total corregido	41	219.27				

Tabla M. Resultados estadísticos del modelo lineal general para comparar la disminución que logran la radiación gamma con la que logra la radiación ultravioleta sobre la fumonisina B₂ en harina de maíz (muestra 10)

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculada	F tablas con $\alpha=0.05$	Conclusión
Tiempo de radiación	3	21.84	7.28	14.05	2.95	Sí hay diferencia
Tipo de radiación	1	1.32	1.32	2.56	4.20	No hay diferencia
Interacción Tipo de radiación Tiempo de radiación	3	1.98	0.66	1.27	2.95	No hay interacción
Error	28	14.51	0.52			
Total	36	360.48				
Total corregido	35	39.30				

Publicaciones derivadas del Doctorado de la M en C Hilda E Calderón Villagómez

Photo-Degradation of Fumonisins B₁ and B₂, Toxins of the Fungus *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg From Corn (*Zea mays* L.), by Ultraviolet Radiation With Titanium Dioxide

Hilda Elizabeth Calderón-Villagómez, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Facultad de Química (FQ), Lab. 321 Edif. E, Ciudad Universitaria, Deleg. Coyoacán, México, D.F. CP 04510; Pandiyan Thangarasu, UNAM-FQ, Lab. 201-B; Magda Carvajal-Moreno, UNAM, Instituto de Biología; Guillermina Burillo, UNAM, Instituto de Ciencias Nucleares; and Silvia Denise Peña-Betancourt, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Lab. de Toxicología, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Coyoacán, México D.F. CP 04960. Correspondence to: magdac@ibunam.ibiologia.unam.mx

(Received: September 14, 2005 Accepted: November 11, 2005)

Calderón-Villagómez, H.E., Thangarasu, P., Carvajal-Moreno, M., Burillo, G. and Peña-Betancourt, S.D. 2005. Photo-degradation of fumonisins B₁ and B₂, toxins of the fungus *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg from corn (*Zea mays* L.), by ultraviolet radiation with titanium dioxide. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23:246-252.

Abstract. The photocatalytic degradation of fumonisins B₁ and B₂ was studied, by subjecting them to ultraviolet radiation with titanium dioxide. Photo-degradation of fumonisin standards at 120 min of treatment was 97%. Samples with ultraviolet irradiation showed an erratic behavior, maybe because of the complex food matrix where reactions of starch rupture and elongation take place, facilitating the bioavailability of fumonisins and causing an increase in their detections after the treatment with ultraviolet radiation. The indirect effects of radiation can be originated by radicals produced from fat content in the sample.

Additional keywords: Non ionizing radiation, cereal contamination, mycotoxins.

Resumen. Se estudió la degradación fotocatalítica de las fumonisinas B₁ y B₂ al ser sometidas a radiación ultravioleta con dióxido de titanio. La fotodegradación de estándares de fumonisinas a los 120 min de tratamiento sucedió en 97%. Las muestras irradiadas con radiación ultravioleta presentaron un comportamiento errático, quizá por la complejidad de la matriz alimenticia, donde se dan las reacciones de ruptura y síntesis del almidón, favoreciendo la biodisponibilidad de las fumonisinas y provocando los incrementos observados en la determinación de éstas después del tratamiento con radiación ultravioleta. Los efectos indirectos de la radiación pueden ser los originados por radicales generados a partir de las grasas contenidas en la muestra.

Palabras clave adicionales: Radiación no ionizante, cereal contaminado, micotoxinas.

Maize (*Zea mays* L.) is sown on 134.2 million ha worldwide with a production of 559.3 million ton per year; 78% of maize is used for animal feed, 2.4% for human food, and the rest as industrial derivatives (Potrykus, 1998). In Mexico, 14 million ton are used for food and feed, from which 10.5 millions (65%) are consumed as "tortillas". This diet contributes with calories (65%), proteins (53%), calcium (69%), iron (51%), vitamin A (15%), thiamine (62%), riboflavin (36%), and niacin (54%). Titanium dioxide (TiO₂) which is used as a food additive to bleach dairy products, flours, chocolate and feed for pets (DEIA, 2006) was used in this study as a catalyzer to accelerate the reactions, but it was not integrated to the resulting molecule. The legislation for this additive is given in the NOM-187-SSA1-2002 (Norma Oficial Mexicana, 2002). Fumonisin contamination occurs in agricultural and industrialized cereal products like: maize, wheat (*Triticum aestivum* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.), and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench.) for animal feed and human food. Fumonisin contamination in agricultural products occurs before and during recollection and storage, which are influenced by different environmental factors such as temperature, humidity, rainy season, and insect damage (Shephard *et al.*, 1996). There are only few damage reports caused by fumonisins, although maize is an important food worldwide (Desjardins *et al.*, 1994; Robledo *et al.*, 2001; Stack, 1998). Various methods such as dilution, moluration, siñ, and ultraviolet (UV) radiation have been used to decontaminate mycotoxins in foods, where it was found that fumonisin B₁ (FB₁) can be hydrolyzed, but not detoxified by heat (Momany and Dombrink-Kurtzman, 2001) and it cannot be eliminated by washes (Murphy *et al.*, 1996). Photo-

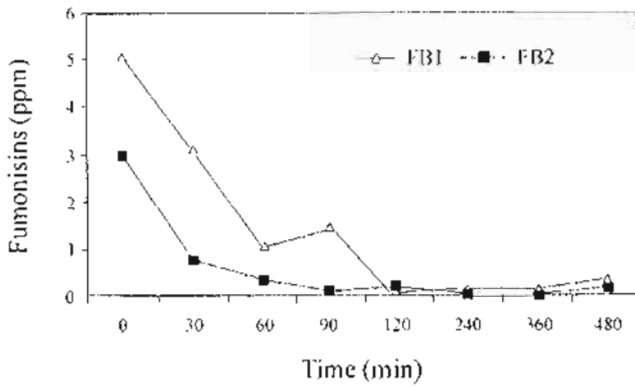


Fig. 1. Degradation caused by ultraviolet radiation in fumonisins B₁ and B₂ standards. Each data is the average of 3 replications.

catalytic degradation has been to decontaminate several organic contaminants (Andrellos *et al.*, 1967; Rustom, 1997; Samarajeewa *et al.*, 1990; Shantha and Murthy, 1977; Van Dyck *et al.*, 1982; Yousef and Marth, 1985; 1987). In this study, it was employed against FB₁ and fumonisin B₂ (FB₂) in maize, as UV radiation in the presence of TiO₂. The objectives of this work were to determine the effect of UV radiation in the photo-degradation of FB₁ and FB₂ as a new chemical control technique, and to determine the roles of: a) the matrix complexity, b) fat content, c) humidity of maize samples, and d) titanium dioxide (TiO₂), in fumonisin degradation.

MATERIALS AND METHODS

Reagents. FB₁, FB₂, O-phthalaldehyde (OPA), 2-mercaptoethanol (Sigma-Aldrich); TiO₂ (Prolabo, Germany), methanol (HPLC purity grade), dehydrated monobasic sodium phosphate (J.T. Baker).

Maize Samples. Yellow maize samples provided by the

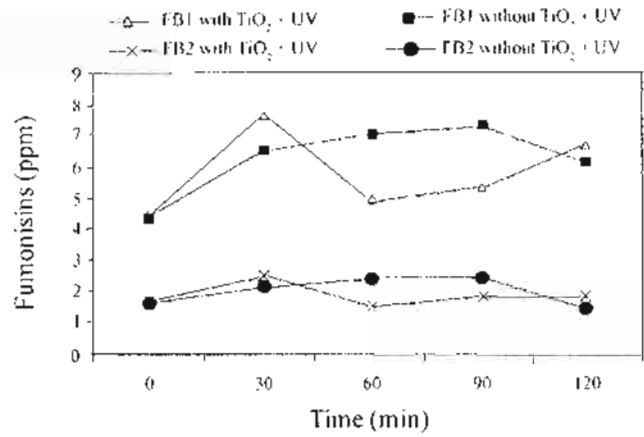


Fig. 2. Effect of ultraviolet radiation, with and without TiO₂, on maize (*Zea mays*) flour (12-14% humidity at 25°C).

International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico, were field inoculated in the ears, with *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (formerly *F. moniliforme*).

Fumonisin identification. High pressure liquid chromatography (HPLC) pump (model 9010) with diode arrangement and fluorescence detector (Varian 9000, software Varian Star Workstation, 4.5 1989-1990) was used to quantify fumonisins of the samples. A 15 cm HPLC column 100-5C18 (Varian 1846150, ODS2-1-10/5) packed with silica C₁₈ was used. Samples were excited at 335 nm and 440 nm emission to the fluorescence detector at 1.0 mL/min flow speed that was kept during the experiments, employing as mobile phase methanol in monobasic sodium phosphate 0.1 M, (77:23 v/v), previously filtered through a millipore membrane (0.45 µm). FB₁ and FB₂ standard solutions at a concentration of 100 µg/mL were prepared and the dilutions to make the

Table 1. Physicochemical characterization of fumonisin B₁ and B₂ content in maize (*Zea mays*) flour.

*Samples	**FB1 (mg/kg)	**FB2 (mg/kg)	Humidity (%)	Ashes (%)	Fat (%)	% Protein (N x 6.25)	Fiber (%)	Carbohydrates (%)
1	3.83 ± 0.44	1.02 ± 0.10	14.02	1.40	4.18	10.98	3.33	80.12
2	5.64 ± 0.65	1.92 ± 0.18	13.35	1.21	4.10	11.14	2.89	80.67
3	3.53 ± 0.41	1.32 ± 0.12	12.4	1.30	3.58	12.02	2.92	80.17
4	4.33 ± 0.50	1.60 ± 0.15	12.85	1.45	2.62	10.77	3.02	82.15
5	12.33 ± 1.43	4.62 ± 0.43	14.36	1.39	3.43	12.23	1.91	81.04
6	7.02 ± 0.81	2.19 ± 0.21	12.13	1.19	7.02	9.48	3.21	79.09
7	9.51 ± 1.10	3.03 ± 0.28	13.31	2.19	4.05	11.82	1.72	81.15
8	10.60 ± 1.23	3.84 ± 0.36	13.79	1.43	3.32	11.38	2.90	80.98
9	11.39 ± 1.32	3.92 ± 0.37	12.83	1.46	2.52	11.70	2.66	96.37
10	11.33 ± 1.31	3.90 ± 0.37	12.73	1.35	7.02	9.06	2.62	79.94
11	20.87 ± 2.42	7.03 ± 0.66	13.92	1.31	3.55	10.68	2.04	82.41
12	7.75 ± 0.90	2.67 ± 0.25	12.93	1.37	4.03	11.31	3.18	80.11

(N x 6.25) = Nitrogen multiplied by factor 6.25 of tables of protein content.

*Samples by triplicate, data presented in dry base.

**Method of Shephard *et al.* (1990).

calibration curve (Fig. 1). The detection limit was done injecting solutions (0.0, 0.25, 0.5, 1.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10 and 20 mg/mL) of fumonisin B₁ (FB₁) and fumonisin B₂ (FB₂), in acetonitrile/water (75:25 v/v) with a 20 µl loop. The mobile phase had a pH of 3.3 adjusted with fosforic acid.

FB₁ and FB₂ standards for treatment with UV radiation. Solutions of 5 µg/mL of each fumonisin were prepared from the concentrated stock; different fumonisin dilutions (200 µL) were evaporated with steam bath (60°C) and were irradiated ($\lambda < 380$ nm) with a UV light lamp (100 Watts, immersion mercury arc and medium pressure), covered with quartz and regulator (ACE GLASS Incorporated). The distance between the lamp and the sample was 3 cm. Samples were analyzed by HPLC in 30, 60, 90, 120, 240, 360, and 480 min.

Degradation products were determined by mass spectrometry (GCQ, Finnigan Mat).

UV Radiation of maize flour. Sample selection is based on fumonisin B₁ content and availability of the sample (Table 1). Maize samples (250 g) at 12-14% humidity were ground to homogenize them, and 50 g samples at 66-67% humidity were prepared with water addition. All samples were irradiated with UV light in presence and absence of photo catalysis with 1.0% TiO₂. In the radiation (25, 60, and 90°C, for 8.0 h) of maize samples with low humidity and high humidity (25°C, 4.0 h), each sample was exposed to UV radiation on aluminum tray (9.5 x 10.6 cm) forming a homogeneous thin cover. The irradiated maize samples (25 g) were suspended in methanol-water (75:25), shaking for

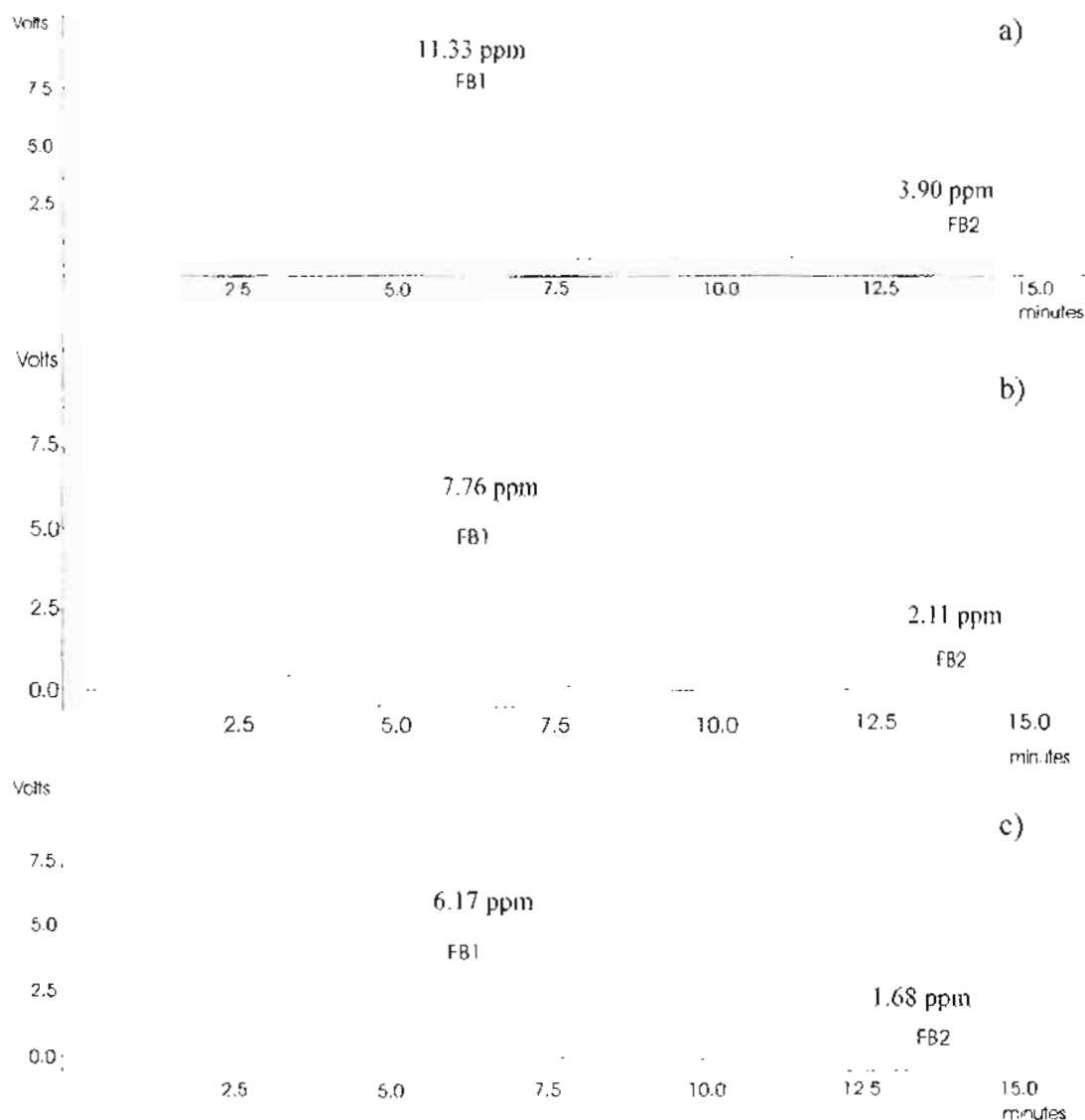


Fig. 3. Liquid chromatography of maize (*Zea mays*) flour extracts. (a) Chromatogram of the maize flour control; (b) chromatogram of maize flour control; (c) chromatogram of maize flour treated with ultraviolet radiation in presence of TiO₂ during 120 min at 25°C; (c) chromatogram of maize flour treated with ultraviolet radiation without TiO₂ during 120 min at 25°C.

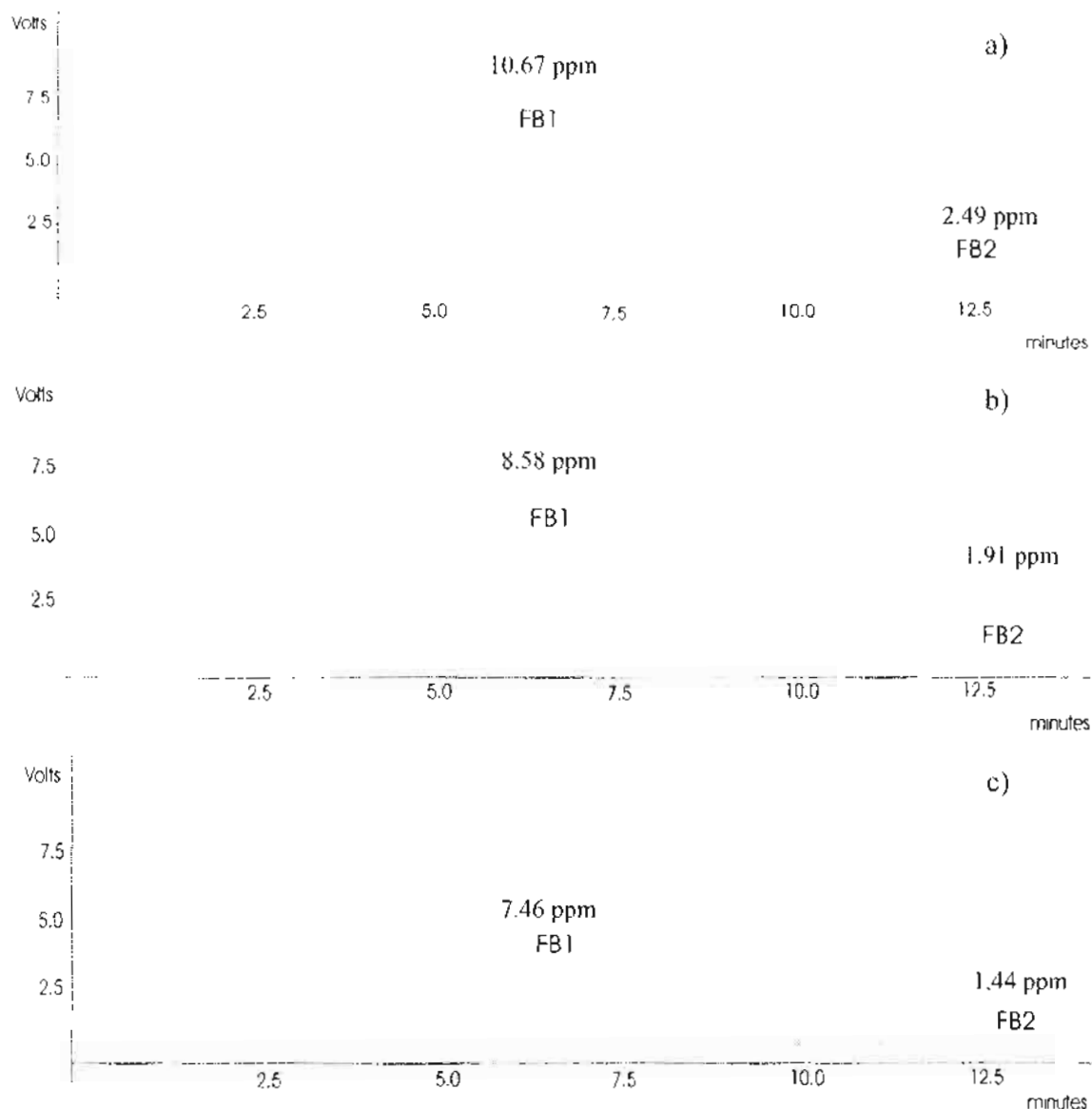


Fig. 4. Liquid chromatography of maize (*Zea mays*) flour extracts soaked in water. a) Control; b) after treatment with ultraviolet radiation TiO₂ during 120 min at 25°C; c) after treatment with ultraviolet radiation with TiO₂ during 120 min at 25°C.

15 min, and the fumonisins were extracted by cartridges of solid phase extraction (500 mg, Phenomenex Torrance, CA), SAX (Van Dyck *et al.*, 1982).

Derivatization of Fumonisin. Fumonisin are not naturally fluorescent, and they need a derivatization to be detected by the fluorescence detector (Van Dyck *et al.*, 1982). The standard solution or maize extract (25 μ L) was derivatized shaking with OPA-2-mercaptoethanol (225 μ L) to enhance fluorescence injecting 20 μ L to liquid chromatographer. OPA-2-mercaptoethanol derivatizer (40 mg) was dissolved in 1.0 mL methanol, with a mixture of sodium tetraborate (0.1 M, 5.0 mL) and 2-mercaptoethanol (50 μ L). all experiments were done by triplicate.

RESULTS AND DISCUSSION

The calibration curve in HPLC was done with FB₁ standard (0 to 15 μ g/L = 15 ppm) and FB₂ (0 to 40 ppm); correlation coefficient (0.998) for FB₁ and (0.999) for FB₂ showed reproducibility of the experiments. Retention time for the identification of FB₁ was 6.86 ± 0.86 min and for FB₂ of 15.03 ± 0.79 min; the limits of detection found were 0.06 ppm (FB₁) and 0.02 ppm (FB₂). The recovery percentage of FB₁ and FB₂ were 62 and 84%, respectively, in agreement with reported results (Bata and Radomir, 1999). The efficiency of the 15 cm 100-5C18 (Varian 1846150, ODS2-1-10/5) column packed with silica C₁₈ was 65%. The presence of fumonisins was confirmed by the comparison of sample chromatograms with those from the standards. In the same way, the mass spectra of maize flour were compared with those from FB₁ and FB₂ standards, the molecular ion of each one have 10 to

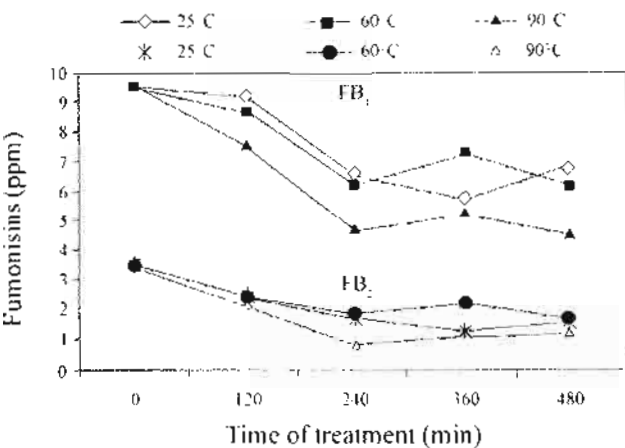


Fig. 5. Concentration of FB_1 and FB_2 in maize (*Zea mays*) flour (sample 7) treated with ultraviolet radiation. Each value is the average of three replications.

20% abundance with an m/z of 722 and 706, respectively.

UV irradiation of FB_1 and B_2 . FB_1 and FB_2 were irradiated with UV light; the data indicated that fumonisin concentration gradually decreases when UV exposition time increases. For example, FB_1 decreases at 3.13 ppm from an initial concentration of 5.08 ppm for 30 min, and it is completely degraded in 120 min (97.0%). The same behavior was observed in FB_2 degradation (Fig. 2).

Degradation of FB_1 and FB_2 with UV radiation in presence of TiO_2 .

Stage 1. Maize samples (12 to 14% humidity) were treated in UV/ TiO_2 system at 25°C (Fig. 3). Nevertheless, FB_1 with TiO_2 has a wandering behavior; after 30 min, decreased the concentration of fumonisins and increased it after 90 min. Previous reports indicate that during UV/ TiO_2 radiation exposition (photo-catalytic oxidation), starch suffers chain breaking and distortion in its molecular weight distribution (Erlandsson *et al.*, 1977), and when an oxidant agent is added

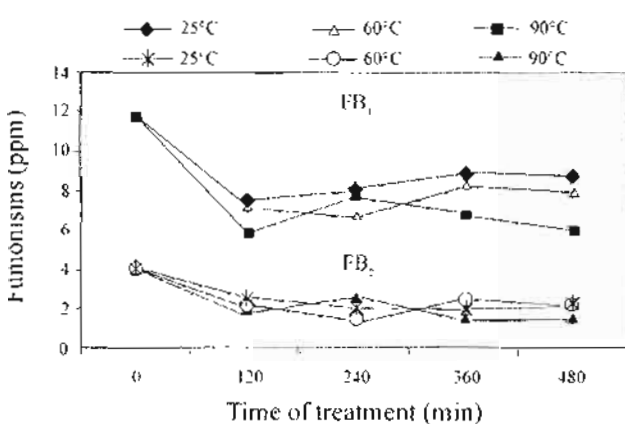


Fig. 6. Concentration of FB_1 and FB_2 in maize (*Zea mays*) flour (sample 7) treated with ultraviolet radiation. Each value is the average of three replications.

to the starch there are less formation of radicals. It is possible that fumonisins are free during the breakup and elongation of the chain; therefore, in the extraction before the UV/ TiO_2 treatment, there were 4.33 ppm free fumonisins, and after the treatment fumonisins increased (7.64 ppm). During UV radiation treatment, fumonisins are liberated in maize matrix. When the irradiated sample has no TiO_2 , it continues increasing the first 90 min (7.39 ppm) and later it decreases its concentration indicating that fumonisins that are free in maize begin to degrade (Fig. 4). Finally, UV radiation (25°C) facilitates the availability of fumonisins in maize, more with TiO_2 . At this stage, the variance analysis showed that with a 95% of confidence exists a significant difference in the treatment with the presence of TiO_2 .

Stage 2. In maize flour that was UV/ TiO_2 irradiated with 66-67% humidity at 25°C, there was a higher decomposition of fumonisins in comparison to samples irradiated without TiO_2 . As an example, fumonisin degradation was 30.0% for FB_1 and 47.72% for FB_2 in 120 min (Fig. 5), in comparison to 19.59% for FB_1 and 23.20% for FB_2 , indicating that TiO_2 favors hydroxyl radical formation in an aqueous media. At this stage, a variance analysis was done and with 95% confidence there was a significant difference in the treatment where TiO_2 was added. Nevertheless, when temperature increased to 60 and 90°C in the sample, at 12-14% humidity without TiO_2 , degradation of fumonisins increased (39.37% for FB_1 and 48.29% for FB_2 at 60°C: 50.0% for FB_1 and 51.0% for FB_2 at 90°C during 120 min) (Fig. 3). In general, there was a higher degradation of FB_2 compared with FB_1 , probably because of the twisting that AFB_1 presents (Momany and Dombrink-Kurtzman, 2001). Besides, FB_2 structurally differs from FB_1 since it has a hydroxyl in C-10 (Momany and Dombrink-Kurtzman, 2001), that can form hydrogen bridges among the different groups (Fig. 3). Variance analysis indicates that there was a significant difference (at 120 min of treatment) with 95% of confidence in the fumonisin content

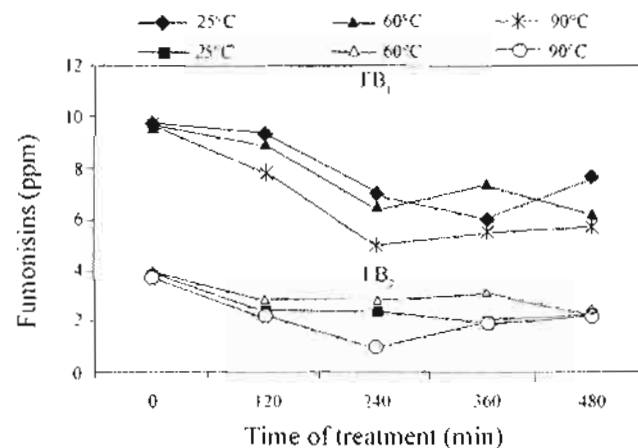


Fig. 7. Concentration of FB_1 and FB_2 in maize (*Zea mays*) flour (sample 10) treated with ultraviolet radiation. Each value is the average of three replications.

Table 2. Degradation of fumonisins B₁ and B₂ content, after 120 min of treatment with ultraviolet radiation at 25°C in maize (*Zea mays*) flours with different fat content.

Samples	fat in dry base (%)	Degradation (%)	
		FB ₁	FB ₂
10	7.02	33.28	43.30
7	4.05	3.15	31.62
4	2.62	0.89	0.51

when the treatment temperature increased more than 25°C. When analyzing the wandering behavior of degradation, three samples with different fat content were irradiated by triplicate (Table 1). Results of sample 7 with 4.05% fat content (Fig. 6) present a behavior similar to that of sample 10 with 7.02% fat (Fig. 7), where fumonisin content decreased and increased during the process. For example, when we compared the composition of sample 10 with sample 7, we observed that the sample 10 has a fat content of 7.02% and the sample 7 of 4.05% of fat dry base, this difference in composition is possibly the reason for the wandering behavior, it is possible that fat causes this difference due to its high reactivity in presence of UV radiation, having descents of 0.89% in FB₁ and 0.51% in FB₂, while flours with more fat content showed more descents (Table 2). Possible causes for this behavior can be the complexity of the food matrix where the facts that could be involved are the reactions of rupture and elongation of the starch, supporting its availability and provoking the observed increments, indirect effects of radiation through radicals generated from fats or indirect effects of the radiation on fumonisins. Our observations agree with the studies done in aflatoxins; these methods had been proved as methods to break aflatoxins that have had promising results (Andrellos *et al.*, 1967; Diehl, 1990; Samarajeewa *et al.*, 1990; Shantha and Murthy, 1977; Van Dyck *et al.*, 1982; Yousef and Marth, 1985; 1987).

CONCLUSIONS

Results of photo-degradation of fumonisins indicate that UV radiation is favored when the temperature of fumonisin treatment increases. Moreover, photo-degradation is also favored in the presence of a photo catalyzer such as TiO₂. During the treatment there was a process of liberation of fumonisins of maize that favors their availability. The effect of UV light depends on the fat content in the sample composition, since there was more reduction of fumonisins in those flours with more fat content. UV radiation can be used as an alternative method to reduce fumonisin levels in maize flour, considering that it has a greater exposition area to UV radiation, and this fact will allow a better degradation of fumonisins.

Acknowledgements. Our gratitude to Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco for the facilities of labs. and materials; to CONACYT for the Ph.D. scholarship granted

to Hilda Elizabeth Calderón-Villagómez; to Daniel P. Jeffers and Locadio Martínez from the International Maize and Wheat Improvement Center, for maize samples; to UNAM; to Georgina Artemisa Duarte-Lisci, USAI; to Miguel Magallanes-Castillo, Olga Guadalupe Flores-Arroyo, and Eloy Banacek Jiménez-Suro, from the Faculty of Chemistry.

LITERATURE CITED

- Andrellos, P.J., Beckwith, A.C., and Eppley, R.M. 1967. Photochemical changes of aflatoxin B₁. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International* 50:346-350.
- Bata, A., and Radomir, L. 1999. Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology* 10:223-228.
- Desjardins, A.E., Plattner, R.D., and Nelson, P.E. 1994. Fumonisin production and other trail of *Fusarium moniliforme* strain from maize in Northeast of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology* 60:1695-1697.
- DEIA. 2006. *Diccionario de Especialidades para la Industria Alimentaria*. Edición 16. pp. 170-171. Thomson PLM, S.A. de C.V. México, D.F. 564 p.
- Diehl, J.F. 1990. *Safety of Irradiated Foods*. Marcel Dekker, Press, New York, USA. 454 p.
- Erlandsson, B., Karlsson, S., and Albertsson, A.C. 1977. The mode of action of corn starch and a pro-oxidant system in LDPE: influence of thermo-oxidation and UV-irradiation on the molecular weight changes. *Polymer Degradation and Stability* 55:237-245.
- Momany, F.A., and Dombrink-Kurtzman, M.A. 2001. Molecular dynamics simulations on the mycotoxin fumonisin B₁. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2:1056-1061.
- Murphy, P.A., Hendrick, S., Hopmans, E.C., Hauck, C.C., Lu, Z., Buserman, G., and Munkvold, G. 1996. Effect of processing on Fumonisin content of corn. pp. 323-334. In: L. Jackson (ed.). *Fumonisin in Food*. Plenum Press, New York, USA. 412 p.
- Norma Oficial Mexicana NOM-187-SSA1-2002. 2002. *Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. Diario Oficial. Segunda sección. Lunes 18 de Agosto, 2003. pp. 10-60.*
- Potrykus. 1998. *Maíz en México*. Publicación Novartis, México. 26 p.
- Robledo, M.L., Marin, S. y Ramos, A. 2001. Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México). *Revista Iberoamericana de Micología* 18:141-144.
- Rustom, I.Y.S. 1997. Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry* 1:57-65.
- Samarajeewa, U., Sen, A.C., Cohen, M.D., and Wei, C.I. 1990. Detoxification of aflatoxins in foods and feeds by physical

- and chemical methods. *Journal of Food Protection* 53:489-501.
- Shantha, T., and Murthy, V.S. 1977. Photo-destruction of aflatoxin in groundnut oil. *Indian Journal of Technology* 15:453-454.
- Shephard, G.S., Sydenham, E.W., Thiel, P.G., and Gelderblom, W.C.A. 1990. Quantitative determination of fumonisins B1 and B2 by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Liquid Chromatography* 13:2077-2087.
- Shephard, G.S., Thiel, P.G., Stockenstrom, S., and Sydenham, W. 1996. Worldwide survey of fumonisin contamination of corn and corn-based products. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International* 3:671-686.
- Stack, M.E. 1998. Analysis of fumonisin B₁ and its hydrolysis product in tortillas. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International* 81:737-740.
- Van Dyck, P.J., Tobback, P., Feys, M., and Van De Voorde, H. 1982. Sensitivity of aflatoxin B₁ to ionizing radiation. *Applied and Environmental Microbiology* 43:1317-1319.
- Yousef, A.E., and Marth, E.H. 1985. Degradation of aflatoxin M₁ in milk by ultraviolet energy. *Journal of Food Protection* 48:697-698.
- Yousef, A.E., and Marth, E.H. 1987. Kinetics of interaction of aflatoxin M₁ in aqueous solutions irradiated with ultraviolet energy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35:785-789.