Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Determinación de fumonisinas en granos y corontas de *Zea mays* L. (maíz variedad morada) con el método ELISA competitivo directo (CD)

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Abel Javier TINCO CASTRO

ASESORES

Q. F. Benedicta Carmen LÓPEZ FLORES

Mg. Teresa Sebastiana ARBAIZA FERNÁNDEZ (Coasesora)

Lima, Perú

2021



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Tinco A. Determinación de fumonisinas en granos y corontas de Zea mays L. (maíz variedad morada) con el método ELISA competitivo directo (CD) [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2021.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Abel Javier Tinco Castro
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	43769452
URL de ORCID	
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Benedicta Carmen López Flores
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09222286
URL de ORCID	0000-0002-1610-4846
Datos de coasesor	
Nombres y apellidos	Teresa Sebastiana Arbaiza Fernández
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	07226198
URL de ORCID	0000-0001-9300-3785
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Mirtha Roque Alcarraz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	08644654
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Celia Bertha Vargas de la Cruz

Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	42354841
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Ana María Virginia Chávez Fernández
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07515130
Miembro del jurado 3	
Nombres y apellidos	Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	07760326
Datos de investigación	
Línea de investigación	No aplica.
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	Sin financiamiento.
Ubicación geográfica de la investigación	Laboratorio CLEIBA Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Lima Calle: Jirón Puno 1002 Latitud: -12.05493 Longitud: -77.023 Laboratorio Bioquímica Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: San Borja Calle: Av. Circunvalación 28 Latitud: -12.08149 Longitud: -76.987
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2014 - 2020
URL de disciplinas OCDE	Biotecnología alimentaria https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#4.04.01

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

"Determinación de fumonisinas en granos y corontas de *Zea mays* L. (maíz variedad morada), con el método ELISA competitivo directo (CD)"

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

ABEL JAVIER TINCO CASTRO

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado Evaluador, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

--- SOBRESALIENTE (DIECISIETE)—

conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico (a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

JURADO EVALUADOR (R.D. N.° 000160-2021-D-FFB/UNMSM)

- Dra. Mirtha Roque Alcarraz
- Mg. Celia Bertha Vargas de la Cruz
- Mg. Ana María Virginia Chávez Fernández
- Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

Lima, 27 de noviembre de 2021.

Dra. Mirtha Roque Alcarraz
Presidenta

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima 1 – Perú
Teléfonos: (511) 619-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe

ISO 9001 BUREAU VERITAS Certification
Nº BR233265

INFORMACIÓN GENERAL	
Título de la tesis	Determinación de fumonisinas en granos y corontas de *Zea mays* L. (maíz variedad morada), con el método ELISA competitivo directo (CD)
Área de investigación (*)	Área de investigación de alimentos
Líneas de Investigación (*)	Calidad e Inocuidad de Alimentos
Ubicación geográfica donde se desarrolla la investigación (incluir localidades y/o coordenadas geográficas)	Facultad de Farmacia y Bioquimica Jr Puno 1002 (12°03'21.0''S 77°01'24.1''W) Facultad de Medicina veterinaria (12°04'53.9''S 76°59'15.8''W)
Institución que financia si corresponde	autofinanciado
Año o rango de años que abarcó	2014 - 2020
DATOS DE TESISTA / DE LOS TESISTAS	
Apellidos y Nombres	Tinco Castro Abel Javier
Número de matrícula	05040020
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	egresado
Código ORCID (opcional)	
Apellidos y Nombres	
Número de matrícula	
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	
Código ORCID (opcional)	
DATOS DEL ASESOR I	
Apellidos y nombres	López Flores Benedicta Carmen
Código docente: 039047 Categoría: Asociado Clase: D.E.	
Máximo grado alcanzado	Bachiller
Código ORCID (obligatorio)	0000-0002-1610-4846
Título profesional	Químico Farmacéutico
Departamento Académico al que pertenece	Farmacología, Bromatología y Toxicología
Instituto de Investigación al que pertenece	CLEIBA
Grupo de investigación al que pertenece indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación	
DATOS DEL ASESOR II	
Apellidos y nombres	Arbaiza Fernández Teresa Sebastiana
Código docente: 004383 Categoría: Principal Clase: D.E.	
Máximo grado obtenido	Magister en Bromatología
Título profesional	Químico Farmacéutico

Código ORCID (obligatorio)	
Centro laboral (si es que fuera externo a la UNMSM)	
Departamento Académico al que pertenece	
Instituto de Investigación al que pertenece	
Grupo de investigación al que pertenece	
Indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación	

(*) Según documentos oficiales de la Facultad

DEDICATORIA

A mi madre Miriam, porque nunca dejo de confiar en mis capacidades y tuvo fe en mis resultados brindándome las herramientas para mi vida profesional

A mi padre Abel, porque siempre me apoyo en los buenos y malos momentos

A mi hermana Idalia, que a través de su paciencia y mucho cariño me dio las fuerzas de siempre lograr mis objetivos

A Jeanette, por siempre motivarme cuando muchas veces pensaba rendirme

A mis amistades, familiares quienes siempre me desearon los mejores éxitos

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por haberme permitido nacer en este hermoso país, y tener la familia que tengo. A mis asesoras, Q. F. Carmen López y Mg. Teresa Arbaiza; por brindarme apoyo constante, por enseñarme a realizar todo proyecto con excelencia y sus afectos hacia mi persona que fue mucho más que solo culminar mi tesis. Un agradecimiento al laboratorio de CLEIBA-UNMSM y al laboratorio de Bioquímica y Nutrición Animal-UNMSM y su plana docente por su incondicional apoyo y asesoramiento en la ejecución de la parte experimental; y un agradecimiento a la plana docente de las cátedras de Farmacognosia y Farmacotecnia en brindarme su apoyo con los equipos empleados para la parte experimental

CONTENIDO

RESUMEN xii

SUMMARY xiii

I. INTRODUCCIÓN 1

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 1

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION 2

1.2.1. Objetivo General 2

1.2.2. Objetivos Específicos 2

1.3. IMPORTANCIA Y ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN 3

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA 4

2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO 4

2.2. BASES TEÓRICAS 7

2.2.1. **El maíz (*Zea mays L.)*** 7

2.2.2. **Flora fúngica** 13

2.2.3. **Hongos filamentosos "mohos" y *Fusarium*** 15

2.2.4. **Micotoxinas** 18

1.2.1. *Fusarium*, maíz y micotoxinas 19

1.2.2. Fumonisinas 21

1.2.3. Toxicidad de las micotoxinas 24

1.2.4. Factores que afectan al desarrollo fúngico y producción de micotoxinas 32

1.2.5. Análisis de micotoxinas en alimentos 36

1.2.6. Aspectos Legislativos 41

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES 42

3.1. HIPÓTESIS 42

3.2. VARIABLES 42

3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES 42

IV. MATERIALES Y METODOS 43
4.1. MATERIALES DE LABORATORIO 43
4.2. EQUIPOS 43
4.3. REACTIVOS Y SOLVENTES 43
4.4. ÁREA DE ESTUDIO 44
4.5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN 44
4.6. POBLACION Y MUESTRA 44
4.7. PROCEDIMIENTOS 47
4.7.1. Determinación de fumonisinas 48
4.8. ANALISIS ESTADÍSTICO 52
4.9. ESTIMACION DEL TAMAÑO MUESTRAL 52
V. RESULTADOS 54
5.1. ESTIMACION DEL TAMAÑO MUESTRAL 54
5.2. DETERMINACIÓN DE FUMONISINAS 54
VI. DISCUSIÓN 63
VII. CONCLUSIONES 66
VIII. RECOMENDACIONES 67
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 68
X. ANEXOS (*) 1

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Principales departamentos productores de maíz morado (*Zea mays* L.) y sus producciones 2010-2015 [34] 10
Figura 2. Principales antocianinas del maíz morado (*Zea mays* L.) [39] 11
Figura 3. Mazamorra morada, postre emblemático de nuestro país [34] 13
Figura 4. Principales mercados destino de las exportaciones de maíz morado durante el 2015 [34] 13
Figura 5. Flora fúngica y su relación con la actividad de agua (aw) [49] 15
Figura 6. Estructura química de las fumonisinas estudiadas [60] 22
Figura 7. Ciclo de la esfingomielina y la intervención de las fumonisinas sobre la Esfinganina N-aciltransferasa y la ceramida sintasa representadas por una (X) [61] 23
Figura 8. Similitud estructural entre las fumonisina B1 y las bases esfinganina y esfingosina [60] 24
Figura 9. Niveles de riesgo por intoxicación aguda y crónica de las micotoxinas [5] 25
Figura 10. Porcentaje de estudios de toxicidad de las micotoxinas hasta el 2020 [78] 26
Figura 11. Ocurrencia de fumonisinas en el mundo, donde los círculos en rojo indican casos de cáncer esofágico y cáncer de hígado relacionados a la exposición de fumonisinas [60] 29
Figura 12. El factor temperatura (T) y actividad de agua (a_w) y su influencia sobre el crecimiento de mohos toxigénicos [49] 32
Figura 13. El factor temperatura (T) y actividad de agua (aw) y su influencia sobre la producción de micotoxinas [(49)] 33
Figura 14. Factores de temperatura (T) y actividad de agua (a_w) y su influencia sobre el desarrollo, crecimiento y producción de fumonisinas de *F. verticillioides* y *F. proliferatum* [49] 34
Figura 15. ELISA competitivo directo [83] 38
Figura 16. ELISA competitivo indirecto [83] 39

Figura 17. Provincia de Lima donde se recolectaron las 20 muestras de mercados de manera aleatoria [98] 45
Figura 18. Metodología general (Elaboración propia) 47
Figura 19. Preparación y extracción de la muestra (Elaboración propia) 49
Figura 20. Procedimiento de prueba CD-ELISA (Elaboración propia) 51
Figura 21. Valores de Arellano y Torres donde se va a obtener nuestra Desviación estándar de referencia (s) [102] 52
Figura 22. Concentración de fumonisinas en coronta de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada VS Valores máximo permisible de 2 ppm 55
Figura 23. Concentración de fumonisinas en granos de *Zea mays* L. variedad morada VS Valores máximo permisible de 2 ppm 56
Figura 24. Distribución de la Concentración de fumonisinas en coronta y granos de Zea mays L. variedad morada según valores permisibles. 57
Figura 25. Distribución de los valores de contaminación por fumonisinas en granos y corontas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada (ppm) en diagrama de cajas 61
Figura 26. Diagrama de dispersión Fumonisinas en corontas (ppm) vs Fumonisinas en granos (ppm) 62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Principales géneros productores de micotoxinas y número de especies micotoxigénicas involucradas [6] 16
Tabla 2. Principales especies de Fusarium potencialmente toxigénicas [6] 20
Tabla 3. Especies principales productoras de fumonisinas [9] 21
Tabla 4. Principales efectos fisiopatológicos producidos por las micotoxinas de interés toxicológico [5] 28
Tabla 5. Patologías humanas asociadas al consumo de alimentos contaminados con fumonisinas [9] 30
Tabla 6. Evaluaciones de la IARC sobre el peligro carcinogénico algunas micotoxinas [82] 31
Tabla 7. Operacionalización de variables 42
Tabla 8. Detalles de las muestras recolectadas de la provincia de Lima 46
Tabla 9. Cantidad de pocillos de análisis utilizadas para cada muestra 50
Tabla 10. Proporción de contaminación por fumonisinas en granos y corontas de (*Zea mays* L.) variedad morada (ppm) 57
Tabla 11. Valores resumen de fumonisinas en granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada 58
Tabla 12. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para los valores de Fumonisinas en corontas y granos (ppm) 59
Tabla 13. Prueba t de Student para el valor promedio de fumonisinas en grano y coronta (Media = 0) 59
Tabla 14. Prueba T de Student para el valor promedio de fumonisinas en grano y coronta (Media = 2) 60
Tabla 15. Correlación de Pearson valores de fumonisinas en coronta vs valores de fumonisinas en granos. 61

RESUMEN

El incremento de las exportaciones y consumo interno de productos alimenticios de nuestra nación exigen mejores controles de calidad, almacenamiento y producción para asegurar la viabilidad hacia el consumo humano. El propósito de este estudio fue determinar la presencia de fumonisina en maíz variedad morada (*Zea mays* L.): Se tomaron 20 muestras al azar recolectadas en varios puntos de venta en la provincia de Lima, provenientes de varios sectores productores de maíz morado. Se determinó cuantitativamente fumonisinas mediante la técnica de inmunoensayo ELISA competitivo directo (CD-ELISA) utilizando el kit Veratox Fumonisina (USDA-GIPSA 2001-102; Método Oficial AOAC 2001.06). Se encontró fumonisinas al 100% de las muestras tanto en coronta (tusa) como en granos. La concentración fue de 0,160 ppm a 6,270 ppm en corontas y concentraciones desde 0,370 ppm hasta 8,800 ppm en granos. Se ha encontrado una relación entre la cantidad de fumonisinas en el grano de maíz y la cantidad de fumonisinas en la coronta de *Zea mays* L. Se usó el programa estadístico SPSS v.24 para windows.

Palabras clave: fumonisina, humedad, maíz (*Zea mays* L.) variedad morada, ELISA competitivo directo

SUMMARY

The increase in exports and domestic consumption of food products of our nation require better quality controls, storage and production to ensure viability towards human consumption. The purpose of this study was to determine the presence of fumonisin in purple corn variety (*Zea mays* L.): 20 random samples collected in various points of sale in the province of Lima, from various purple corn producing sectors were taken. Fumonisins were quantitatively determined by the direct competitive ELISA (CD-ELISA) technique using the Veratox Fumonisin kit (USDA-GIPSA 2001-102; Official Method AOAC 2001.06). Fumonisins were found in 100% of the samples both in crown (tusa) and in grains. The concentration was from 0.160 ppm to 6.270 ppm in crown and concentrations from 0.370 ppm to 8,800 ppm in grains. A relationship has been found between the amount of fumonisins in the corn grain and the amount of fumonisins in the crown of *Zea mays* L. The statistical program SPSS v.24 for windows was used.

Key words: fumonisin, moisture, purple variety maize (*Zea mays* L.), ELISA direct competitive

I. INTRODUCCIÓN

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La flora fúngica y su presencia en los alimentos son un tema de importancia en la salud pública y la economía a nivel mundial debido a su protagonismo en afectarlos severamente a través de alteraciones organolépticas, daños físicos, pudrición y posible contaminación de micotoxinas, metabolitos secundarios quienes en su gran mayoría son potencialmente tóxicos hacia el hombre y otras especies [1], ocasionando numerosos síntomas denominados *micotoxicosis* [2-5].

De todos los géneros fúngicos productores de micotoxinas los más importantes son *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, [2,6] considerando al género *Fusarium* estar implicado significativamente en el aspecto económico a nivel mundial [7], que además de producir alta diversidad de micotoxinas, es responsable de amplias pérdidas de cultivos por daños físicos [8].

Las fumonisinas, una de las tantas micotoxinas producidas por el género *Fusarium* y por la especie *Alternaria alternata* f. sp*. Lycopersici,* [9], ha empezado a tener importancia clínica, asociado a cáncer esofágico en humanos registrados en Sudáfrica, China, Italia, Brasil y otros; como también registros de asociaciones a afecciones en el tubo neural en EEUU, México y Sudáfrica [10].

Las fumonisinas han demostrado ser potencialmente tóxicos sobre muchas especies, registrando leucoencefalomalacia equina (ELEM), edema pulmonar porcino (EPP), cáncer hepático y renal en roedores, el síndrome de *Spiking Mortality* en aves y alteraciones hematológicas en peces [10-13].

De todas las incidencias de invasión fúngica del género *Fusarium* sobre alimentos, se ha demostrado que el maíz *Zea mays* L. sea considerado como el sustrato ideal; así también, se ha observado alta incidencia de fumonisinas en muchos sustratos, siendo más frecuente el maíz *Zea mays* L. [10,14].

El maíz en el Perú, es considerado un alimento de muchos siglos atrás, considerándose valioso desde las primeras civilizaciones. En la actualidad forma parte de nuestra amplia gastronomía, elaborándose variadas presentaciones a base de maíz; de todas ellas destaca mucho por su presencia la variedad morada, tenemos por ejemplo la “mazamorra morada” como postre y a la “chicha morada” como bebida [15].

En el Perú, hasta el 2020 no hay documentación acerca de la presencia de fumonisinas en el maíz morado, tanto a nivel de granos como de corontas.
¿Cuál es la concentración de fumonisinas en los granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada? ¿Cuál es la relación entre la concentración de fumonisinas en los granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada?

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACION

1.2.1. Objetivo General

- Determinar la concentración de fumonisinas en los granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada

1.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar la concentración de fumonisinas en los granos de *Zea mays L*. variedad morada mediante la técnica ELISA competitivo directo.
- Determinar la concentración de fumonisinas en las corontas de *Zea mays L*. variedad morada mediante la técnica ELISA competitivo directo.
- Establecer si la concentración de fumonisinas en mazorcas (corontas y granos) cumplen con los límites establecidos en las normas vigentes de la FAO.
- Correlacionar concentración de fumonisinas en los granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada.

1.3. IMPORTANCIA Y ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN

La presencia de flora fúngica y sus metabolitos tóxicos constituyen uno de los problemas sanitarios y económicos del país y del mundo dado el interés y preocupación por incrementar el conocimiento sobre los mohos potencialmente micotoxigénicos y micotoxinas denominadas fumonisinas en el campo de producción y venta en el mercado de maíz morado, nuestro proyecto de investigación ha elaborado los análisis correspondientes a este problema, brindando nuevos datos y conclusiones para luego ofrecer las recomendaciones en el mejoramiento de la calidad e inocuidad de este preciado alimento, así con ello, impulsar mayor competitividad de las empresas del sector dedicadas a extracción, comercialización y exportación de productos de maíz morado en nuestro país.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

Marin S (1998) vincula la ecología con el desarrollo de especies fúngicas micotoxigénicas *Fusarium moniliforme (F. moniliforme)* y *Fusarium proliferatum (F. proliferatum)* en relación con la infección de maíz *Zea mays* L. Determinó el efecto de los factores abióticos y las interacciones fúngicas, enfocado hacia la germinación, crecimiento y producción de fumonisinas de las especies de *F. moniliforme* y *F. proliferatum*. La primera conclusión determino que *F. moniliforme* y *F. proliferatum*, quienes son capaces de crecer en substratos muy variados, resultando el maíz (*Zea mays* L.) ser el substrato idóneo para la producción de fumonisinas. La segunda conclusión menciona que la actividad de agua (a_w) y la temperatura, factores importantes en la colonización de maíz por *F. moniliforme* y *F. proliferatum* fueron de 5 a 37ºC con actividad de agua (a_w) ≥ 0,88 para geminación, de 5 a 35ºC con a_w ≥ 0,90 para crecimiento. Con respecto a la producción de fumonisinas fue de 10 a 37ºC con a_w ≥ 0,93. La tercera conclusión es que llego a demostrar que conservantes como el propionato, utilizado como conservante, fue útil en el control de crecimiento de las especies de *Fusarium*, sin embargo, el control en la producción de fumonisinas solo fue eficaz con concentraciones ≥ 0,07%. Otra conclusión fue que las interacciones *in situ* de especies de *Fusarium* con otras especies fúngicas depende de los factores abióticos, la microflora natural del maíz afecta el desarrollo de *Fusarium* de múltiples maneras. Las especies de *Fusarium* compiten con mucho éxito con altos valores de a_w y temperaturas cercanas a 15ºC. La última conclusión fue que la producción de fumonisinas, bajo condiciones de elevados valores de a_w, son potenciadas para su producción en presencia de otras especies fúngicas como *Aspergillus niger (Aspergillus niger)* [16].

Gallardo ED et al. (2006) determinaron la microbiota, los niveles de fumonisinas producidas de manera natural, y la capacidad productiva de fumonisinas por cepas de *Fusarium verticillioides* aislados de granos de maíz. Todos los procedimientos de evaluación fueron ejecutados bajo las condiciones de laboratorio. En la evaluación de la microbiota se han identificado géneros como *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, de los cuales fue *Fusarium* el género con mayor incidencia, seguido de Aspergillus, *Penicillium* y *Alternaria*. Con respecto al género *Fusarium*, han sido

detectadas un total de siete especies. Para la determinación y cuantificación de fumonisinas se ha empleado la cromatografía de inmunoafinidad utilizando una columna Fumonitest y Cromatografía liquida de alta eficacia (High performance liquid chromatography, HPLC) para confirmación. Se concluye que han detectado niveles significativos de fumonisinas que representan un riesgo potencial ya que el maíz es considerado uno de los alimentos más importantes en el mundo [17].

Coronel MB et al. (2016) quienes evaluaron el rendimiento de dos kits de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) G y K, de diferentes marcas utilizadas en 6 plantas para la determinación de fumonisinas en harina de maíz y gluten en comparación con los resultados obtenidos por HPLC. Las determinaciones por ELISA en maíz (n=43) y harina de gluten (n=45) se llevaron a cabo en las plantas y el análisis HPLC se realizó en el laboratorio. No se encontraron diferencias significativas (P>0,05) en la mayoría de casos cuando las concentraciones de fumonisinas estaban dentro del rango de cuantificación de ELISA. Por lo tanto, las pruebas ELISA, realizado de acuerdo con los protocolos validados, son herramientas útiles para propósitos de detección, pero los niveles más cercanos a los límites estables para el rechazo de lotes, debe ser confirmado por HPLC debido a su elevada desviación estándar relativa de los análisis ELISA. El patrón de contaminación de fumonisinas en harina de gluten fue diferente al de maíz con niveles elevados de fumonisinas B2 (FB2) que fumonisinas B1 (FB1) [18].

Venturini G et al. (2016) en su investigación evaluaron el efecto de los flavonoides asociados con la protección contra insectos y la inoculación de *F. verticillioides*, sobre los síntomas denominado “enfermedades relacionadas a *Fusarium*” (FER) y contaminación por fumonisinas en los granos de maíz. Se compararon 2 híbridos isogénicos, uno con pigmentación en el pericarpio (p1-rr) y otro sin él (p1-wr). El híbrido p1-rr mostro valores más bajos de síntomas de FER y contaminación por fumonisinas que p1-wr solo si la protección contra insectos y la inoculación por *F. verticillioides* se aplicaron en combinación. La infección por *Fusarium* no se vio afectada por la presencia de flavonoides en el pericarpio. La inoculación artificial con *F. verticillioides* fue más efectivo que la protección contra insectos para mejorar la actividad inhibitoria de los flavonoides hacia la contaminación por fumonisinas. Las interacciones entre los niveles de contaminación de fumonisinas y las

calificaciones de FER se modelaron mejor en el hibrido pigmentado que en el no pigmentado. La función variable que desempeño el pigmento en la defensa de las plantas contra FER y fumonisinas (FUM) indica que los flavonoides no pueden ser completamente efectiva en la resistencia de la contaminación por fumonisinas en el maíz [19].

Fión M y Méndez O (2018) evaluaron el nivel de exposición de la población de Santa Bárbara y Copan (Honduras) a las toxinas aflatoxinas y fumonisinas durante el consumo de maíz (*Zea mays* L.) y se caracterizó el sistema post producción de maíz. Se tomó un total de 304 muestras recolectadas de maíz de Copan y Santa Bárbara, las cuales se tomaron datos (humedad de campos, densidad y temperatura); durante la recolección se ha realizado encuestas para estimar el sistema post producción de maíz. Para la cuantificación de micotoxinas se ha empleado la técnica fluorometría-ELISA. Los resultados muestran que no existe diferencia significativa de contaminación entre ambos departamentos ($p>0.05$). Con respecto a las encuestas, el 78% de productores exceden el tiempo recomendado entre la madurez fisiológica y la cosecha, el 57% de los productores secan el grano exponiéndolos al sol sobre nylon, el 88% de productores almacenan el maíz en graneros. Los resultados sobre micotoxinas muestran un 24,91% de presencia de aflatoxinas con concentraciones desde 1 a 430 partes por billón (ppb), y un 97,74% de presencia de fumonisinas con concentraciones desde 0,25 a 25 ppm. Conclusiones con respecto a exposición a fumonisinas encontrados en copan y Santa Bárbara, existe una alta probabilidad de sobrepasar la ingesta diaria provisional emitido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization, FAO); también muestra una alta incidencia por fumonisinas en comparación a aflatoxinas en Copan y Santa Bárbara. El sistema post producción de maíz, muestra larga prolongación de tiempo entre la madurez fisiológica ya cosecha, el uso de métodos empíricos para mediciones de humedad, diversos métodos de almacenamiento con extensos periodos; todos ellos contribuyen el ataque de plagas e incidencia de hongos potencialmente toxigénicos [20].

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. El maíz (*Zea mays L.)*

2.2.1.1. Generalidades

El maíz (*Zea mays* L.) constituye uno de los cultivos más importantes que el hombre utiliza para su alimentación. Es una especie oriunda de América, específicamente muy probable en América central, aunque de manera silvestre [21] y que luego se fue domesticando y diversificando a lo largo de la cordillera de los Andes [22]. Ahora es considerado el tercer cultivo más importante luego del arroz y del trigo, cuya producción y rendimiento han aumentado en la última década [23] con múltiples usos en la industria del almidón, edulcorantes, aceites, bebidas, pegamento, alcohol industrial, etanol combustible y últimamente importante en la industria del combustible [24].

Existen evidencias de que originalmente el maíz fue domesticado en dos centros independientes, Perú y México [25] como hallazgos de polen fósil de *Zea mays* L. en el lago Sauce (Departamento de San Martín), Perú [26]; sedimentos de *Zea mays* L. en el lago Moxon, Bolivia [27]; macrofósiles de protomaices en Paredones y Huaca Prieta, Perú [28]; y restos de maíz hallados la cueva de Guila Naquitz, y la cueva San Marcos, México [29,30].

El maíz en el Perú se cultiva desde épocas precolombinas con profunda connotación mágica religiosa, económica y política. Su antigüedad está comprobada por las mazorcas halladas en las tumbas, así como también representaciones de mazorcas de maíz, bebedores de chicha en cerámicos y tejidos [31,32].

El Perú es reconocido por poseer una gran diversidad y variabilidad respecto a sus productos agrónomos; el maíz que también es una de ellas, presentan también variedades [33] considerando al territorio peruano como el área de mayor variabilidad genética del maíz amiláceo en el mundo, desarrollándose amplias formas alimenticias a base de maíz desde los tamales y humitas hasta la cancha y mote [32]. Una variedad más es el maíz morado, quien contiene pigmentos de antocianina distribuidos en la planta, caracterizado por presentar mazorcas con coronta fuertemente pigmentadas de color morado tanto externa como internamente y granos con el pericarpio color morado [32,34].

2.2.1.2. Aspectos botánicos

Zea mays L.*,* especie herbácea con altura de 1 a 4 metros, con hojas de 5 a 10 cm de ancho y 50 a 100 cm de ancho aproximadamente, con una raíz fibrosa muy extensa. Es considerado una hierba anual, con formación de una mazorca por cada tallo con un contaje de 300 a 1000 granos [35].

2.2.1.3. Ubicación taxonómica

El maíz morado, perteneciente a la especie *Zea mays* L. está clasificado de manera correspondiente [36]:

División	: SPHERMATOPHITA
Clase	: MONOCOTYLEDONEAE (Commelínidos)
Orden	: POALES
Familia	: POACEAE (Gramineae)
Subfamilia	: PANICOIDEAE
Tribu	: ANDROPOGONEAE
Género	: Zea
Especie	: *Zea mays* L.
Nombre vulgar	: Maíz

2.2.1.4. Maíces en el Perú y su variedad morada

En 1952 se inició el plan de colecta de variedades nativas de maíces en el Perú, registrándose 1.600 especímenes. En los años de 1955 y 1956, el Programa Cooperativo de Investigación en Maíz de la Universidad Cornell y la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), realizaron estudios de clasificación y estudios evolutivos de esta colección, formando 48 grupos raciales, teniendo presente los aspectos morfológicos como la estructura de la mazorca, panoja y planta, aspectos citogenéticos, como también las zonas geográficas de cultivo usadas, naciendo la nominación de cada grupo racial o ecotipo. El número de razas, distribución y clasificación de maíz ha variado según el criterio de los autores, mostrando un aproximado de 56 razas, siendo más aceptable Manrique, Salhuana y Sevilla [25,32]. El Banco de Germoplasma del Programa de Maíz de la Universidad Nacional Agraria La Molina guarda aproximadamente 3931 muestras de maíz mostrando 52

razas según Salhuana, de las cuales 14 crecen en la Costa, 29 en la sierra y 7 en la selva, agrupados en 5 razas primitivas, 19 razas derivadas de las primitivas, 9 razas de reciente derivación, 5 razas introducidas, 5 razas incipientes, y otro grupo denominado imperfectamente definido, comprendido en 9 razas [32]. Se mencionan las razas a continuación:

- **Razas primitivas:** *confite puntiagudo*, ,*kculli*, *confite morocho, confite puneño* y *enano*.
- **Razas derivadas de las primitivas:** comprenden las razas *Huayleño,Rabo de zorro, morocho, chaparreño, paro, chullpi , huancavelicano, shajatu, ancashino, shajatu, cuzco cristalino amarillo, pisccorunto, cuzco, uchuquilla, granada, sabanero, mochero, piricinco, pagaladroga y alazán.*
- **Razas de reciente derivación:** tenemos las razas *huachano, chancayano, perla, rienda, san Jerónimo huancavelicano* y *cuzco gigante* (quien posee varios tipos que son: *cuzco gigante propiamente dicho, saccsa, cuzco gigante amarillo, cuzco morado, huayra cuzco), arequipeño, chimlos y marañon.*
- **Razas introducidas:** comprende las razas *pardo, Arizona, alemán, cubano dentado amarillo y chuncho.*
- **Razas incipientes:** tenemos a las razas *jora, coruca, morocho cajatambino, morado canteño y sarco*.
- **Razas imperfectamente definidas:** comprende las razas *ajaleado, san jeronimo, perlilla, tumbesino, colorado, chancayano amarillo, amarillo huancabamba, huarmaca y blanco ayabaca.*

El maíz morado es una variedad única que se cultiva en el Perú, en valles interandinos y la Costa Central. Las principales zonas de producción, mostrados en la figura 1 son: Lima, Arequipa, Ancash, Junín, Cajamarca, Ayacucho, La Libertad, Huánuco, Ica y Cusco [25,32,34].

Existen muchas investigaciones que validan las variedades del maíz morado peruano provenientes de la variedad *kculli*, posible raza ancestral tenemos al Cuzco morado, Morado canteño, Morado caraz, Arequipeño (variedad tradicional), Negro Junín, Morado mejorado (derivados de Caraz y el INIA 615- Negro Canaan [15,25].

El maíz morado comercializado en los mercados de la ciudad de Lima, es el "*Morado Canteño*". Los profesionales del Programa de Maíz de la UNALM de toda esta diversidad, han originado las variedades mejoradas como: *Morado Caraz*, para

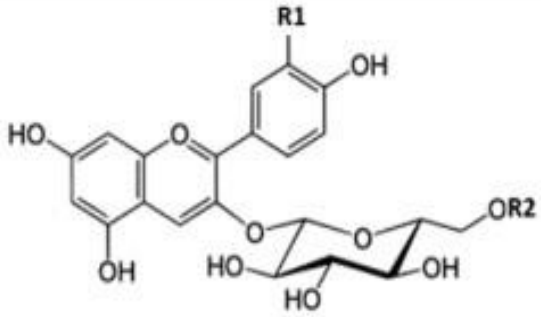
siembras de sierra y de él, el Morado *PMV-581* para siembras de sierra y Morado *PMV-582* para siembras de costa central [15].



Figura 1. Principales departamentos productores de maíz morado (*Zea mays* L.) y sus producciones 2010-2015 [34].

2.2.1.5. Importancia

Investigaciones farmacognósticas (estudios de principios activos naturales) y fitoquímicos (composición química vegetal) reportan del fruto (mazorca de maíz morado) compuestos químicos como los terpenos, flavonoides, taninos, aceites esenciales, saponinas, resinas, glicósidos, sales de potasio y sodio, ácido salicílico, azufre y sodio. Las más destacados son los ácidos fenólicos y las antocianinas, principalmente la cianidina-3-β-glucósido (figura 2) [37]; otros también importantes son la pelargonidina-3-β-glucósido y peonidina-3-β-glucósido, flavonoides responsables de la coloración violácea [25,38,39].



Anthocyanins	R1	R2
Cyanidin-3-glucoside	OH	H
Pelargonidin-3-glucoside	H	H
Peonidin-3-glucoside	OCH_3	H
Cyanidin-3-(6"-malonylglucoside)	OH	$COCH_2COOH$
Pelargonidin-3- (6"-malonylglucoside)	H	$COCH_2COOH$
Peonidin-3 (6"-malonylglucoside)	OCH_3	$COCH_2COOH$

Figura 2. Principales antocianinas del maíz morado (*Zea mays* L.) [39]

Las antocianinas o antocianidinas, son metabolitos secundarios pertenecientes al grupo de los flavonoides, específicamente los bioflavonoides que en el reino vegetal se encuentran ampliamente distribuido en las plantas superiores (especialmente en las angiospermas), reconociéndose por su pigmento rojo azulado, que se producen con mayor frecuencia en los frutos y semillas. Las antocianinas tiene la función de atrayentes de polinizadores y agentes dispersores de las semillas, además puede producirse también en las raíces, coleóptilos, hipocótilos, tallos, rizomas, tubérculos, bulbos, estolones, cormos, hojas, yemas axilares, brácteas, espigas, etc. Estas antocianinas protegen contra la luz ultravioleta (UV) a las plantas, flores, frutos y gracias a la función antioxidante las protege contra los efectos deletéreos de los radicales libres [25]

El creciente interés por las antocianinas, se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica como actividad antioxidante [40-43], antinflamatoria, antidiabética y antihiperlipidémica [37,39,44].

Con respecto a los pigmentos naturales, las antocianinas por sus características cromáticas, su capacidad de disolverse en agua y su nula toxicidad [25], representan al sustituto ideal de los colorantes sintéticos; sin embargo, su uso aún está en

observación debido a su estabilidad, afectada por factores físicos y químicos como la temperatura, el pH, la luz, el solvente y la estructura del pigmento, aunque se ha demostrado cierto grado de estabilidad en muestras de maíz morado [45]. Proyectos como el de Luna-Vital et al. mejoraron la estabilidad de los pigmentos naturales del maíz usando una combinación de zinc y alginato protegiéndolos de la degradación térmica [46].

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (*Food and Drug Administration,* FDA) clasifica al maíz morado como un pigmento natural, otorgándole la codificación E-163 (EEC) [25].

En los últimos años se realizan esfuerzos industriales para obtener polvos de coronta de maíz morado, harinas del grano de maíz morado y esas valiosas en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética [47].

En la industria cosmética, se ha presentado el cambio de colorantes sintéticos por colorantes de origen natural, debido a la demanda del consumidor por preferir productos seguros para la piel, además, existe una nueva tendencia en esta industria que está creciendo rápidamente, cuyo objetivo es aprovechar los componentes funcionales activos de sus pigmentos, bajo un esquema denominado cosmecéutica, la cual representa una asociación entre los cosméticos y la farmacéutica [25].

En la gastronomía peruana el maíz morado presenta gran protagonismo como la bebida típica *chicha morada* y uno de los postres más populares la *mazamorra morada* (figura 3) [15], adicionales a ellos tenemos proyectos como el de Lago et al. sobre el desarrollo de palomitas de maíz morado [48].



Figura 3. Mazamorra morada, postre emblemático de nuestro país [34]

La demanda del maíz morado a nivel nacional e internacional, forma parte de una oferta exportable de productos "emergentes", con una tendencia creciente en los diversos mercados [25]. Hasta el 2015 en los 5 últimos años la producción de maíz morado ha presentado una tasa anual promedio de crecimiento del 25%, siendo los principales mercados destino de las exportaciones de maíz morado los países de EEUU y Ecuador, con un 78% del total de los envíos de exportación. Otros países de destino son España, Chile, Japón, Italia y otros, señalados en la figura 4. [34]

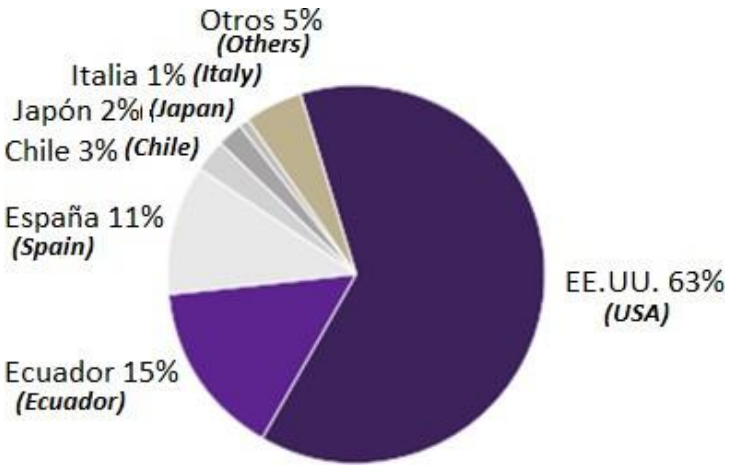


Figura 4. Principales mercados destino de las exportaciones de maíz morado durante el 2015 [34]

2.2.2. Flora fúngica

Los productos alimenticios son, por su características propias, nutritivos y metabolizables, y por todo ello son capaces de generar un entorno de asociaciones microbianas optimizando su crecimiento y metabolismo. Se ha establecido una

serie de 4 factores que influyen en la microflora y la selección hacia un alimento. Estos factores involucrados en la resistencia a la colonización del alimento son [49]:

- Factores intrínsecos, relacionados a la composición química, propiedades físicas y biológicas del alimento, tenemos a la composición del alimento, actividad de agua (a_w) y pH.
- Factores extrínsecos, relacionados al ambiente donde son conservados los alimentos, tenemos la temperatura de almacén, humedad del ambiente, tensión de oxígeno, composición gaseosa ambiental o del envase y grado de presencia de luz.
- Factores tecnológicos, relacionados al tratamiento tecnológico el cual mencionamos los tratamientos físicos (principalmente térmico), químicos y biológicos.
- Factores implícitos, relacionados a las interacciones entre los microorganismos que se encuentran en el alimento.

La flora fúngica, a lo largo de su crecimiento y desarrollo sobre el alimento toman de ello lo que necesitan para producir energía y llevar a cabo sus procesos vitales; provocando en los alimentos alteraciones como la disminución del valor nutritivo, cambios en la calidad organoléptica afectando su apariencia (olor, color, sabor y textura), reducida capacidad de germinación en semillas, perdida de materia seca debido a la absorción de nutrientes y agua por la flora fúngica; su invasión e infección permite a que la flora fúngica elabore metabolitos secundarios, entre ellas las que destacaremos las micotoxinas. Se establecen ciertos factores que influyen sobre el desarrollo fúngico y producción de micotoxinas [12,49]:

- Temperatura (T)
- Actividad de agua (a_w)
- Potencial hidrógeno (pH)
- Sustrato
- Interacciones microbianas

2.2.2.1. Flora fúngica de campo, transición y almacén

Distintas especies fúngicas muestran diferentes requerimientos, ello se aprecia en diferentes poblaciones fúngicas y su secuencial desarrollo respecto a la actividad de agua y contenido de humedad antes, durante y después de la cosecha (figura

5). Debida a dicha eventualidad, se ha permitido agrupar la flora fúngica en tres categorías ecológicas: flora de campo, de transición y de almacén [7,12,49].

La "flora de campo" comprende las especies que pertenecen a los géneros *Fusarium, Alternaria, Cladosporium, Dreschlera*, quienes requieren un alto contenido de humedad para desarrollarse y crecer (22-25%), invadiendo la planta antes de ser recolectada. La flora "de transición o intermedia" comprende especies que pertenecen a los géneros *Fusarium, Paecilomyces, Trichoderma, Monascus, Cladosporium* y *Geotrichum*. La flora "de almacenamiento" abarca un reducido número de especies que pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Eurotium*; cuya particularidad es desarrollarse en contenidos de elevada presión osmótica y humedad baja (13-18%).

Los "mohos de campo" por lo general presentan propiedades parasíticas y/o saprofíticas, mientras que los de almacén poseen más propiedades saprofíticas [49].

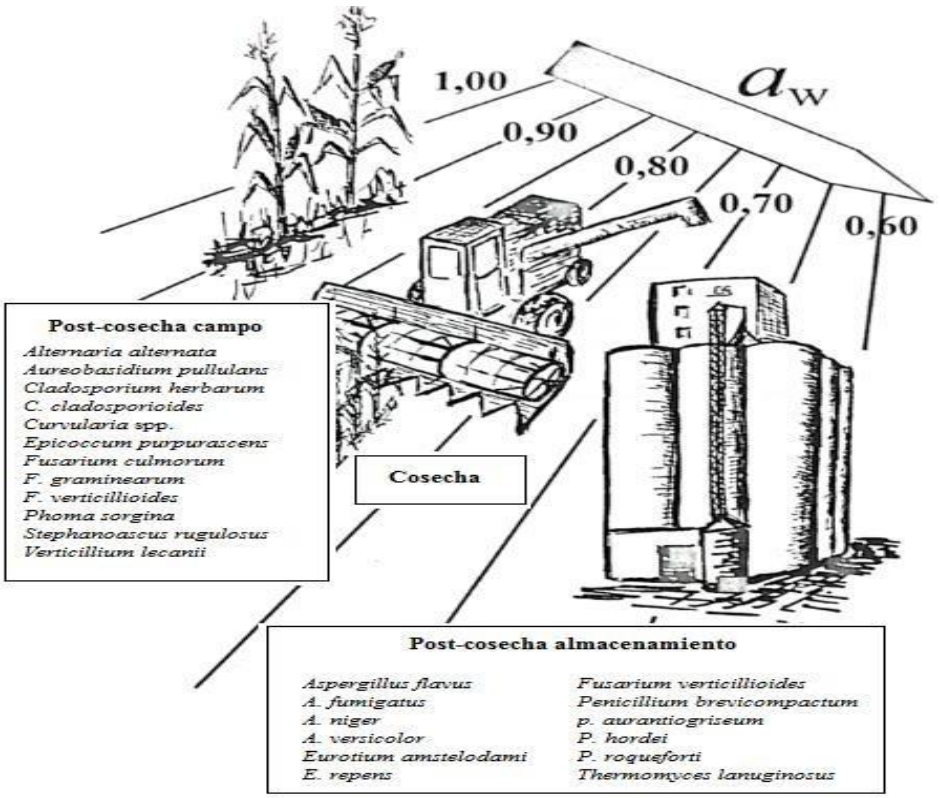


Figura 5. Flora fúngica y su relación con la actividad de agua (aw) [49]

2.2.3. Hongos filamentosos "mohos" y *Fusarium*

Los tres subreinos del reino de los hongos de mayor importancia en el sector alimenticio son los *Zygomicotas*, *Ascomicotas*, y (en menor frecuencia)

Basidiomicotas; debido a que muchos de los géneros incluidos en dichos subreinos están relacionados en el deterioro de los alimentos [10].

Actualmente, los hongos son clasificados al igual que las plantas y los animales en un reino único e independiente. Anteriormente los hongos fueron divididos en varios subreinos, según el tipo de espora y algunas consideraciones ambientales; además la taxonomía tradicional los ha relacionado estrechamente al reino de las plantas; sin embargo, los métodos moleculares han demostrado que los hongos presentan mayor relación con los animales, en comparación con las plantas [10].

Otro de los cambios más importantes desde el punto de vista de la micología alimentaria es la migración de muchas especies del subreino *Deuteromicota* al subreino *Ascomicota*, llevando al subreino *Deuteromicota* a su desaparición. Esta proporción de información sobre la migración es gracias a la taxonomía molecular, garantía fundamental necesaria para realizar este cambio [10].

Los hongos son microorganismos eucarióticos, quimiótrofos, aerobios estrictos o facultativos con reproducción a manera de esporas, sexual o asexualmente. Una característica común que tienen los hongos es la ausencia de clorofila por lo que no son fotosintéticos [50].

Los hongos tienen dos formas básicas de crecimiento: como levaduras y como mohos. El crecimiento en la forma de moho está constituido por la producción de túbulos cilíndricos multicelulares denominados filamentos o hifas. Estas hifas entremezcladas forman un complejo denominado talo o micelio, lo cual ocurre durante la fase de crecimiento [50].

De la división *Ascomycota* tenemos a los géneros más importantes desde el punto de vista agroalimentario; ya que muchos de sus especies, además de posiblemente ser patógenos de plantas, son conocidos por ser potencialmente productores de micotoxinas (tabla 1), vinculados a efectos tóxicos sobre los humanos y otros vertebrados denominado micotoxicosis; ellos son los géneros *Aspergillus, Fusarium y Penicillium*. [2,12].

Tabla 1. Principales géneros productores de micotoxinas y número de especies micotoxigénicas involucradas [6]

Género	Especies micotoxigénicas
Penicillium	32
Aspergillus	15
Fusarium	12
Byssochlamys	2
Stachybotrys	2
Trichoderma	2
Alternaria	1
Chaetomium	1
Paecilomyces	1
*Rhizopus**	1
* El género *Rhizopus* pertenece a la división *Zigomycota*. El resto de géneros pertenecen a la división *Ascomycota*.	

2.2.3.1. Género *Fusarium*

El género *Fusarium*, una de las más grandes y diversas en el campo de los hongos filamentosos, con una taxonomía altamente compleja para precisar la identificación de sus especies de manera sistemática. Desde sus primeras descripciones por Link en 1803 y estableciéndose como Género propiamente dicho en 1809, se han elaborado numerosos informes sobre el género *Fusarium*, aunque muchos ambiguos e incorrectos, una cantidad necesaria de información apoyará a resolver varias partes de esta complejidad que lo acompaña. La comunidad de investigadores del género *Fusarium,* se reúnen de manera muy periódica para única y exclusivamente tratar sobre los últimos informes publicados, así como también elaborar nuevas conclusiones al respecto [51].

El género *Fusarium*, organismos ampliamente distribuidos en suelos y sustratos orgánicos, son responsables de enfermedades de plantas adultas (Fitopatógenas), muchas de ellas de importancia económica como el maíz, arroz, caña de azúcar, plátanos, espárragos y algodón; disminuyendo su calidad y generando pérdidas económicas en el mundo [6,8].

2.2.4. **Micotoxinas**

Las micotoxinas (del griego *mukes/ mikos* = hongo y del latín *toxicum* = toxico, veneno) [52]; se definen como compuestos orgánicos, biológicamente activos y de amplio espectro que pueden traer aparejados problemas de intoxicaciones agudas y crónicas. Estos compuestos son considerados metabolitos secundarios [5,12] debido a que no cumplen un papel en la fisiología del organismo que los producen y se sintetizan en la etapa final de la fase exponencial del crecimiento del hongo [52]. Se han identificado más de 300 variedades distintas de micotoxinas, producidos por aproximadamente 350 especies de hongos, pudiéndose encontrar en los granos, semillas, especias, frutas, bebidas y otros materiales vegetales, e indirectamente a través de residuos en leche, carne, huevos y los derivados de productos obtenidos de animales que hayan consumido algún alimento contaminado por micotoxinas [53.]

- Las micotoxinas son moléculas relativamente pequeñas (peso molecular menor a 700) con alta resistencia al calor, clasificadas en base a los productos iniciales que se utiliza para su producción [7]: poliquétidos, terpenos, sustancias derivadas del ácido shikímico y metabolitos derivados de aminoácidos

2.2.4.1. **Micotoxinas de *Fusarium***

Un gran número de especies del género *Fusarium*, además de ser fitopatógenas, generan numerosas clases de micotoxinas, con más de 300 clases de micotoxinas de *Fusarium*, las cuales tiene significancia en salud pública y de importancia agroeconómica las que son tricotecenos, zearalenona (ZEA), fumonisinas (FBs), moniliformina (MON) y ácido fusárico (FA) [6,8]. Las micotoxinas tricotecenos (TCT) son un grupo de más de 180 compuestos producidos por *Fusarium, Stachybotrys, Myrothecium*, cuyos compuestos están relacionados a los sesquiterpenoides. El deoxinivalenol (DON) está considerado como el tricoteceno más común, pero también uno de los menos tóxicos; otros tricotecenos de importancia se incluyen a la toxina T-2 (de las menos prevalentes, pero más toxica), el diacetoxiscirpenol (DAS), fusarenona X y satratoxinas. Las ZEA, fumonisinas (FB), moniliforminas y ácido fusárico (FA) están clasificadas como micotoxinas no tricotecenos de *Fusarium* (tabla 2) [12].

Con énfasis sobre el género *Fusarium* y sus especies, una característica fundamental es que “una misma micotoxina puede ser producida por diferentes especies, y que una misma especie puede producir diferentes micotoxinas a la vez, dado así que un mismo sustrato podemos encontrar más de un metabolito” [6,11].

1.2.1. *Fusarium*, maíz y micotoxinas

El género *Fusarium* es el principal género de hongos patógenos que causan deterioro de cereales, en especial el maíz y sus mazorcas, mencionando las especies vinculadas al *Fusarium graminearum, Fusarium verticillioides y Fusarium subglutinans*. Además de las enfermedades sobre el maíz, se agrava por la presencia de micotoxinas, señalando un riesgo potencial sobre el hombre y los animales consumidores de sus alimentos [10].

Las relaciones entre el género *Fusarium* y efectos tóxicos empezaron a documentarse, como el estudio de maíz contaminado por *F. verticillioides*, muestra tomada de alimentos para caballos relacionados a un brote de leucoencefalomalacia, evidenciándose nódulos hepáticos, adenofibrosis y colangiocarcinomas en ratas [54].

Tabla 2. Principales especies de *Fusarium* potencialmente toxigénicas [6]

Especie	DON	T-2	HT-2	ZEA	MON	FB
F. acuminatum	-	+	+	-	+	-
F. anthophilum	-	-	-	-	-	+
F. avenaceum	-	-	-	-	+	-
F. crookwellense	-	-	-	+	-	-
F. culmorum	+	-	-	+	-	-
F. chlamydosporum	-	-	-	-	+	-
F. dlamini	-	-	-	-	-	+
F. equiseti	-	+	-	(+)	-	-
F. graminearum	+	-	+	+	-	-
F. napiforme	-	-	-	-	-	+
F. nygamai	-	-	-	-	-	+
F. oxysporum	-	(+)	-	-	+	-
F. poae	-	(+)	+	-	-	-
F. proliferatum	-	-	-	-	+	+
F. sambucinum	-	+	-	(+)	-	-
F. semitectum	-	+	-	+	-	-
F. sporotrichioides	+	+	+	(+)	-	-
F. subglutinans	-	-	-	-	+	-
F. verticillioides	-	-	-	(+)	(+)	+
(+) bajo porcentaje de cepas productoras						
DON: deoxinivalenol, ZEA: Zearalenona, MON: moniliformina, FB: fumonisinas						

En el maíz se encuentran muchas micotoxinas producto del género *Fusarium*, entre las que destacan las fumonisinas que son producidas principalmente por *F. verticillioides, F. proliferatum*, [11,55], *F. anthophylum*, *F. nygamai, F. dlamini*, *F. napiforme, F. oxysporum y F. polyphialidicum* [6,9].

No todas las especies son productoras de micotoxinas, ya que se indica genes específicos involucrados en la síntesis de micotoxinas, por lo que se denominaría a estas especies micotoxigénicamente productoras [2,56].

La FAO calcula que anualmente el 25% de la producción mundial de granos, son afectadas por micotoxinas [11]. Para poder identificar hongos micotoxigénicos potencialmente productores en alimentos y piensos [6,57,58] se mencionan los siguientes métodos a continuación:

- Métodos que se basan en la utilización de medios de cultivo diferenciales
- Métodos que se basan en Técnicas cromatografías
- Métodos que se basan en Técnicas inmunológicas
- Métodos que se basan en Técnicas de análisis de ADN

1.2.2. Fumonisinas

Las fumonisinas, descubiertas, analizadas y caracterizadas en los años 80 [6,59], "son micotoxinas producidas por diferentes especies del género *Fusarium*, y en menor cuantía, por el género *Alternaria alternata sp. Lycopersici"* (tabla 3) [9].

Tabla 3. Especies principales productoras de fumonisinas [9]

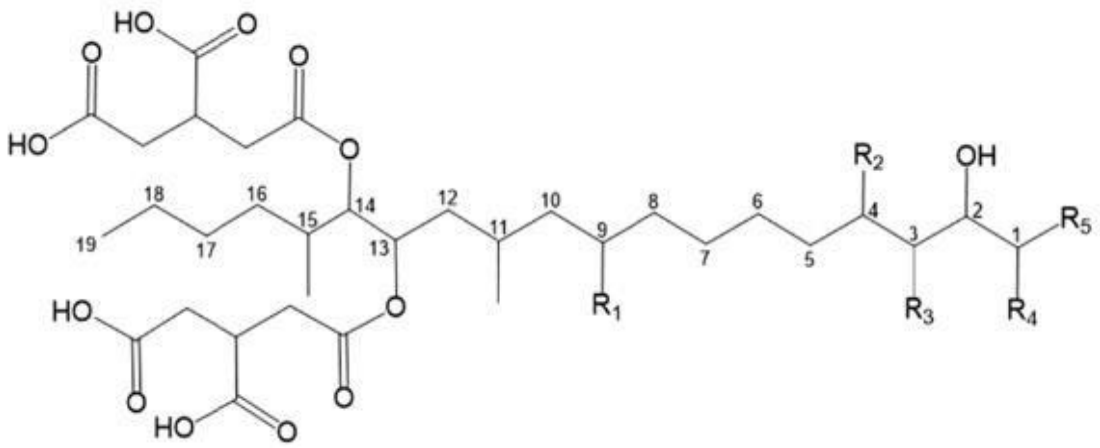
Género	Especie
Fusarium	*F. verticillioides*
	F. proliferatum
	F. nygamai
	F. napiforme
	F. oxysporum
	F. polyphialidicum
	F. anthrophilum
	F. dlamini
Alternaria	*A. alternata* f. sp. *Lycopersici*

Son identificados 15 tipos de fumonisinas de estructura química similar, agrupados en 4 series o grupos: A, B, C Y P (figura 6) [6,9,60]

Se han estudiado diversos sustratos para determinar la probabilidad de contaminación por fumonisinas, siendo el maíz la principal materia prima que puede presentar contaminación por fumonisinas [9,14]; aisladas de alimentos derivados en países como Estados Unidos, Canadá, China, Egipto, Nepal, Argentina, Brasil y Perú, lo cual sugiere que la producción de fumonisinas en maíz está distribuida mundialmente [59].

1.2.2.1. Mecanismo de acción de las fumonisinas

Se indica que las Fumonisinas comparte una similitud estructural con las bases esfingoides [61]: esfingosina y la esfinganina, componentes de los esfingolípidos [9,59], quien es 2° integrante fundamental de las membranas celulares después de los glicerofosfolípidos [62-67]



Fumonisin	R_1	R_2	R_3	R_4	R_6
A_1	OH	OH	H	$NHCOCH_3$	CH_3
A_2	OH	OH	H	$NHCOCH_3$	CH_3
A_3	OH	H	H	$NHCOCH_3$	CH_3
A_4	H	H	H	$NHCOCH_3$	CH_3
B_1	OH	OH	H	NH_2	CH_3
B_2	H	OH	H	NH_2	CH_3
B_3	OH	H	H	NH_2	CH_3
B_4	H	H	H	NH_2	CH_3
B_6	H	OH	OH	NH_2	CH_3
C_1	OH	OH	H	NH_2	H
C_2	H	OH	H	NH_2	H
C_3	OH	H	H	NH_2	H
C_4	H	H	H	NH_2	H
FP_1	OH	OH	H	3HP	H
FP_2	H	OH	H	3HP	H
FP_3	OH	H	H	3HP	H

3HP: 3-hydroxypyridinium

Figura 6. Estructura química de las fumonisinas estudiadas [60]

La síntesis de esfingolípidos, resaltando a las esfingomielinas, se inicia con la condensación de la *serina* con el *palmitoil-CoA* por la acción de la **serina palmitoil transferasa (3-dehidroesfinganina sintasa)** obteniéndose la *3-cetosfinganina (3-dehidroesfinganina)*, quien es reducida a *esfinganina (dihidroesfingosina)* por

acción de la **3-dehidroesfinganina reductasa**. Este último compuesto es acilado en *dihidroceramida (N-acilesfinganina)* por la **acil-CoAtransferasa** y a la vez es transformada en *ceramida (N-acilesfingosina)* por la acción de una **dihidroceramida desaturasa** [9,68-73], llevándose esta cascada de reacciones en zona citosólica del Retículo endoplasmático (RE) [68,73,74]. Por otro lado, "se puede formar *ceramida* por la acción de la **ceramida sintasa** a partir de *esfingosina"* [9], aunque hay observaciones en aquella ruta (figura 7) [68].

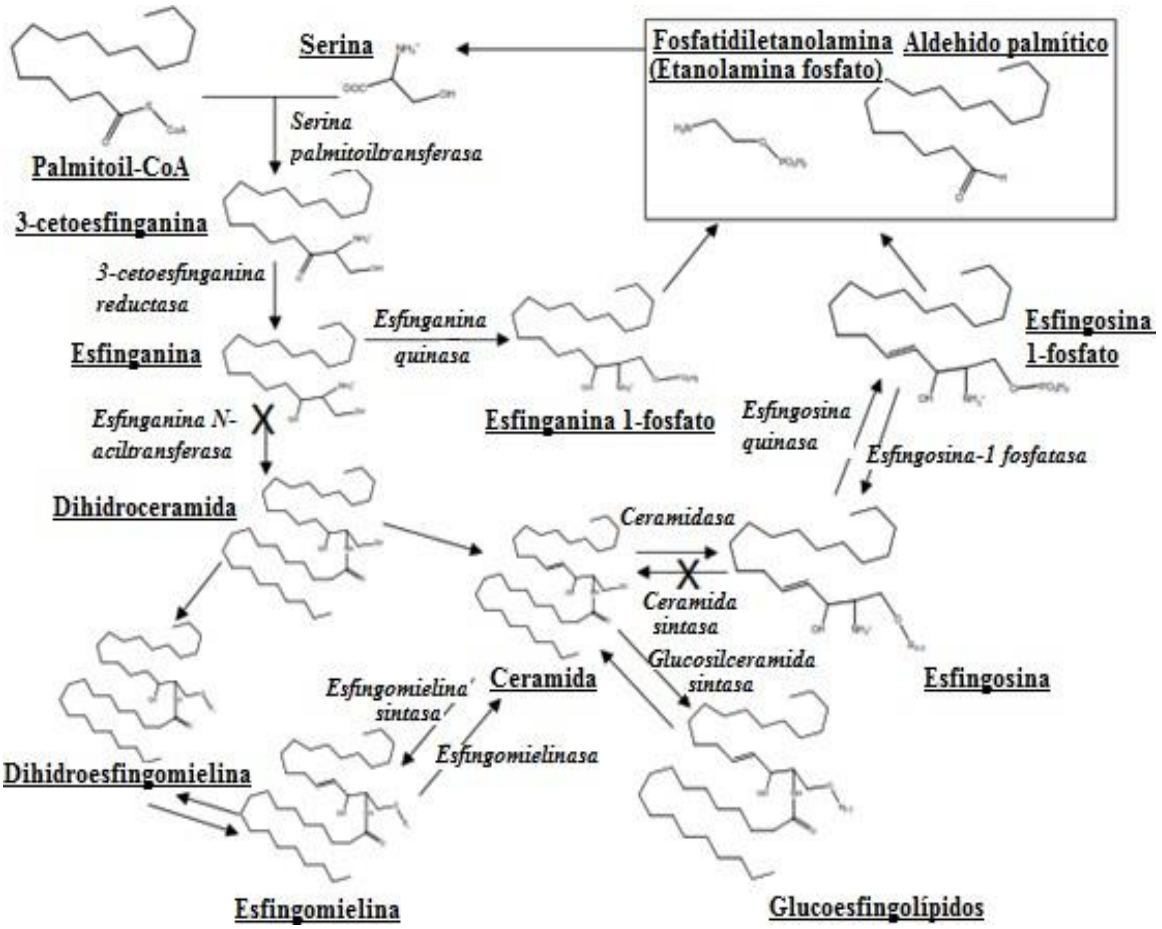


Figura 7. Ciclo de la esfingomielina y la intervención de las fumonisinas sobre la *Esfinganina N-aciltransferasa* y la *ceramida sintasa* representadas por una (X) [61]

Mas adelante, esta *ceramida* por adición de ciertos grupos polares puede dar lugar a *glicoesfingolipidos* o *esfingomielinas* [66,73,75]. Además, "la *esfingosina* y la *esfinganina* por fosforilación da lugar a la *esfingosina 1-fosfato* y *esfinganina 1-fosfato*, respectivamente, y que tras otros pasos adicionales da lugar a

fosfatidiletanolamina y lípidos. Toda esta ruta biosintética es denominado *ciclo de la esfingomielina"* (figura 7) [9].

Las fumonisinas, entonces debido a su estructura similar con esfingosina y esfinganina [60], impiden a la correcta función sobre la enzima **ceramida sintasa** y la **esfingosina N- aciltransferasa** [9,10,76] en recepcionar bases esfingoides para la formación de los esfingolípidos complejos, rompiendo de esta manera con el *ciclo de la esfingomielina*, como resultado se produce "una acumulación sobre todo de *esfinganina* y en menor cantidad de ***esfingosina"***, observándose la *esfinganina* acumulada en el hígado y otra porción en sangre (figura 8) [9].

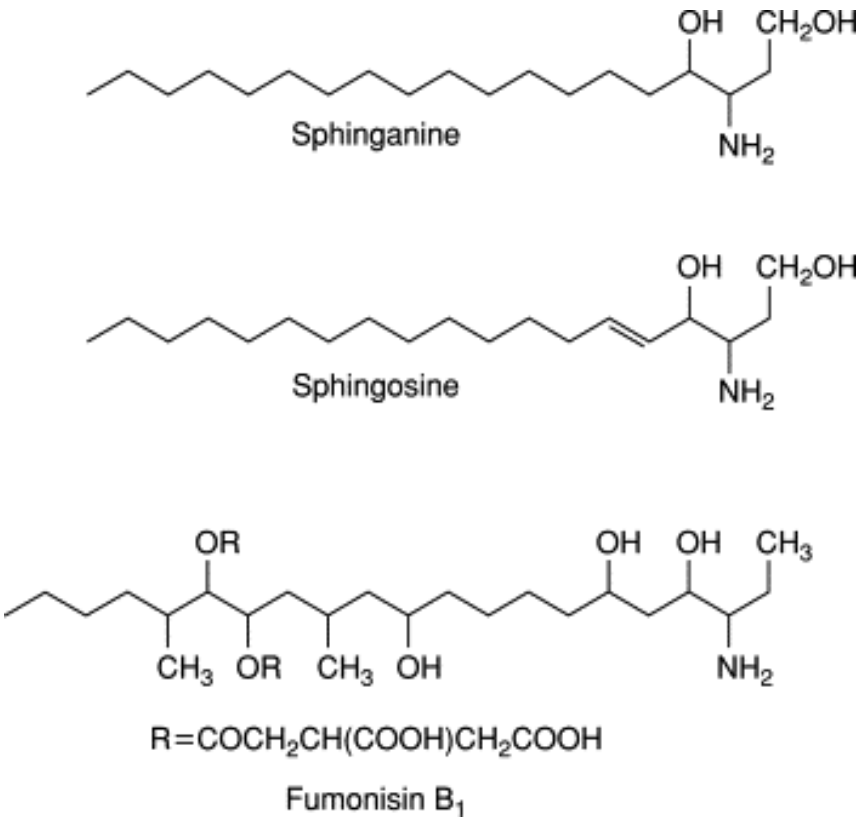


Figura 8. Similitud estructural entre las fumonisina B1 y las bases esfinganina y esfingosina [60]

1.2.3. Toxicidad de las micotoxinas

Niveles elevados en la dieta por micotoxinas pueden causar efectos adversos agudos y crónicos sobre la salud a nivel humano y animal (figura 9) [9]. El riesgo de intoxicación aguda debido a micotoxinas en el hombre es bajo o moderado en

comparación con intoxicaciones de origen microbiológico o químico; sin embargo, en exposiciones crónicas “presenta mayor riesgo toxico que los contaminantes de origen antropogénico, aditivos y plaguicidas, además de ser muy difíciles de reconocer” [5,53].

La micotoxicología es la encargada de estudiar los metabolitos potencialmente tóxicos (micotoxinas) producidos por hongos, las cuales crecen y se desarrollan en un alimento o ingrediente definido, la exposición de estos metabolitos hacia un organismo puede conllevar a generar alteraciones tanto estructurales como funcionales a nivel de células, tejidos órganos o sistemas [77].

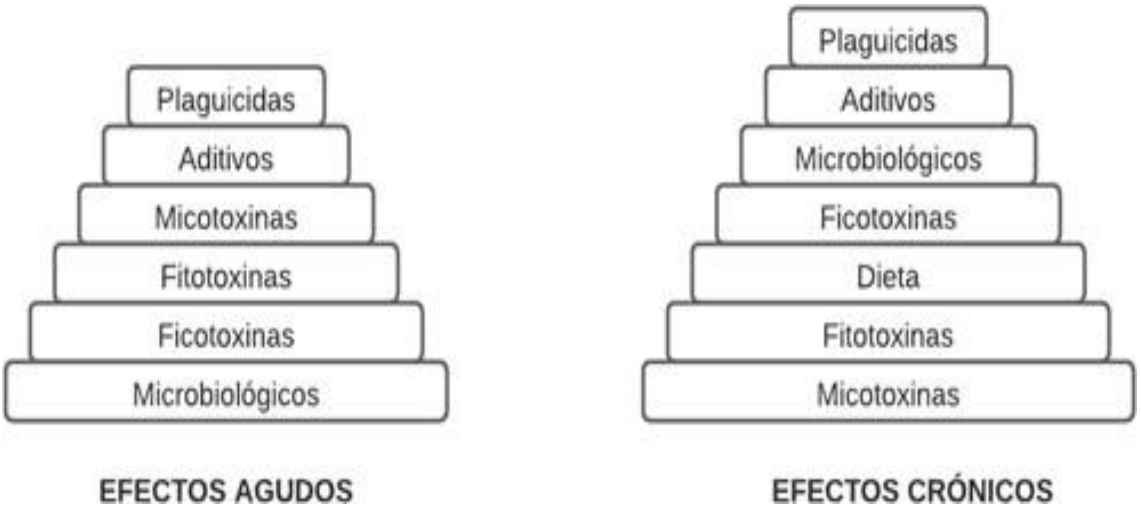


Figura 9. Niveles de riesgo por intoxicación aguda y crónica de las micotoxinas [5]

Los efectos adversos de las micotoxinas pueden afectar a distintos órganos, aparatos o sistemas, especialmente al hígado, riñón, sistema nervioso, endocrino e inmunitario [5]. El consumo de productos contaminados por micotoxinas puede causar envenenamiento conocido como *micotoxicosis*. En Címbalo, Alonso-Garrido, Font y Manyes (2020) redactan principales estudios sobre las micotoxinas evaluando sus relaciones con la inmunotoxicidad (30%), genotoxicidad (19%), estrés oxidativo (18%), hepatotoxicidad (16%), citotoxicidad (7%), teratogenicidad (5%) y neurotoxicidad (5%), mostrando clara evidencia que está fuertemente comprometido de manera significativa con la salud humana y animal (figura 10) [78]. Este impacto no sólo depende de la concentración de una micotoxina individual

presente en el alimento, sino también del efecto aditivo, sinérgico o antagónico con otras micotoxinas coexistentes [2,3,5,77].

Entre las micotoxinas más estudiadas debido a su relación con efectos fisiopatológicos registrados son aflatoxinas, fumonisinas, tricotecenos, Zearalenona, Citrinina, Patulina, Ocratoxina A, Esterigmatocistina, y otros [4,5].

En la tabla 4 se detallan los efectos fisiopatológicos que producen las principales micotoxinas. Estas abarcan un amplio espectro de efectos tóxicos fisiopatológicos, entre los que destacan, los producidos principalmente sobre el sistema inmunitario, ya que disminuye potencialmente las defensas en animales y en el hombre.

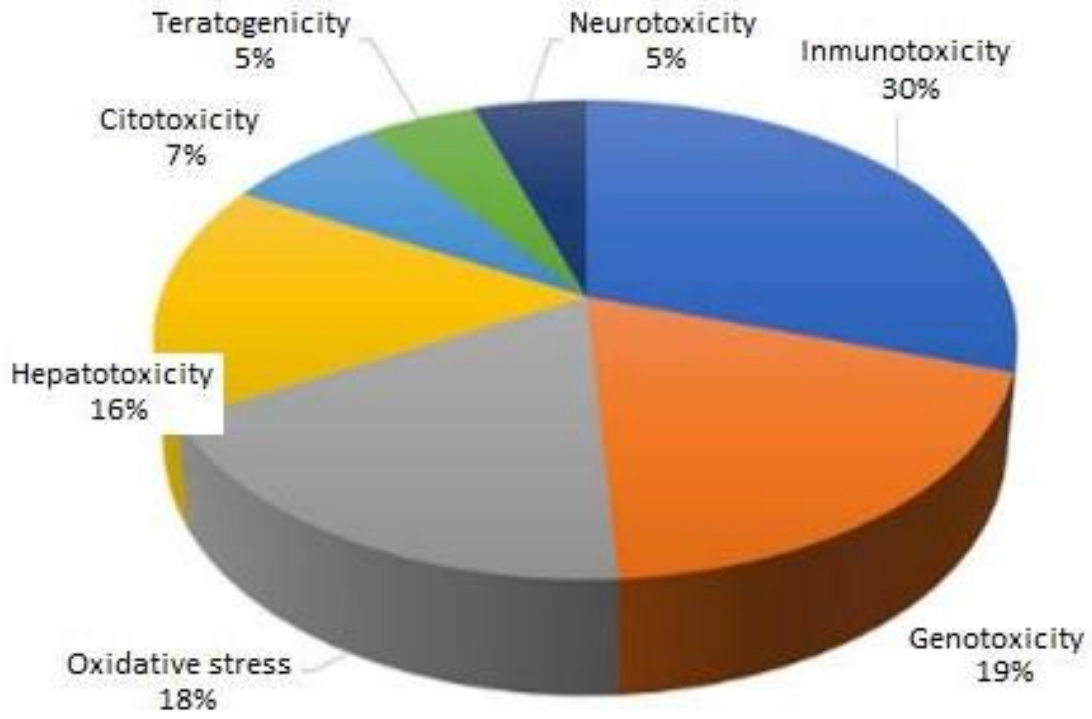


Figura 10. Porcentaje de estudios de toxicidad de las micotoxinas hasta el 2020 [78]

1.2.3.1. Toxicidad por Fumonisinas

Los efectos de la ingestión de fumonisina en animales ya se está documentando con especificaciones, indicando responsabilidad de además causar leucoencefalomalacia en equinos, edema pulmonar en cerdos y nefrotoxicidad, hay evidencia de hepatotoxicidad y mutagenicidad en roedores [79].

Leucoencefalomalacia en equinos (ELEM)

ELEM es una enfermedad que aparece esporádicamente como brote epidémico y se caracteriza por ocasionar un daño importante sobre los tejidos cerebrales, una licuefacción masiva necrosante multifocal de la materia blanca, incluso materia gris, comprometiendo también el cerebelo con manifestaciones neurológicas muy graves. Los síntomas que se manifiestan inicialmente son apatía y disminución en el consumo de alimento, rápidamente siguen varios síntomas neurológicos como ataxia en extremidades posteriores, parálisis facial, movimiento anormal de la cabeza, ceguera unilateral y convulsión. A medida que la disfunción neurológica aumenta, puede llegar hasta la muerte [9,10,12].

Edema pulmonar en porcinos (PPE)

Existen evidencias que sugieren que las fumonisinas causan edema pulmonar (PPE), una apoptosis de los macrófagos alveolares a nivel de la cavidad pleural, todo ello posiblemente inducido por disfunción cardiovascular debido a una insuficiencia cardiaca ventricular izquierda. El edema pulmonar porcino está caracterizado por presentar disnea, cianosis, asociación con necrosis de los hepatocitos e hiperplasia nodular hepática, insuficiencia hepática, postración y eventual muerte del animal [9,10,13,80].

Toxicosis en aves de corral

En pollitos y pavitos se observó necrosis hepática multifocal, hiperplasia biliar, reducción en el peso corporal, anormalidades esqueléticas (arqueo de patas), alteración en parámetros bioquímicos y alta mortalidad; denominándose el síndrome “Spiking Mortality” cuando se añade síntomas como parálisis, extensión de cuello y patas y jadeo [11]. Poersch et al. (2014) ha mostrado una implicación del estrés oxidativo en la toxicidad subaguda inducida por fumonisinas B1 en pollos de engorde [81].

Tabla 4. Principales efectos fisiopatológicos producidos por las micotoxinas de interés toxicológico [5]

Micotoxina	Efectos fisiopatológicos
Aflatoxinas B y G	Daño hepático agudo, cirrosis inducción de tumores, disminución de la eficacia del sistema inmunitario, teratogénesis, excreción por la leche, acumulación en tejidos.
Citrinina	Nefrotóxica. Toxicidad renal en monogástricos (poliuria, proteinuria, creatinuria, glucosuria, enzimuria y aumento de nitrógeno ureico en sangre), temblores corporales, inmunosupresión.
Esterigmatocistina	Hepatotóxica, nefrotóxica, causa alteración pulmonar y diarreas; mutágenas *in vivo*, inductoras de tumores y teratógenas.
Fumonisinas	Neurotóxicos (leucoencefalomalacia), nefrotóxicos, edema pulmonar y cerebral, hepatotóxicos y lesiones cardíacas. Los órganos afectados son: cerebro, pulmón, hígado, riñón y corazón. Excreción en leche.
Ocratoxinas	Nefropatía endémica de los Balcanes, acumulación en riñón, tubulonefritis, hígado y músculo, vómitos, teratogénesis, mutagénesis, embriotóxicas.
Patulina	Trastornos gastrointestinales y neurológicos, temblores corporales, mutágena e inductora de tumores.
Rubratoxina	Gran congestión (con hemorragias) de hígado, riñón, glándulas suprarrenales, pulmón, bazo, tracto gastrointestinal y congestión vascular en los tejidos subcutáneos y hemorragias en víscera abdominal, inmunosupresión
Tricotecenos	Vómitos, taquicardia, diarrea, pérdida de la atención, hemorragias, edemas, necrosis en los tejidos cutáneos, destrucción de tejidos hematopoyéticos, disminución de los glóbulos blancos y plaquetas circulantes, meninges hemorrágicas (cerebro), alteración del sistema nervioso, rechazo del alimento, lesiones necróticas en diferentes partes de la boca, degeneración patológica de las células de la médula ósea, nódulos linfáticos e intestino.
Zearalenona	Síndrome estrogénico, problemas reproductivos, excreción por leche junto a sus derivados α y β zearalenol.

Toxicosis humana

Una alta incidencia de cáncer de esófago ocurrido en la población de Transkey (Sudáfrica), China, Brasil, Italia e Irán indicados en la figura 11 señalados con círculo rojo que, además del cáncer de hígado, están relacionados al consumo de fumonisinas, siendo el maíz como consumo habitual.

El análisis micológico ha revelado una alta incidencia de *F. verticillioides* en esta especie amilácea, especulándose que sus fumonisinas podrían ser, al menos en parte, los responsables de la enfermedad (tabla 5) [10,53,59].

También hay cierto grado de incidencia de defectos en el tubo neural (NTD) registrados también en Transkey (Sudáfrica), regiones al norte de China, sur de Texas (EEUU) y México, norte de Italia, sur de Brasil e Irán (figura 11). Se explica que estos metabolitos tóxicos interfieren con el receptor de folato, afectando los tubos neurales; manifestándose en el retraso del crecimiento en general [10].

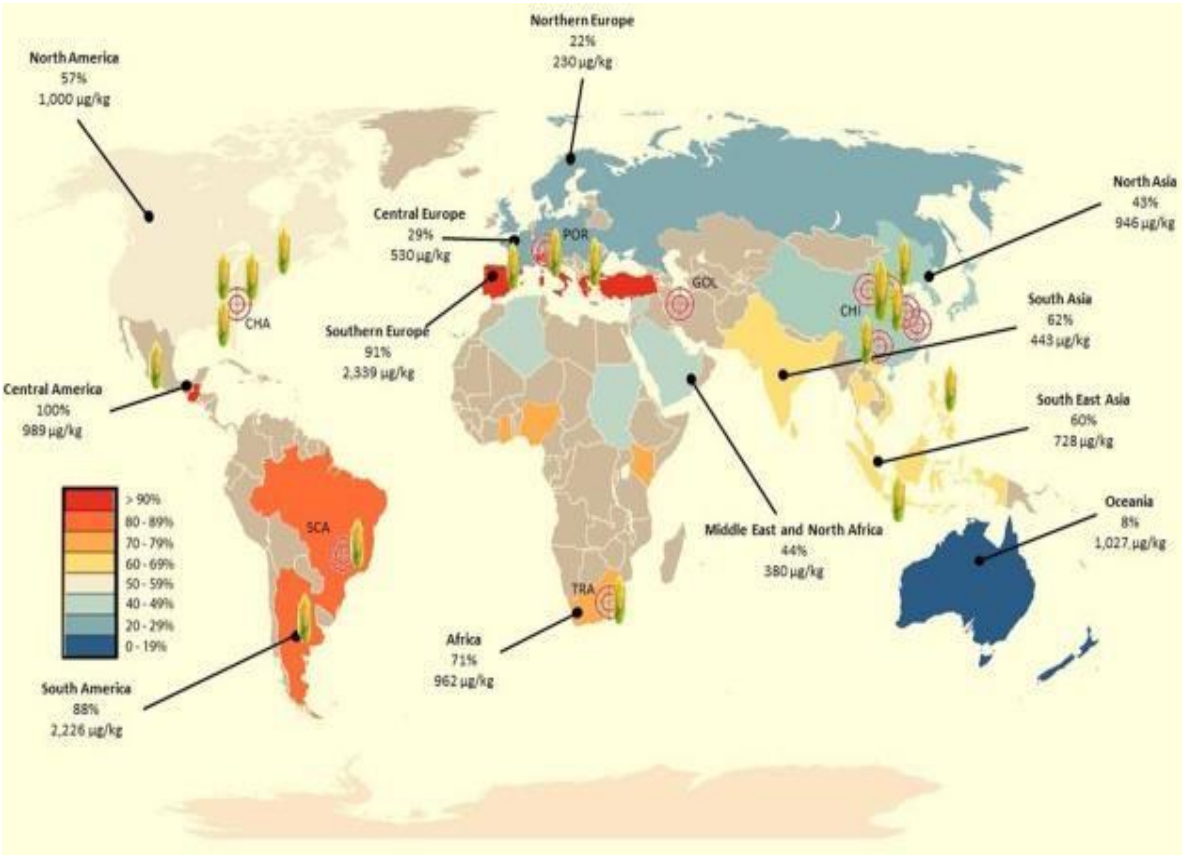


Figura 11. Ocurrencia de fumonisinas en el mundo, donde los círculos en rojo indican casos de cáncer esofágico y cáncer de hígado relacionados a la exposición de fumonisinas [60]

Tabla 5. Patologías humanas asociadas al consumo de alimentos contaminados con fumonisinas [9]

País	Zona/región/provincia	Incidencia[a]	Alimento implicado	Micotoxinas detectadas	Otros factores detectados
Cáncer de esófago:					
Sudáfrica	Región de Transkei	37-56	Maíz	Fumonisina B_1 Nivalenol DON[b] Zearalenona Aflatoxina B_1 Moniliformina	Deficiencias en folato, selenio y vitaminas A, E y B_{12}
China	Provincia de Linxian y Cixian	108-135	Maíz	Fumonisina B_1 Aflatoxina B_1 Nivalenol DON Zearalenona	Deficiencias en molibdeno, manganeso, zinc y vitaminas A y C Alcohol Nitrosaminas
Irán	Provincia de Mazandarán	206-262	Maíz	Fumonisina B_1 Aflatoxina B_1	Deficiencias en hierro, manganeso, cobre, zinc, vitaminas A, C y riboflavina Nitrosaminas HAP[c]
Italia	Provincia de Pordenona	17	Polenta	Fumonisina B_1 Fumonisina B_2	Deficiencias en riboflavina y niacina Alcohol
Kenia	Oeste y Central	45% de los casos	Maíz	Fumonisina B_1	Alcohol
Zimbabwe		30-59	Cereales de desayuno	Fumonisina B_1 Fumonisina B_2	
EEUU	Carolina del Sur	170	Derivados del maíz	Fumonisina B_1 Fumonisina B_2	Tabaco Alcohol
Brasil	Región de Santa Catarina, Paraná y Río Grande do Sul	18	Maíz	Fumonisina B_1 Fumonisina B_2	Tabaco Alcohol
Cáncer de hígado:					
China	Comarca de Jiangsu	52-65	Maíz	Fumonisina B_1 Aflatoxina B_1 DON	Microcistinas
Sudáfrica	Región de Transkei	3-13	Maíz	Fumonisina B_1 Aflatoxina B_1 DON Zearalenona Moniliformina	Deficiencias nutricionales
Defectos neuronales:					
EEUU	Texas	2,7	Derivados de maíz	-[d]	
China	Hebei y Shanxi	6	Maíz	Fumonisina B_1	Deficiencias nutricionales
Sudáfrica	Transkei y Mpumulanga	0,36-0,38	Maíz	Fumonisina B_1	Deficiencias nutricionales
Intoxicación aguda:					
India	Deccan Plateau	Habitantes de 27 aldeas	Maíz y sorgo	Fumonisina B_1 Aflatoxina B_1	Bajo consumo de arroz

[a] N° de casos/100.000
[b] DON=Deoxinivalenol
[c] HAP=Hidrocarburos aromáticos policíclicos
[d] Está implicado durante los años 1929-1949 donde no había sido descubierto la fumonisina, pero sí se detectó la presencia de hongos productores de fumonisinas

1.2.3.2. Clasificación según la IARC

La Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer (*International Agency for research on Cancer*, IARC),con respecto a la toxicidad crónica, clasifica muchas micotoxinas como carcinógenos o parcialmente carcinógenos para el ser humano, señalando los grupos siguientes: [5]:

- Grupo 1: “el agente es carcinógeno en humanos”.
- Grupo 2A: “el agente probablemente es carcinógeno en humanos; existe limitada evidencia sobre humanos, pero suficiente con animales”.
- Grupo 2B: “el agente es posiblemente carcinógeno; la evidencia en humanos es limitada y tampoco hay suficiente evidencia con animales en experimentación”.
- Grupo 3: “el agente no es clasificable como carcinógeno para humanos, y no puede incluirse en otro grupo”.
- Grupo 4: “el agente probablemente no es carcinógeno en humanos; evidencia en humanos y experimentación en animales sugiere la premisa”.

La IARC ha declarado a las fumonisinas (Fumonisina B1 y Fumonisina B2) como posibles carcinógenos en humanos (Grupo 2B, tabla 6) [5,82]

Tabla 6. Evaluaciones de la IARC sobre el peligro carcinogénico algunas micotoxinas [82]

Micotoxinas	IARC
Aflatoxinas B1	1
Aflatoxinas M1	1
Citrinina	3
Esterigmatocistina	2B
Fumonisina B1	2B
Fumonisina B2	2B
Ocratoxina A	2B
Fusarin C	2B
Patulina	3
Nivalenol	3
Toxina T-2	3
Zearalenona	3
Deoxinivalenol	3
Citrinina	3
Fusarenona X	3
Ácido penicílico	3

1.2.4. Factores que afectan al desarrollo fúngico y producción de micotoxinas

1.2.4.1. Temperatura

Los hongos filamentosos (también llamados mohos), pueden desarrollarse en amplios intervalos de temperatura. La mayoría de hongos de precosecha crecen sin dificultad entre 0 y 30º C, a diferencia de las de almacén cuyo rango esta entre 10 y 40º C (figura 12). Un descenso en la temperatura genera ralentización metabólica, y es una de las medidas que se emplea para frenar el deterioro de los alimentos.

En cuanto a *F. verticillioides* y *F. proliferatum* crecen entre 4 y 37ºC con un óptimo aproximado alrededor de 30º; las temperaturas optimas de crecimiento para las especies del género *Fusarium* oscilan entre 22 y 28ºC aproximadamente. Para la producción óptima de fumonisinas se daba entre 10º y 30ºC, ajustando los valores para *F. proliferatum* alrededor de 15ºC, mientras que para *F. verticillioides* entre 20 y 30ºC (figura 13) [49].

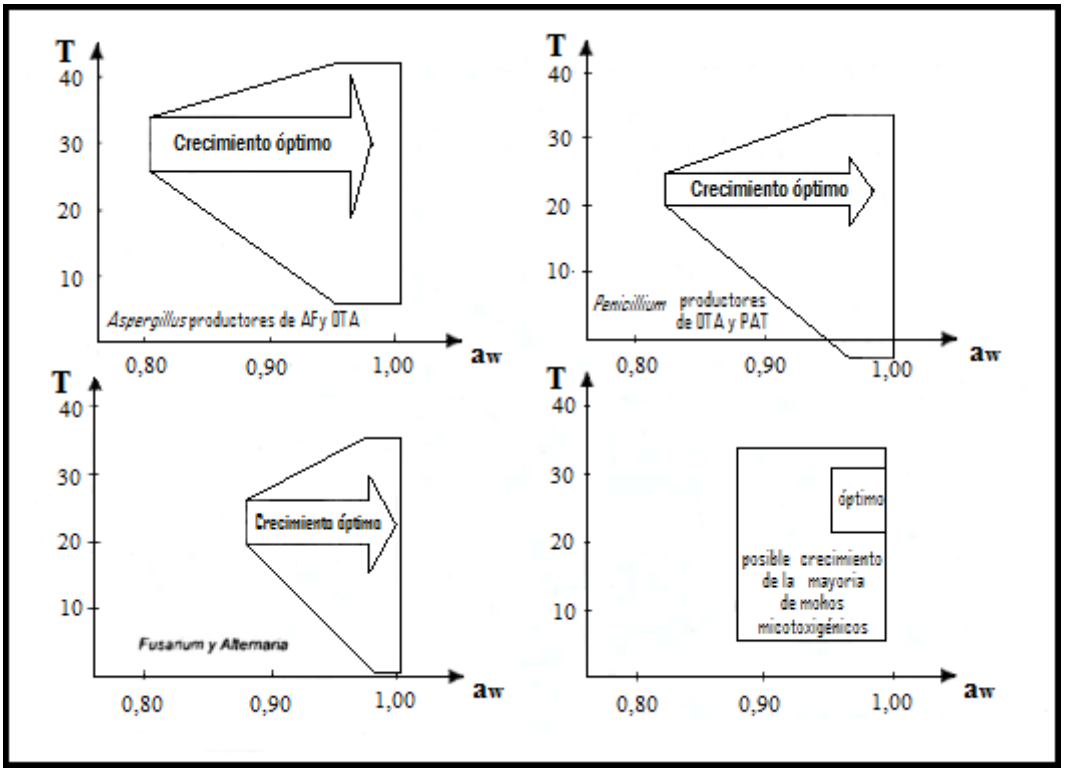


Figura 12. El factor temperatura (T) y actividad de agua (a_w) y su influencia sobre el crecimiento de mohos toxigénicos [49]

1.2.4.2. Actividad de agua

"La actividad de agua (a_w) junto con la temperatura, son los factores más determinantes del desarrollo de colonias fúngicas" y su conocimiento es de suma importancia para entender la ecología de manera individual y las interacciones entre ellas. La a_w indica el concepto de "agua disponible" el cual los microorganismos pueden utilizarla para su desarrollo. "Los requerimientos mínimos de a_w de mohos micotoxigénicos para sintetizar micotoxinas son más altos que las necesarias para su crecimiento, que a su vez son más altas que las que necesita para la germinación de esporas" [49]

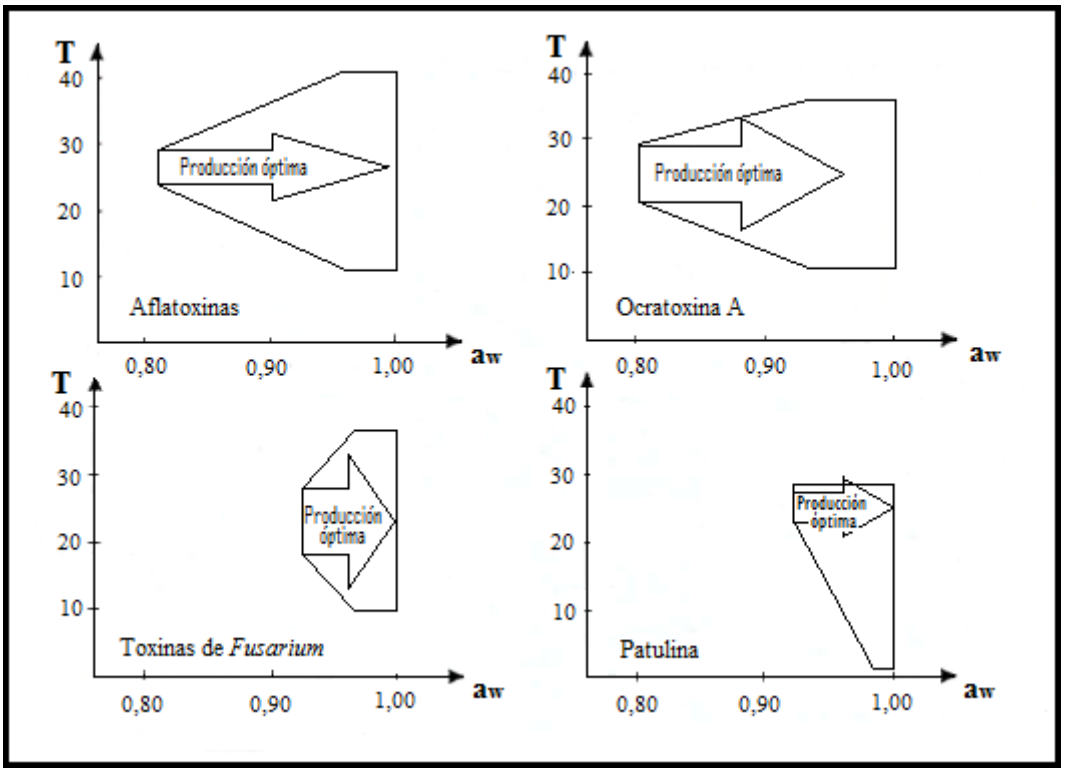


Figura 13. El factor temperatura (T) y actividad de agua (aw) y su influencia sobre la producción de micotoxinas (49)

Especies de *Fusarium*, como *F. verticillioides* y *F. proliferatum* "crecen a partir del valor de 0.9 a_w, a velocidades crecientes conforme aumenta la a_w, aquello es reproducible a cualquier nivel de temperatura" (figura 14) [49]

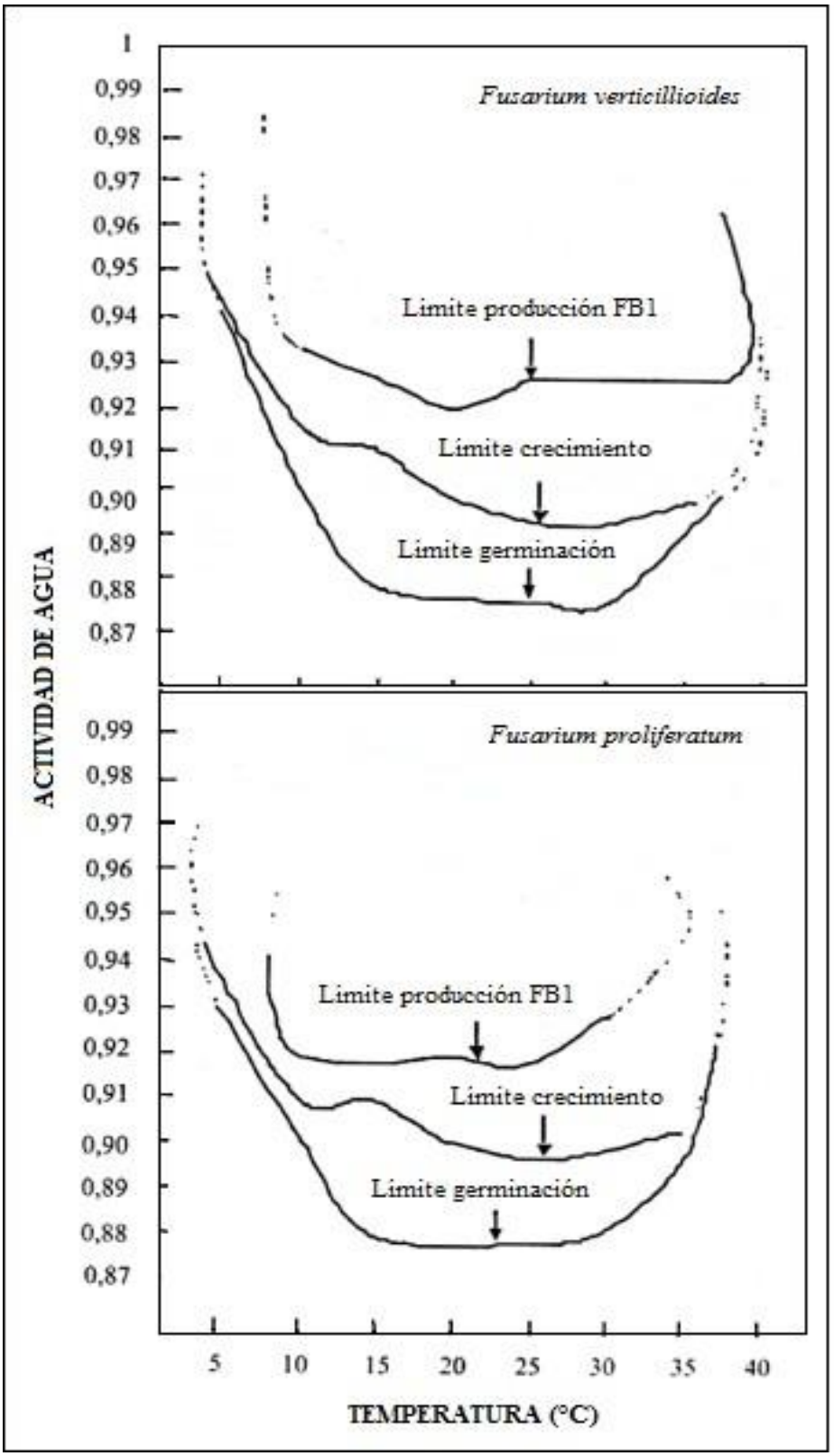


Figura 14. Factores de temperatura (T) y actividad de agua (a_w) y su influencia sobre el desarrollo, crecimiento y producción de fumonisinas de *F. verticillioides* y *F. proliferatum* [49]

1.2.4.3. Concentración de iones hidrogeno (pH)

La mayoría de hongos crecen en el rango de pH entre 3 y 8 aproximadamente, con un óptimo cercano a 5. No es tan influyente como lo es la a_w y la temperatura, pero una variación de pH en un sustrato puede alterar la respuesta fúngica al resto de factores. "Las especies de *Aspergillus* y *Fusarium* son poco tolerantes a pH acido (2-3), excepto *F. graminearum*, quien puede crecer a un pH de 2.1 a 30º C" [49].

1.2.4.4. Sustrato

"Uno de los factores muy influyentes sobre la producción de micotoxinas por parte de cepas toxigénicas es el sustrato sobre el que estos mohos se desarrollan". Estudios referidos a la producción de micotoxinas han elaborado medios que se aproximan a un sustrato ideal para su síntesis; sin embargo, se ha registrado que, "para una cepa fúngica específica, la capacidad de producir micotoxinas y la cantidad sintetizada es dependiente del sustrato sobre el cual se desarrolla el moho". Para especies de *Fusarium* productoras de fumonisinas, *F. verticillioides* y *F. proliferatum*, confirman que "el maíz es el cultivo sobre el cual se produce una alta cantidad de esta micotoxina en comparación a otros cereales como el trigo o la cebada, aunque presenta una mayor tasa de crecimiento en estos sustratos" [49].

1.2.4.5. Interacciones microbianas

Es habitual que sobre un mismo sustrato exista una población heterogénea de microorganismos; hongos y bacterias que interactúan entre ellas constantemente. Se han descrito una serie de posibles relaciones entre las especies fúngicas involucradas: "neutralismo" (ninguno de los dos micoorganismos se beneficia), "comensalismo" (cuando uno de ellos se beneficia), "mutualismo" (los dos microorganismos se benefician), "amensalismo" (un microorganismo se perjudica, y el otro no se ve beneficiado), y "competición" (los dos microorganismos sufriran dependencia por el mismo sustrato). En el maíz, la interacción de *F. verticillioides* y *F. proliferatum*, usando cepas productoras de fumonisinas, frente a *A. parasiticus* (productor de aflatoxina B1) se observa que "*A. parasiticus* es capaz de reducir la población de las dos especies del género *Fusarium* sin afectar la síntesis de fumonisinas, sin embargo, las especies de *Fusarium* pueden disminuir la síntesis de aflatoxina B1 de *A. parasiticus"* [49].

1.2.5. Análisis de micotoxinas en alimentos

Los métodos normalizados de análisis para diferenciar micotoxinas, validados por estudios interlaboratorios, "han sido recomendados por parte de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (*Association of Official Analytical Chemist*, AOAC) y el Comité Europeo de Normalización (*European Commitee for Standardization*)", contando la AOAC con 40 métodos validados para análisis de micotoxinas pertenecientes a diferentes familias químicas, mientras que el Comité Europeo de Normalización cuenta con una publicación de un documento que contiene criterios muy específicos para varios métodos de análisis de micotoxinas. Tener en cuenta que el análisis de micotoxinas requiere un altísimo grado de exactitud, precisión y reproducción de manera consecutiva en cada ejecución experimental. Las técnicas analíticas empleadas en el análisis de micotoxinas son [83]:

- Extracción y purificación
- Técnicas de presunción o screening
- Técnicas de confirmación

1.2.5.1. Extracción y purificación

La muestra tomada de la materia prima necesita ser sometida a un proceso de extracción y purificación ya que la distribución de las micotoxinas en alimentos no es uniforme y requiere de un proceso de homogeneización. La alta complejidad de componentes presentes en los alimentos como proteínas, lípidos, carbohidratos, agua, minerales, y otros componentes minoritarios, de carácter nutricional o no, requiere, en regulares ocasiones, una purificación para eliminar toda clase de sustancia capaz de generar interferencia [83].

Con respecto a la extracción se utilizan dos técnicas dependiendo la naturaleza (matriz) de la muestra: sólido y líquido; de matriz líquida (técnica líquido- líquido) ya no es de elección debido a presentar muchos inconvenientes como [83]:

- Necesidad de altos volúmenes de muestra y disolventes
- Disminuida selectividad
- Insuficiente recuperación
- Dificultad de automatización

Por todo lo anteriormente mencionado, es de elección la técnica de extracción cuando la matriz es sólida, contando con una lista amplia de disolventes (metanol, acetona, acetato de nitrilo, acetonitrilo, diclorometano y hexano); la selección de estos disolventes se ajusta por los siguientes factores [83]:

- Polaridad de la micotoxina (enfoque químico)
- Naturaleza de la micotoxina (enfoque físico, fisicoquímico)

Para optimizar el rendimiento de la extracción de micotoxinas, se añade sales específicas y además se realiza un ajuste de pH. Luego de la extracción habitual con disolventes es importante ejecutar una etapa de purificación o limpieza (clean-up) las cuales nos permiten obtener cromatogramas mucho más limpios. Las técnicas de extracción y limpieza utilizadas para el análisis de micotoxinas son las siguientes [83]:

- Extracción en fase solida:
    - Extracción en fase sólida (*Solid Phase Extraction*, SPE) convencional.
    - Extracción con columnas Mycosep®.
    - Dispersión de matriz en fase sólida (*Matriz Solid Phase Dispersion*, MSPD).
    - Microextracción en fase sólida (*Solid Phase MicroExtraction*, SPME).
- Extracción con columnas de intercambio iónico (*Ion Exchange Column*).
- Extracción con columnas de inmunoafinidad (*InmunoAffinity Column*, IAC).
- Extracción por fluidos supercríticos (*Supercritical Fluid Extraction*).
- Extracción asistida por microondas (*Micro-Wave Assisted Extraction*).
- Extracción acelerada por disolventes (*Accelerated Solvent Extraction*).

1.2.5.2. Técnicas de exploración rápida o screening

La finalidad de estas técnicas es la de descartar rápidamente las muestras negativas y con ello reducir el número de muestras analizadas. Entre las técnicas más empleadas para el análisis de micotoxinas son las técnicas de inmunoensayos y los biosensores [83].

1.2.5.2.1. Inmunoensayos

Son un conjunto de técnicas inmunoquímicas lo cual utiliza como reactivo los anticuerpos para poder determinar de manera específica ciertas moléculas

denominadas antígenos [83]. Por importancia y frecuencia de uso se consideran para micotoxinas las técnicas Enzimoinmunoensayo (*Enzyme Linked Inmunosorbent Assay*: ELISA) y Radioinmunoensayo (*Radio Inmuno Assay*: RIA) [83,85].

1.- Radioinmunoensayo (*Radio Inmuno Assay*: RIA)

En esta técnica consiste en "añadir al medio de reacción un anticuerpo específico y una cantidad conocida de la micotoxina marcada con isotopo radiactivo (^{3}H, ^{14}C o ^{125}I)"; incubándose con la muestra problema. Tras un lavado del medio, "se mide la radioactividad emitida por la muestra con un contador de centelleo, siendo la medida inversamente proporcional a la concentración de la micotoxina en la muestra problema". La concentración de la micotoxina se determina comparando los resultados con un estándar [83].

2.- Enzimoinmunoensayo (Enzyme Linked Inmunosorbent Assay: ELISA)

ELISA es una técnica basada en la reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac); lo cual consiste en "la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida (soporte sólido) mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto puede ser medido espectrofotométricamente" [84].

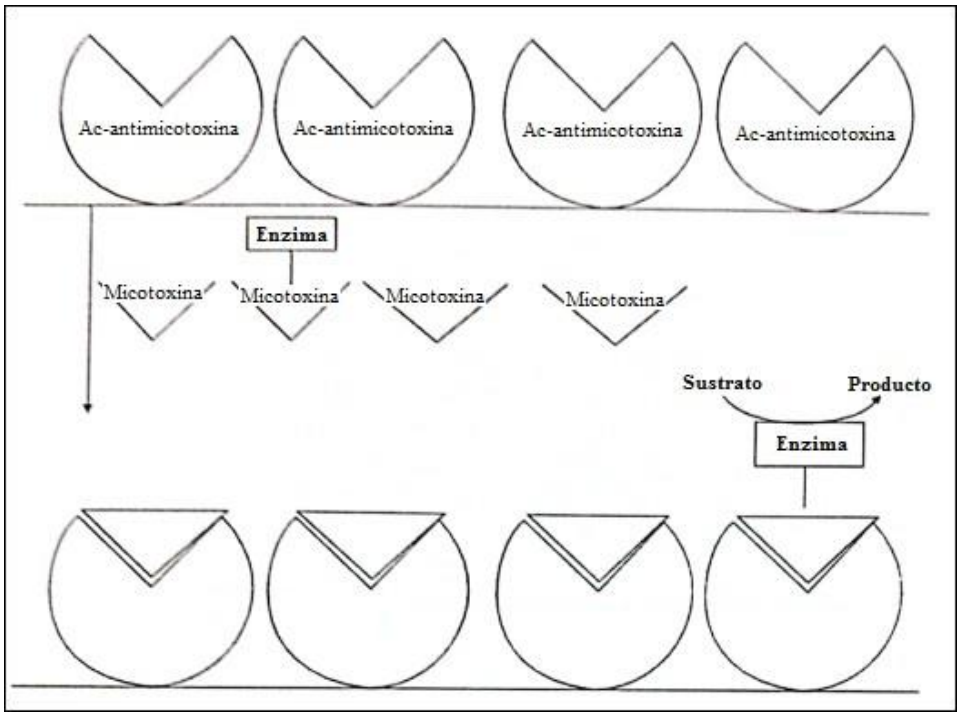


Figura 15. ELISA competitivo directo [83]

Los diferentes tipos de ELISA son [86]:

- ELISA directo
- ELISA indirecto
- ELISA Sándwich
- ELISA Competitivo
    - ELISA Competitivo directo (CD)
    - ELISA Competitivo indirecto (CI)

De aquellos tipos de ELISA, son empleadas en el mercado los ELISA competitivos directos e indirectos (figura 15) (figura 16) [83]

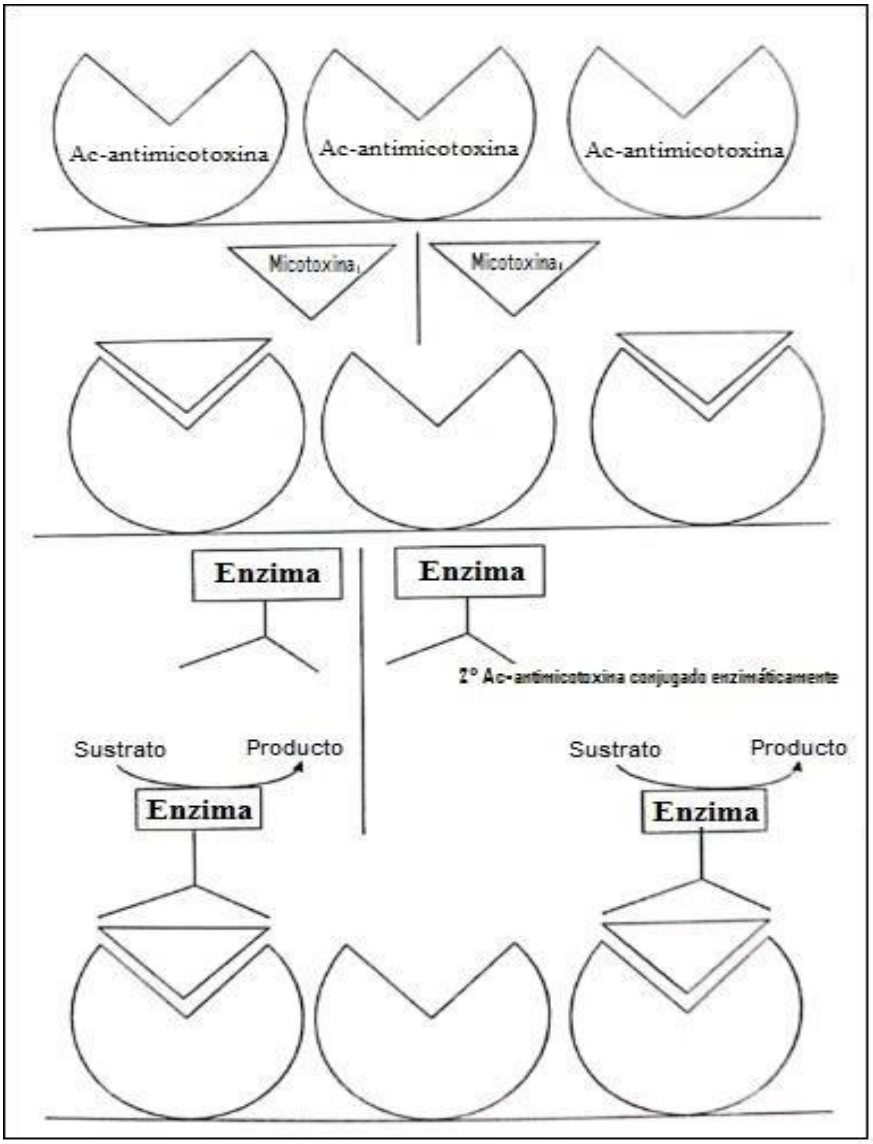


Figura 16. ELISA competitivo indirecto [83]

1.2.5.2.2. Biosensores

Son dispositivos analíticos constituidos por un elemento biológico de reconocimiento (un anticuerpo) que se asocia a un mecanismo de detección e interpretación (sistema de transducción) de la señal obtenida entre la micotoxina y el dispositivo analítico [83,87]. Poseen capacidad de análisis rápida, reproducible y precisa [88].

1.2.5.3. Técnicas de confirmación

Entre las técnicas de confirmación empleadas para la determinación de micotoxinas tenemos [83]:

- Cromatografía en capa fina (CCF) (*Thin-Layer Chromatography*: TLC) y cromatografía en capa fina de alta resolución (*High-Performance Thin Layer Chromatography*, HPTLC)
- Electroforesis capilar (*Capillary Electrophoresis*, CE)
- Cromatografía gaseosa (CG) (*Gas Chromatography*, GC)
- Cromatografía liquida (CL) (*Liquid Chromatography*: LC)

Los métodos actuales generalmente incluyen un paso de extracción, un paso de limpieza para reducir o eliminar componentes de la matriz coextraídos no deseados y un paso de separación con capacidad de detección específica adecuada. Los métodos cuantitativos de análisis para la mayoría de las micotoxinas utilizan limpieza por inmunoafinidad con separación por cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) en combinación con detección de fluorescencia y/o UV [89].

El cribado de muestras contaminadas con micotoxinas se realiza con frecuencia mediante cromatografía en capa fina (TLC), que produce resultados cualitativos o semicuantitativos. Hoy en día, los ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) se utilizan a menudo para la detección rápida. Varios métodos prometedores, como inmunoensayos de polarización de fluorescencia, tiras reactivas e incluso métodos más nuevos, como los biosensores y técnicas no invasivas basadas en espectroscopía infrarroja, han mostrado un gran potencial para el análisis de micotoxinas.

Actualmente, existe una fuerte tendencia hacia el uso de métodos de múltiples micotoxinas para el análisis simultáneo de varias de las micotoxinas importantes de *Fusarium*, que se logra mejor mediante LC-MS / MS (cromatografía líquida con espectrometría de masas) [90-93].

1.2.6. Aspectos Legislativos

1.2.6.1. Reglamentos para las micotoxinas

El descubrimiento de las aflatoxinas a inicios de los años 60, impulso a los gobiernos a crear leyes lo cual señala específicamente los límites máximos de contaminación de una cierta micotoxina en un alimento o ración. Hasta finales del 2003, alrededor de 100 países ya contaban con límites específicos para cada tipo de micotoxina, y para establecer aquellos parámetros reglamentarios influenciaron ciertos factores las cuales se describen a continuación [94,95]:

- Evaluación de riesgo
- Distribución de la micotoxina en el producto y procedimientos de muestreo
- Disponibilidad de métodos analíticos
- Política económica y disponibilidad de alimentos

1.2.6.2. Legislación sobre los niveles máximos de fumonisinas

Hasta 1995 las fumonisinas estaban reglamentadas solo en un país. Hasta el 2003 son seis los países que reglamentan el maíz con valores límites permitidos de 1000 µg/kg, 2000 µg/kg y 3000 µg/kg [95]. También se toma en consideración lo establecido por el Codex Alimentarius en la Norma General para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos CXS 193-1995, adoptada en 1995, revisada hasta el 2009 y enmendada hasta el 2019, donde señala que para maíz en grano crudo indica un límite máximo de 4000 µg/kg de fumonisinas [96].

1.2.6.3. Legislación sobre métodos de toma de muestra y análisis

La directiva 2005/38/CE para las toxinas de *Fusarium* detalla “los métodos de toma de muestra para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticos”, incluye también conceptos de “lote, sublote, muestra elemental, muestra global, muestra de laboratorio y muestra idéntica”; incluye el correcto acondicionamiento y envío de las muestras de laboratorio, cierre y etiquetado de ellas. Establece también el correcto muestreo y número de muestras elementales en función al peso del lote, detallado en la legislación de cada tipo de alimento; como también las condiciones para decidir en “la aceptación o rechazo de un lote o sublote” [94,97].

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. HIPÓTESIS

- Existe cierta concentración de fumonisinas en los granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada

3.2. VARIABLES

- Concentración de fumonisinas en granos y corontas de *Zea mays* L., variedad morada

3.3. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla 7. Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Concentración de fumonisinas en granos y corontas de *Zea mays* L., variedad morada	Cuantificación de toxina fúngica proveniente de algunas especies de *Fusarium* y *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* presentes en las mazorcas (granos y corontas) del maíz (*Zea mays* L) variedad morada	Cuantificación de toxina fúngica proveniente de algunas especies de *Fusarium* y *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* presentes en el maíz (*Zea mays* L) variedad morada Mazorcas (granos y corontas) recolectadas mercados minoristas y mayoristas de la provincia de Lima, mediante la técnica ELISA competitivo directo (CD)	Granos de *Zea mays* L. variedad morada	Valores de fumonisinas en granos	0,37 ppm – 8,8 ppm
			Coronta de *Zea mays* L. variedad morada	Valores de fumonisinas en coronta	0,16 ppm – 6,27 ppm

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1. MATERIALES DE LABORATORIO

- Bolsas de plástico con cierre hermético
- Marcador a prueba de agua
- Papel aluminio
- Papel de toalla o material absorbente equivalente
- Papel whatman n° 1
- Piseta o frasco lavador
- Puntas de pipeta de 100 µL
- "Kit" Veratox Fumonisinas, el cual incluye los siguientes materiales:
    - 30 frascos rosados diluyentes de la muestra
    - 48 micropocillos recubiertos con anticuerpos
    - 48 pocillos de mezclado marcados con rojo
    - 5 frascos etiquetado amarillo de 0; 1; 2; 4 y 6 ppm de fumonisinas
    - 1 frasco etiquetado azul de solución de conjugado de fumonisina
    - 1 frasco etiquetado verde de solución de sustrato K-blue.
    - 1 frasco etiquetado roja de solución Red Stop

4.2. EQUIPOS

- Balanza analítica electrónica Sartorius TE214S (Cap. Máxima 210 g; Limite de detección 0.1mg).
- Cronómetro digital
- Espectrofotómetro LECTOR BIOTEK EL-301 Densidad Óptica (OD 650) para análisis de fumonisinas.
- Molino marca "CENCO"
- Molino marca "Thomas Wiley"
- PC con la instalación del programa Neogen para análisis de fumonisinas
- Refrigeradora

4.3. REACTIVOS Y SOLVENTES

- Agua destilada o desionizada
- Metanol grado ACS

4.4. ÁREA DE ESTUDIO

El presente proyecto de investigación se ha llevado a cabo en el laboratorio del Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación en Bacteriología Alimentaria (CLEIBA) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM y en el laboratorio de Bioquímica y Nutrición Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM durante el período de enero y abril del 2014.

4.5. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente estudio corresponde a tipo de investigación aplicada siendo el diseño no experimental (observacional).

4.6. POBLACION Y MUESTRA

Las muestras vegetales de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada fueron recolectadas de mercados minoristas y mayoristas de la provincia de Lima (figura 19)[98] en presentación de mazorcas (grano y tusa "coronta") de un total de 20 muestras de mercados escogidas de manera aleatoria; cada muestra recolectada fue de 1.3 ± 0.1 kg entre los meses de diciembre del 2013 y enero del 2014. Todas las muestras recolectadas se guardaron inmediatamente en bolsas de papel transportándolas bajo cadena de frio (4-8°C)



Figura 17. Provincia de Lima donde se recolectaron las 20 muestras de mercados de manera aleatoria [98]

Para cada muestra conformadas por mazorcas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada, se le ha otorgado un código para fines prácticos mostrados en la tabla 8 a continuación:

Tabla 8. Detalles de las muestras recolectadas de la provincia de Lima

CÓDIGO	MERCADO MAYORISTA/MINORISTA	DISTRITO
I3333	Gran mercado mayorista Conzac	Los Olivos
I3334	Gran mercado mayorista Lima	Santa Anita
I3335	Minimercado Olimpo	La Molina
I3336	Centro comercial Covida	Los Olivos
I3337	Mercado saludable La Molina	La Molina
I3338	Feria parque el Reducto	Miraflores
I3339	Feria parque el Reducto	Miraflores
I3340	Mercado Santa Rosa	Los Olivos
I3341	Metro La molina	La Molina
I3342	Feria Parque el Reducto	Miraflores
I3343	Metro Plaza Castilla	Cercado de Lima
I3344	Mercado el Ermitaño	Independencia
I3345	Centro comercial FEVACEL	Independencia
I3346	Centro comercial Caquetá	San Martin de Porres
I3347	Metro Plaza Norte	Independencia
I3348	Mercado Chacarilla de Otero	San Juan de Lurigancho
I3349	Mercado Municipal Manco Cápac	La Victoria
I3350	Metro Barranco	Barranco
I3351	Mercado N.º 1 Surquillo	Surquillo
I3352	Metro San Juan Lurigancho	San Juan de Lurigancho

4.7. PROCEDIMIENTOS

En la figura 18 se presenta la metodología general:

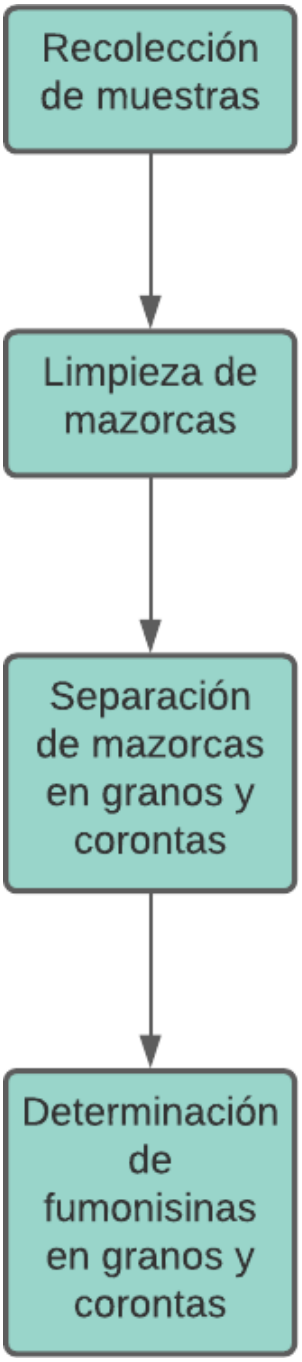


Figura 18. Metodología general (Elaboración propia)

4.7.1. Determinación de fumonisinas

Para la preparación de la muestra y determinación de fumonisinas, se cumple el procedimiento de acuerdo a la AOAC (2005) [99], la cual consiste en el ensayo inmunoenzimático competitivo directo (CD-ELISA)

4.7.1.1. Fundamentos de la técnica

La fumonisina libre presente tanto en las muestras como en controles, compiten con la fumonisina marcada enzimáticamente (conjugado) por los lugares de unión de los anticuerpos. Después del lavado, se le agrega el sustrato, el cual reacciona con el conjugado unido para producir el color azul. Una mayor cantidad de color azul tendrá como interpretación menos fumonisina. Las densidades ópticas de los controles forman la curva estándar y las densidades ópticas de las muestras se contrastan con esta curva para calcular la concentración exacta de fumonisina.

4.7.1.2. Preparación y extracción de la muestra

1. Preparar la solución de metanol al 70% mezclando 7 partes de metanol de grado ACS con 3 partes de agua destilada.
2. Obtener una muestra representativa tanto de granos como de coronta por separado, luego triturar la muestra en los molinos de la facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM, inicialmente en el molino presente en el laboratorio de Farmacognosia (marca Thomas Wiley) y luego en el molino presente en el laboratorio de Farmacotecnia (marca CENCO), hasta que la muestra pasara a través de un tamiz de malla 20.
3. Agregar 5 gramos de la muestra molida a 25 mL de metanol al 70% y agitar vigorosamente durante 3 minutos.
4. Filtrar el extracto vertiendo aproximadamente 10 mL a través del papel de filtro Whatman n° 1, recolectándose el filtrado como la muestra a emplear.
5. Agregar 100 µL de la muestra en extracto en un frasco con la etiqueta rosada (Buffer de dilución), mezclar correctamente agitándolo en forma circular.
6. Repetir el procedimiento para cada muestra tanto para los extractos de grano como de coronta.

En la figura 19 se presenta la preparación y extracción de la muestra:

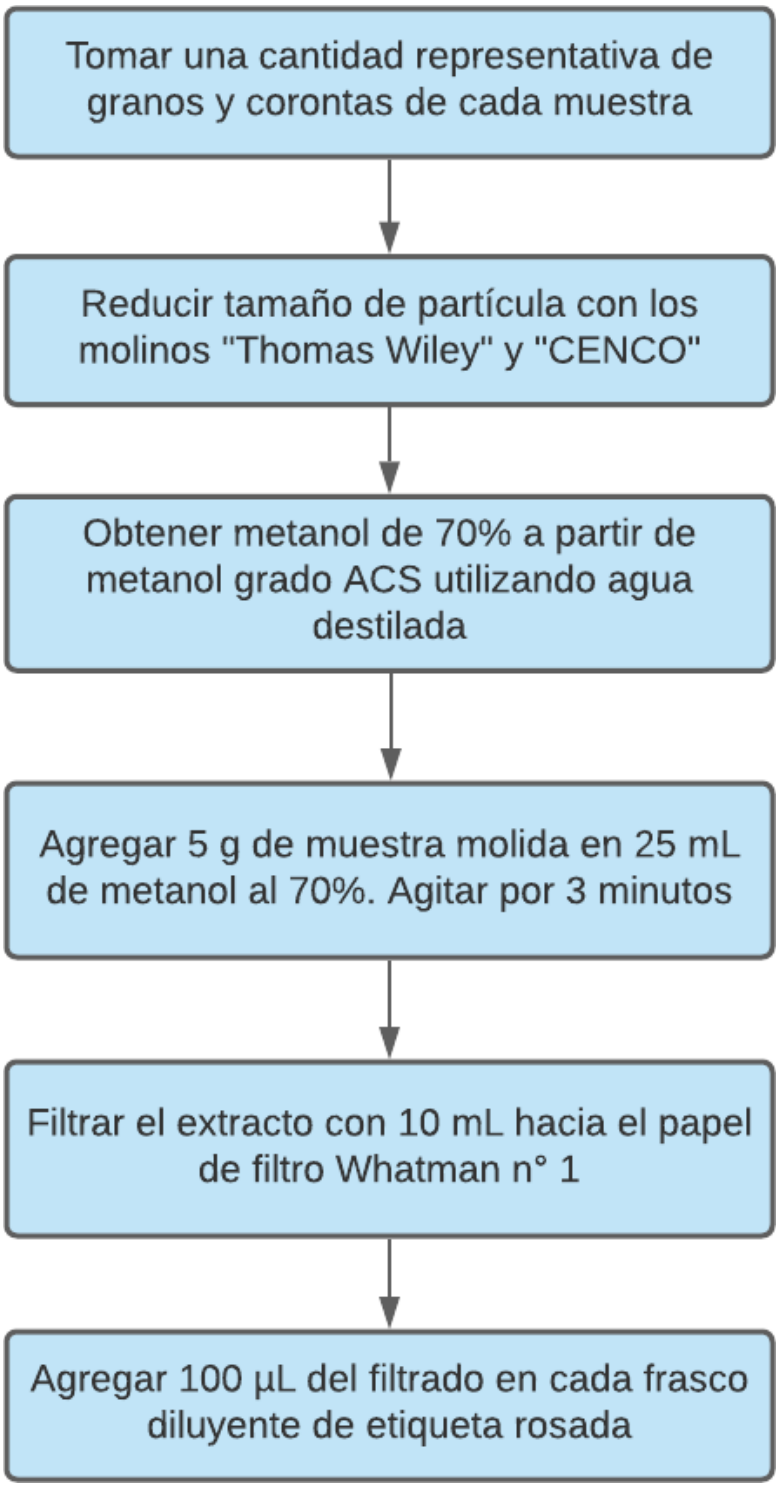


Figura 19. Preparación y extracción de la muestra (Elaboración propia)

4.7.1.3. Procedimiento de prueba

1. Ubicar los pocillos de mezclado con la marca roja para cada muestra que se va a examinar y otros 5 de marca roja para controles.
2. Usar pocillos con anticuerpos en igual número (lo que no se usa, cubrir con papel aluminio).
3. Adicionar 100 µL de conjugado a todos los pozos.
4. Adicionar 100 µL de cada control a su correspondiente pozo.
5. Adicionar 100 µL de cada muestra a su correspondiente pozo.
6. Transferir 100 µL de cada pozo mezclado a su correspondiente pozo con anticuerpos. Agitar suave deslizado por 20 segundos. Incubar 10 min temperatura ambiente oscuro.
7. Después de la incubación volcar todo el contenido sobre papel toalla para eliminar residuos. Lavar los pozos 6 veces con agua destilada, golpear enérgicamente los pozos sobre papel toalla para eliminar residuos.
8. Adicionar 100 µL de substrato a todos los pozos. Agitar por deslizamiento en superficie plana por 20 segundos. Incubar por 10 min a temperatura ambiente en oscuridad.
9. Adicionar 100 µL de solución stop a todos los pozos. Agitar suavemente por deslizamiento en superficie plana por 20 segundos.
10. Limpiar la base de los micropozos con papel toalla.
11. Leer en espectrofotómetro BIOTEK EL-301 absorbancia 650nm.

Para cada muestra se ha realizado tres repeticiones de análisis, lo que indica que un código ha tomado 6 pocillos de identificación (3 pocillos para granos y 3 pocillos para corontas) (tabla 9). La figura 20 indica el procedimiento de prueba

Tabla 9. Cantidad de pocillos de análisis utilizadas para cada muestra

Código	Lectura espectrofotométrica
I3340 (grano)	Pocillo 1: … ppm
	Pocillo 2: … ppm
	Pocillo 3: … ppm
I3340 (coronta)	Pocillo 4: … ppm
	Pocillo 5: … ppm
	Pocillo 6: … ppm

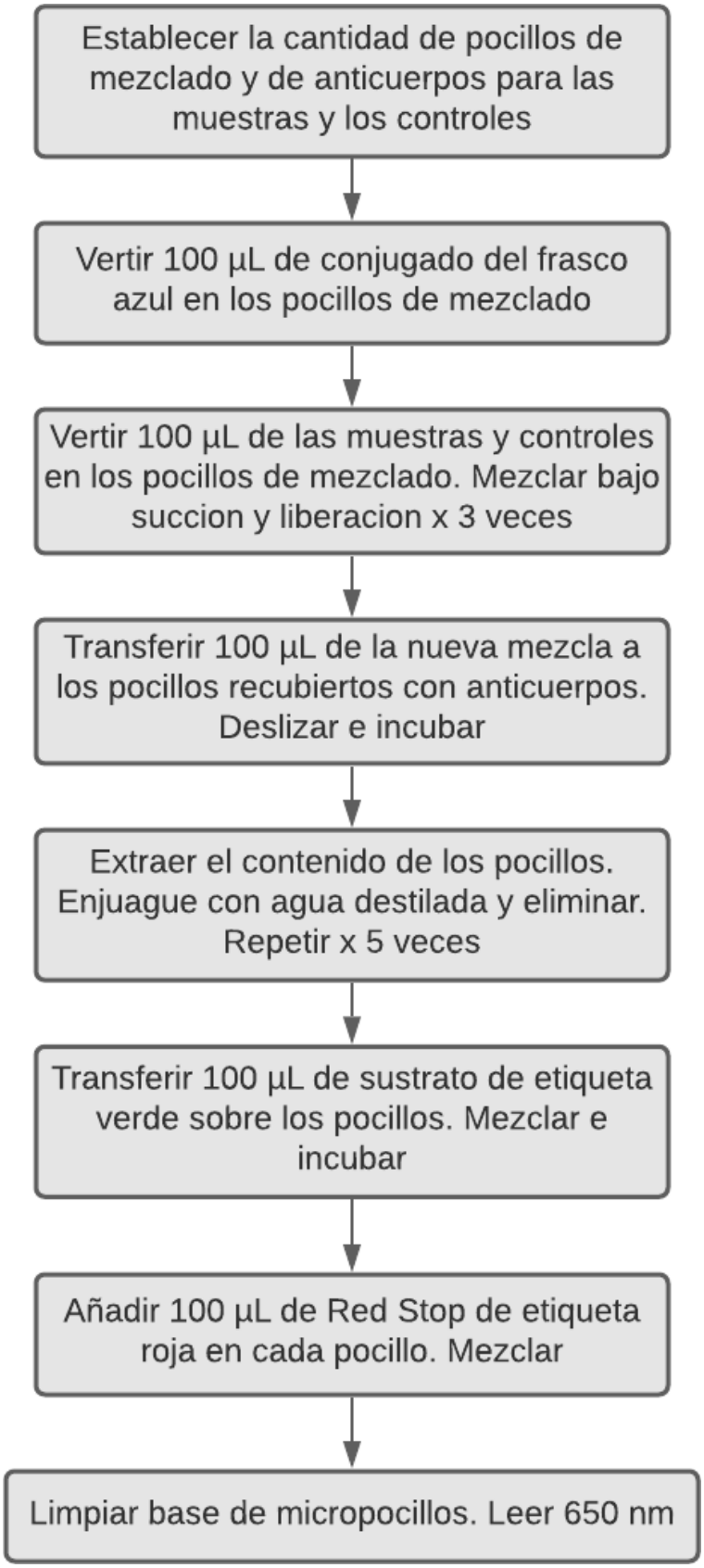


Figura 20. Procedimiento de prueba CD-ELISA (Elaboración propia)

4.8. ANALISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de los análisis de fumonisinas obtenidos mediante la técnica ELISA competitivo directo (CD) fueron sometidos a un análisis estadístico descriptivo y comparativo. Se indicaron las muestras positivas expresándolas en ppm así también se expresó el porcentaje de muestras que mostraban valores por encima del límite en el presente trabajo tanto en las muestras de granos como en las muestras de corontas.

Los resultados obtenidos se procesaron en una PC empleando el Programa estadístico SPSS (*Stadistical Package for Socials Sciences*) versión 24 para Windows [100] empleando para el estudio previo programa la estimación del tamaño muestral [101] tomando para su desarrollo los resultados de análisis de Arellano y Torres [102]. Luego con el programa estadístico SPSS se realizaron la prueba de Kolmogorov Smirnov, la prueba T, y la correlación de Pearson.

Variedades de maíz						
ppm	**Alsa036W**	**Alsa038W**	**L 901**	**P30G40**	**UDG 600**	**L 807**
Promedio	7.75ab	4.75ab	1.75b	6ab	4.33ab	10.25a
Máximo	15	7	3	8	8	16
Mínimo	3	3	0	4	2	5
S	5.12	1.7	1.26	1.82	2.62	4.57
C.V.	0.66	0.36	0.72	0.3	0.61	0.45
L: lucero, s: desviación estándar, C.V: coeficiente de variación						

Figura 21. Valores de Arellano y Torres donde se va a obtener nuestra Desviación estándar de referencia (*s*) [102]

4.9. ESTIMACION DEL TAMAÑO MUESTRAL

Se ha realizado una estimación de tamaño muestral a nuestros datos con la finalidad de además de que nuestra cantidad de muestra sea representativa a todas las muestras de mercados minoristas y mayoristas de la provincia de Lima en nuestra evaluación de fumonisinas en granos y corontas. Se utilizó la siguiente fórmula para el caso de estimación de promedios para poblaciones infinitas [101]:

$$n = \frac{(Z_\alpha)^2 s^2}{d^2}$$

Donde:

Z_{α} : Es el percentil 95 de la distribución Normal usada para que la estimación tenga un nivel de seguridad o confianza del 95%.

S : Es la desviación estándar de referencia, lo cual se se obtuvo considerando los valores medios de las desviaciones estándar mostrados en la tesis de Arellano y Torres [102]

d : Es la precisión de las estimaciones del valor promedio de Fumonisinas, lo cual se determina de acuerdo a la cantidad de nuestras muestras en general.

Considerando una pérdida de muestra del 5%, se aplica la siguiente formula:

$$n_c = \frac{n}{1-p}$$

V. RESULTADOS

5.1. ESTIMACION DEL TAMAÑO MUESTRAL

La estimación de tamaño muestral a nuestros datos es:

$$n = \frac{(1.96)^2 2{,}22^2}{1{,}00^2} = 19$$

Considerando una pérdida de muestra del 5% tenemos:

$$n_c = \frac{19}{1 - 0{,}05} = 20$$

El tamaño mínimo de la muestra que garantiza estimaciones significativas al 5%, con precisión de ±1 ppm es de 20 mediciones en granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada.

5.2. DETERMINACIÓN DE FUMONISINAS

Los valores de fumonisinas analizadas por triplicado son promediadas y comparadas con el límite permitido de 2 ppm [94] tanto para corontas (figura 22) como para granos (figura 23) mostrados a continuación:

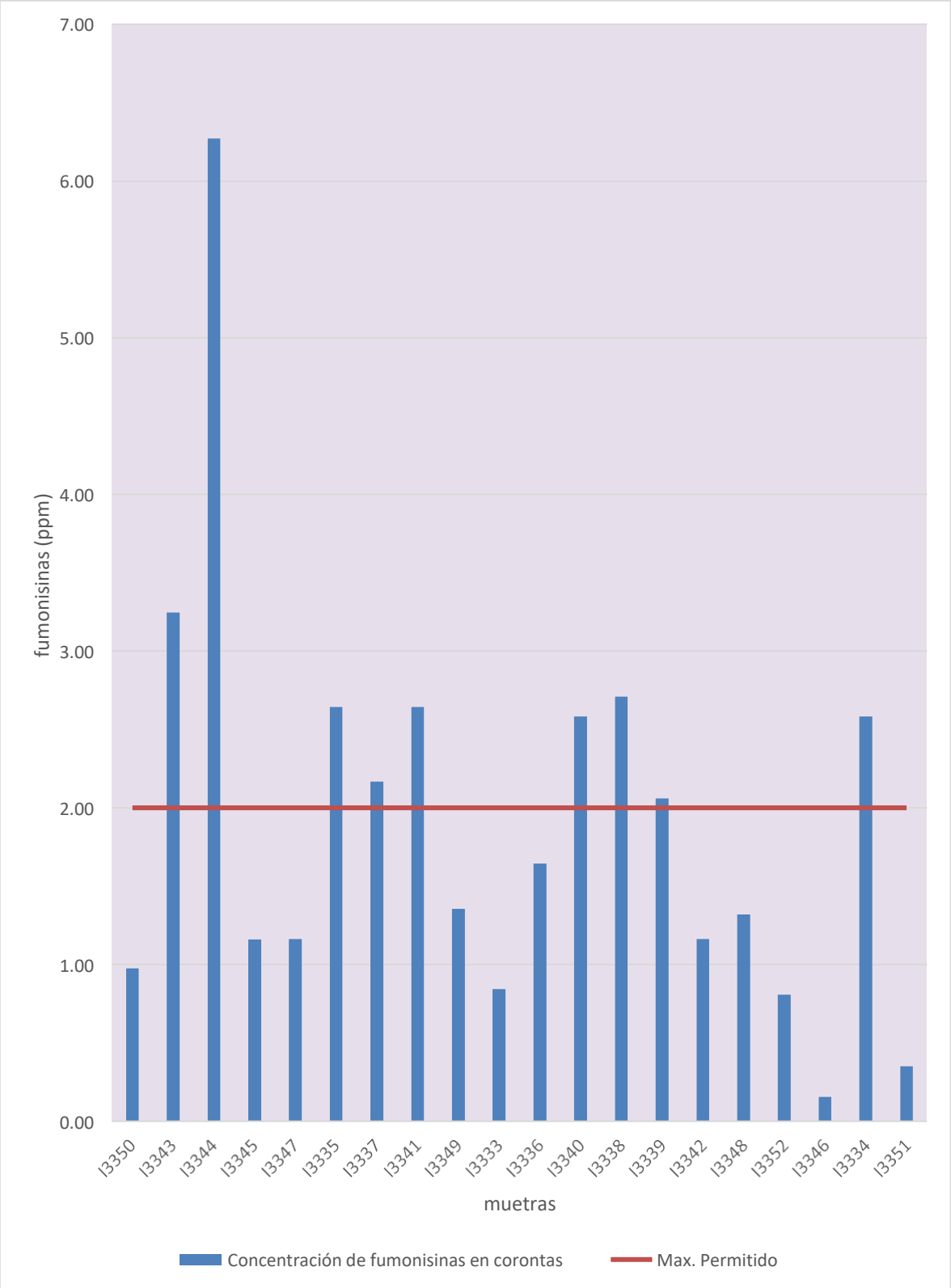


Figura 22. Concentración de fumonisinas en coronta de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada VS Valores máximo permisible de 2 ppm.

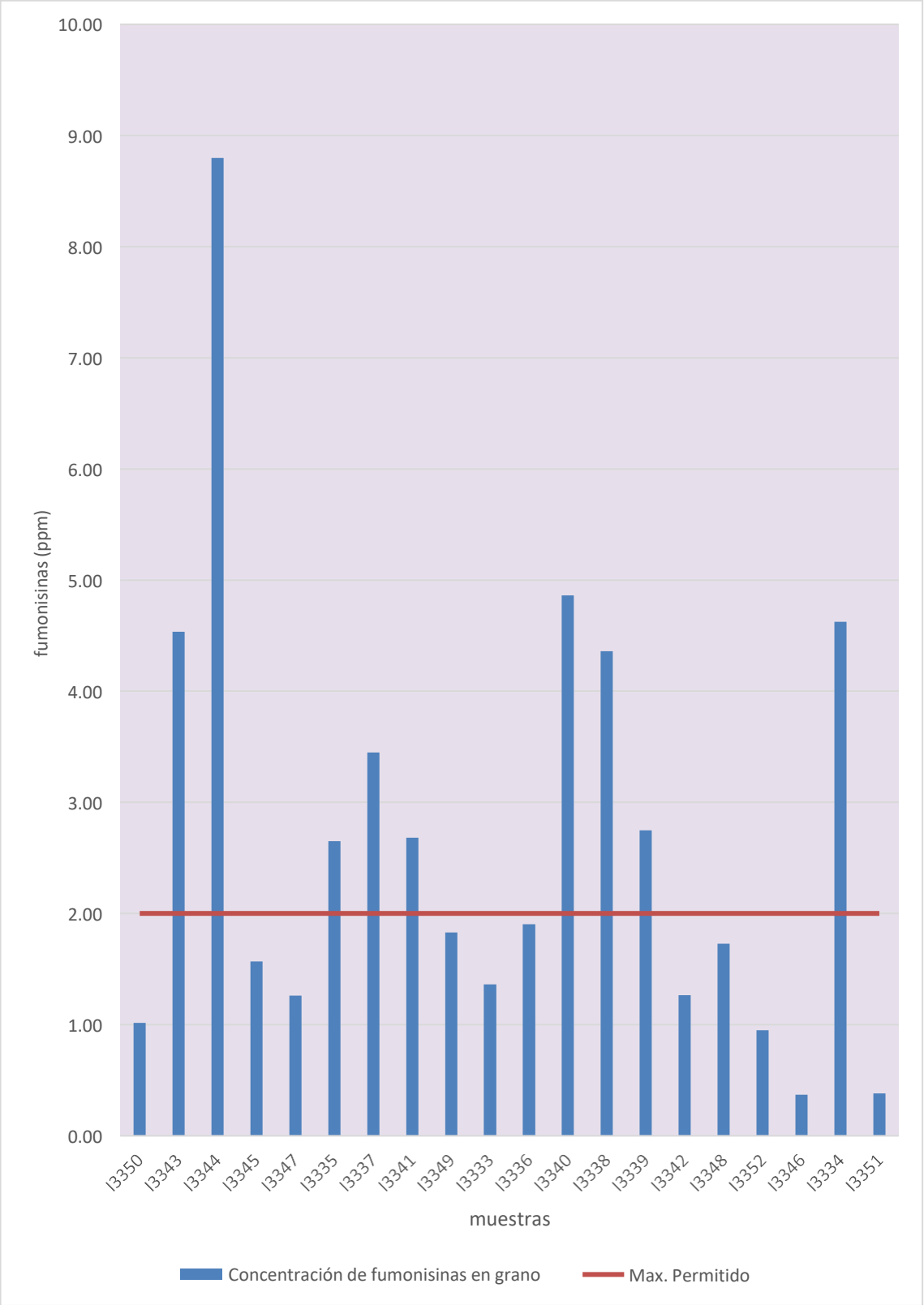


Figura 23. Concentración de fumonisinas en granos de *Zea mays* L. variedad morada VS Valores máximo permisible de 2 ppm.

Tabla 10. Proporción de contaminación por fumonisinas en granos y corontas de (*Zea mays* L.) variedad morada (ppm)

	N	Casos no permisibles (> 2 ppm)	Porcentaje no permisibles	Mediana
Fumonisinas en corontas (ppm)	20	9	45%	1,500
Fumonisinas en granos (ppm)	20	9	45%	1,865

En la tabla 10 que el 50% de las muestras de corontas presentaron una concentración de fumonisinas menor a 1,500 ppm; en el caso de los granos este valor fue inferior a 1,865 ppm

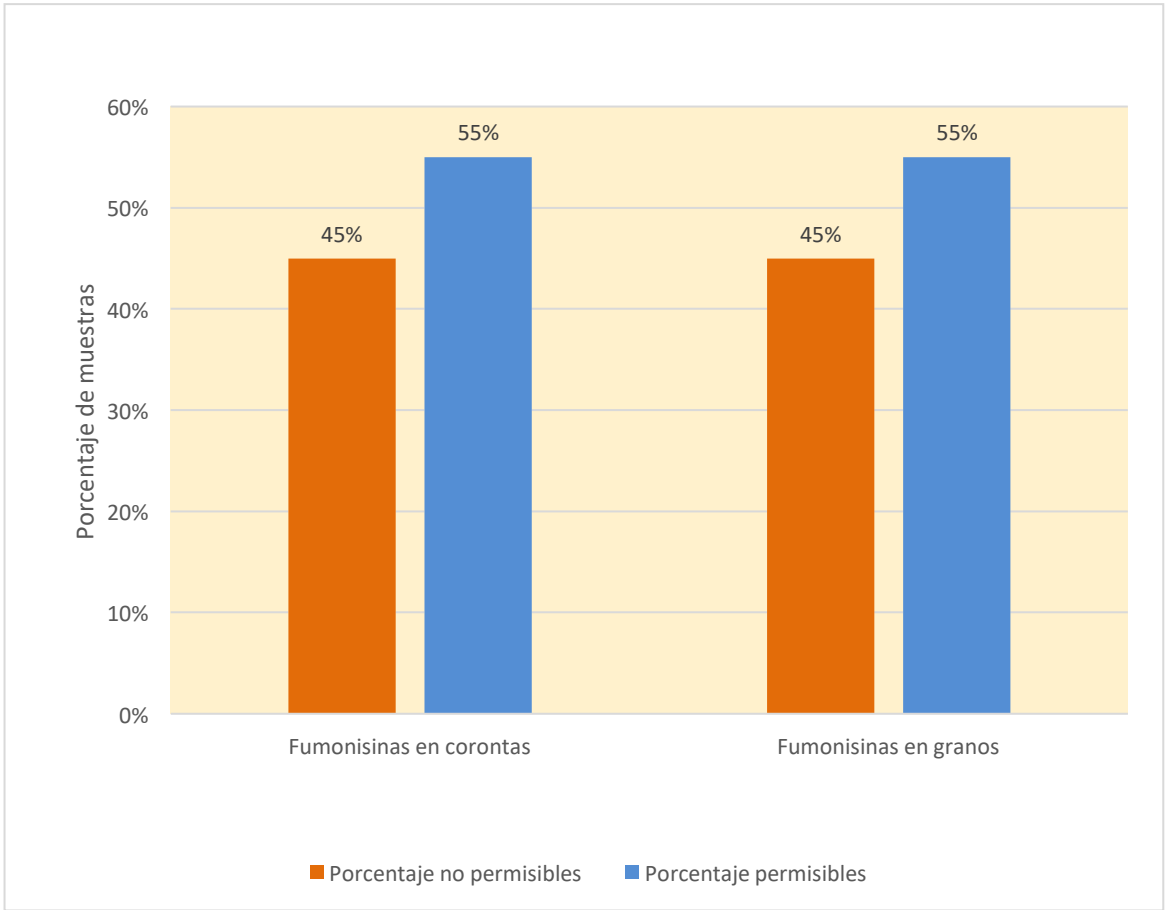


Figura 24. Distribución de la Concentración de fumonisinas en coronta y granos de *Zea mays* L. variedad morada según valores permisibles.

En la figura 24 indica que el 45 % de las muestras de granos y corontas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada en términos de ppm presentaron una concentración de fumonisinas muy por encima del límite máximo permitido.

Tabla 11. Valores resumen de fumonisinas en granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada

	n	Media	Desviación estándar	CV%	Mínimo	Máximo	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
							Inferior	Superior
Fumonisinas en corontas (ppm)	20	1,892	1,350	71,3%	0,160	6,270	1,260	2,524
Fumonisinas en granos (ppm)	20	2,617	2,031	77,6%	0,370	8,800	1,666	3,568

En cuanto a los valores resumen mostrados en la tabla 11 se observó una concentración promedio de fumonisinas de 1,892 ppm en corontas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada, con una desviación estándar de 1,350 ppm y un coeficiente de variación (CV%) de 71,3%.

En términos poblacionales se estima que la concentración promedio de fumonisinas en corontas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada provenientes de mercados minoristas y mayoristas de la provincia de Lima está entre 1,260 y 2,524 ppm con un nivel de seguridad o confianza del 95%.

Con respecto a las muestras de granos de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada, se observó en la tabla 11 una concentración promedio de fumonisinas de 2,617 ppm, la cual comparándose supera los valores permisibles. La desviación estándar fue de 2,031 ppm y un coeficiente de variación de 77,6%, lo cuál indica una mayor dispersión en la concentración de fumonisinas en granos con respecto a los valores observados en las corontas.

En términos poblacionales se estima que la concentración promedio de fumonisinas en granos de *Zea mays* L. variedad morada (ppm) en los mercados de lima esta entre 1,666 y 3,658 ppm con un nivel de seguridad o confianza del 95%.

Tabla 12. Prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov para los valores de Fumonisinas en corontas y granos (ppm)

	Fumonisinas en corontas (ppm)	Fumonisinas en granos (ppm)
N	20	20
Estadístico de prueba	0,172	0,188
Sig. asintótica(bilateral)	,122[c]	,062[c]

c. Corrección de significación de Lilliefors.

En la tabla 12 muestra que la significancia es mayor a 0,05 tanto para corontas como para granos de *Zea mays* L. variedad morada, por lo cual no se descarta que los datos tengan distribución Normal, es decir, se puede aplicar una prueba t para los valores promedio.

Tabla 13. Prueba t de Student para el valor promedio de fumonisinas en grano y coronta (Media = 0)

	Valor de prueba = 0			
	T	Gl	p valor	Diferencia de medias
Fumonisinas en corontas (ppm)	6,268	19	0,000	1,89
Fumonisinas en granos (ppm)	5,762	19	0,000	2,62

La tabla 13 permite concluir que el valor promedio de Fumonisinas en corontas es significativamente diferente a cero (p valor = 0,000), por ello se puede concluir que

las corontas contienen niveles promedio de fumonisinas superiores a cero. Así como también concluir que el valor promedio de Fumonisinas en granos es significativamente diferente a cero (p valor = 0,000), por ello se puede concluir que los granos contienen niveles promedio de fumonisinas superiores a cero.

Tabla 14. Prueba T de Student para el valor promedio de fumonisinas en grano y coronta (Media = 2)

	Valor de prueba = 2			
	T	Gl	p valor	Diferencia de medias
Fumonisinas en corontas (ppm)	-0,358	19	0,724	-0,11
Fumonisinas en granos (ppm)	1,358	19	0,190	0,62

En la tabla 14 observamos en la sección de fumonisinas en corontas que el p valor no es menor a 0,05 no podemos afirmar que el valor promedio de Fumonisinas en corontas sea significativamente diferente a dos (p valor = 0,724), por lo tanto, no se puede concluir a un nivel de significancia del 5%, que las corontas contengan niveles promedio de fumonisinas superiores a 2 ppm.

En la tabla 14 observamos en la sección de fumonisinas en granos que el p valor no es menor a 0,05 no podemos afirmar que el valor promedio de Fumonisinas en granos sea significativamente diferente a dos (p valor = 0,190), por lo tanto, no se puede concluir a un nivel de significancia del 5%, que los granos contengan niveles promedio de fumonisinas superiores a 2 ppm.

En el diagrama de cajas de la figura 25 observamos la existencia de 1 caso atípico o discordante con relación a la concentración de fumonisinas tanto en coronta como en grano (muestra I3344).

Además, se observa la mayor dispersión (amplitud de caja) de las concentraciones de fumonisinas en grano en comparación a las concentraciones de fumonisinas en coronta de *Zea mays* L. variedad morada.

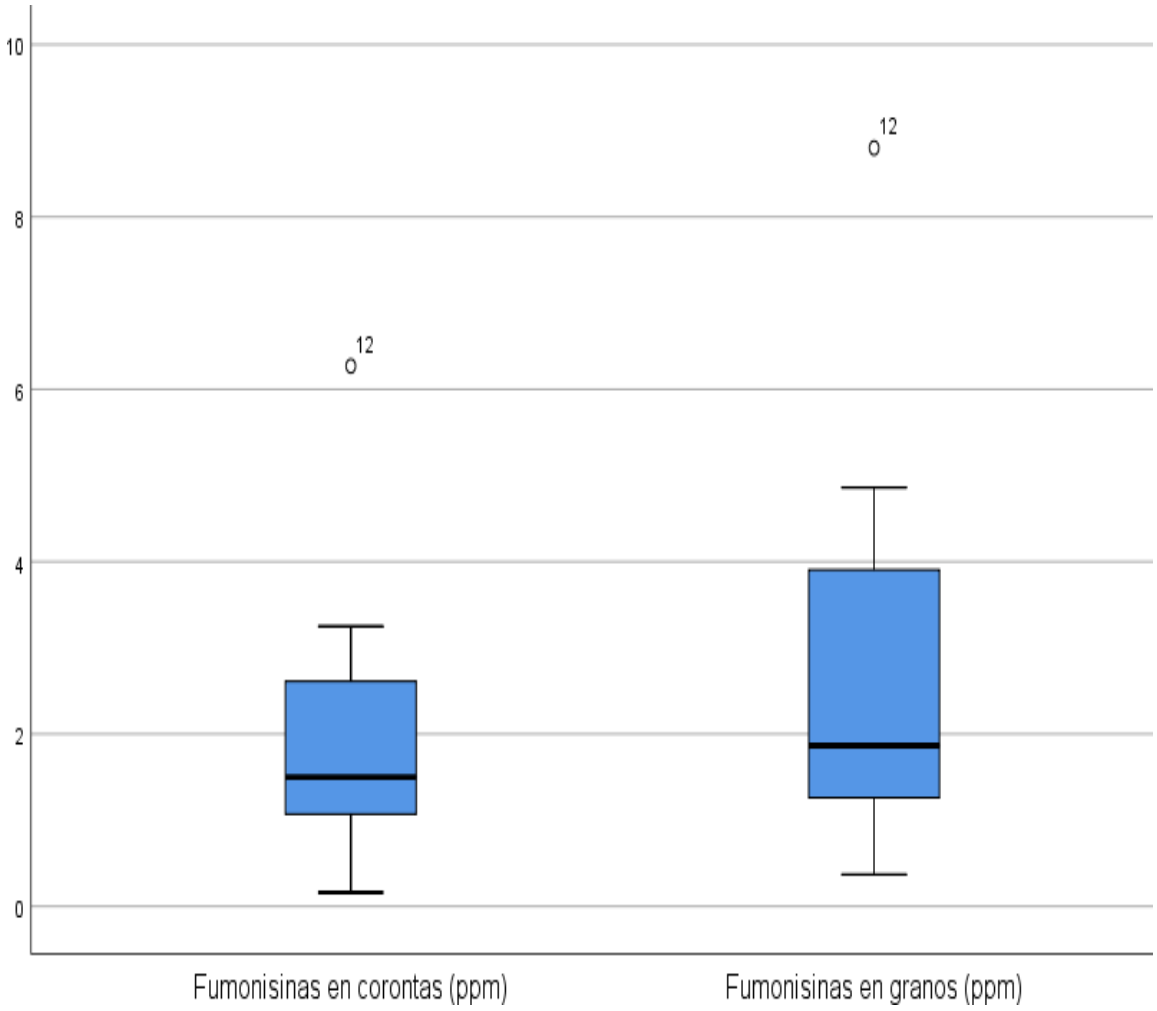


Figura 25. Distribución de los valores de contaminación por fumonisinas en granos y corontas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada (ppm) en diagrama de cajas

Tabla 15. Correlación de Pearson valores de fumonisinas en coronta vs valores de fumonisinas en granos.

		Fumonisinas en granos (ppm)
Fumonisinas en corontas (ppm)	Correlación de Pearson	0,962**
	P valor	0,000
	N	20

La tabla 15 muestra que existe una correlación significativa (p valor = 0,000) entre los valores de fumonisinas en coronta y valores de fumonisinas en granos, la correlación estimada es además positiva y su valor es de r=+0,962; es decir valores altos de fumonisinas en coronta están asociados o correlacionados con valores altos de fumonisinas en los granos.

La disposición de los puntos en el diagrama de dispersión en la figura 26 evidencia un patrón lineal indicando que existe una correlación positiva entre los valores de fumonisinas en coronta y fumonisinas en granos de *Zea mays* L. variedad morada.

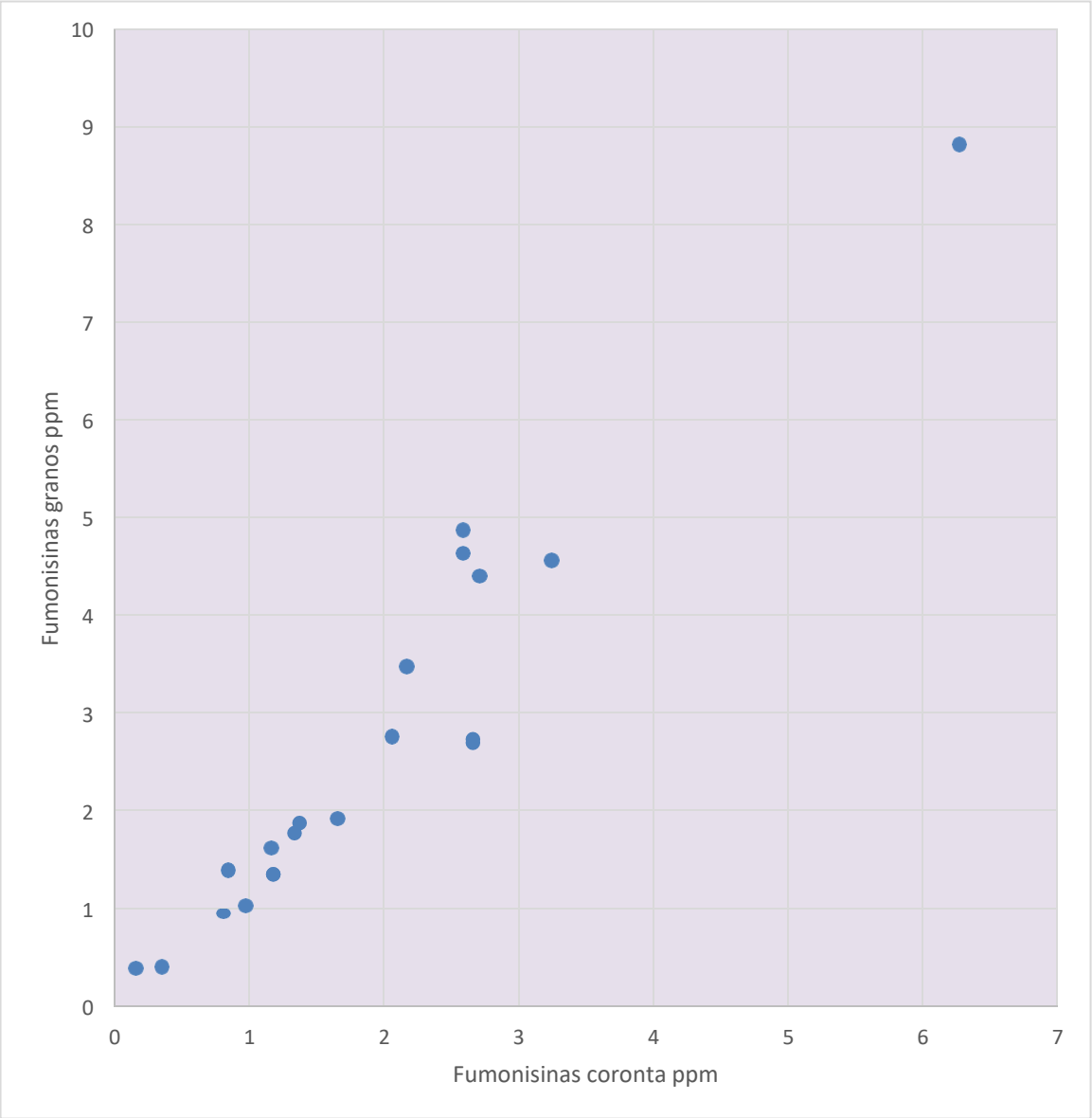


Figura 26. Diagrama de dispersión Fumonisinas en corontas (ppm) vs Fumonisinas en granos (ppm)

VI. DISCUSIÓN

Determinación de fumonisinas

Los alimentos contaminados con fumonisina son un peligro para la salud humana y animales domésticos, siendo el maíz una de las principales fuentes de contaminación.

Los resultados obtenidos muestran la presencia de fumonisinas al 100% tanto en granos como en corontas (tusas) en las muestras analizadas. Los niveles de concentración de fumonisinas están comprendidas de 0,37 ppm a 8,80 ppm en granos y 0,16 ppm a 6,27 ppm en corontas (tusas). Estos resultados guardan relación con los trabajos de Castellari et al. Realizados en granos de maíz, empleando la técnica HPLC, ha mostrado 100 % de presencia de fumonisinas con niveles máximos de 5,707 ppm. También evaluaron el efecto de valores extrínsecos (ambiente), intrínsecos (maíz) y tecnológicos sobre las poblaciones totales y micotoxigénicas al demostrar cambios en la composición de las poblaciones fúngicas y que limitan el desarrollo de hongos potencialmente micotoxigénicos y la producción de micotoxinas [103],producidas por las condiciones ambientales y del sustrato almacenado

La publicación de Chavarri et al., determina fumonisinas en grano de maíz blanco secado al sol, empleando el método inmunoquímico con columnas de inmunoafinidad, obteniendo como resultado las concentraciones promedio de fumonisinas de 1,8 ppm y 8,4 ppm en los estados venezolanos de Yaracuy y Guárico respectivamente; concluyendo que hay presencia de fumonisinas al 100% en las muestras analizadas, con la presencia de varias especies fúngicas potencialmente toxigénicas, la cual destacamos la especie *F. verticillioides* [104].

Con respecto a los valores y rangos de fumonisina obtenidos en diferentes trabajos publicados son muy variados, pueden ser debido a varios factores como por ejemplo los diferentes métodos empleados, así como también las diversas variedades de la especie (*Zea mays* L.), mostrando por ejemplo la variedad maíz blanco utilizados en la publicación de Chavarri et al. [104]. Otro ejemplo a señalar son las variedades de maíz ALSA 036W, ALSA 038W, LUCERO 901, LUCERO 807, P30G40 y UDG 600 empleadas por Arellano y Torres [102]; en comparación con nuestro proyecto de investigación la cual se ha empleado la variedad morada de maíz.

Otro gran factor a considerar, es la toma de muestra del maíz a lo largo de toda la cadena desde la cosecha hasta los puntos de venta: muestras tomadas directamente de la cosecha y también muestras que fueron tomadas en periodos diferentes de almacenamiento pueden presentar variaciones en la concentración de fumonisina como muestra los resultados publicados por Castellari et al. indicando una apreciable reducción de *F. verticillioides* (moho micotoxigénico potencialmente productor de fumonisinas) en la etapa final del almacenamiento, concluyendo entonces con todas aquellas evidencias, que las condiciones ambientales y del sustrato sólo durante el almacenamiento producen cambios en la composición de las especies fúngicas y capacidad de limitaciones de su desarrollo, y por ende a la producción de sus micotoxinas [103]; completamente diferente con respecto a nuestro proyecto lo cual las muestras tomadas son pertenecientes a puntos de venta directa para el consumo humano.

Otro punto a tomar en cuenta es acerca del estado físico de los granos de maíz, como en todos los alimentos experimentan muchas agresiones, no solamente de mohos con carácter parasítico hacia su planta hospedera, sino también insectos, aves y mamíferos, donde debilita sus barreras innatas de protección. Publicaciones como Cao et al. menciona la posibilidad de relación entre el grano dañado por agentes externos como es el caso de insectos, en favorecer el desarrollo de mohos potencialmente micotoxigénicos, entre ellos al *Fusarium*, en producir exponencialmente fumonisinas [105].

Los niveles menores a los límites permisibles, aunque no pareciera representar un problema significativo para la salud pública, las micotoxinas suelen acumularse, mostrando luego síntomas que tengan relación con la micotoxicosis, lo cual pueden ser potencialmente un riesgo para las personas vulnerables (niños, ancianos, pacientes inmunocomprometidos, pacientes con algún cuadro infeccioso, pacientes neoplásicos, etc). Así mismo, las cantidades de las fumonisinas, aunque pueden ser bajas, las intoxicaciones en humanos se dan de manera crónica, por ser acumulativa por un periodo relativo de tiempo, pueda presentar micotoxicosis con las evidencias, con respecto a las fumonisinas, a cáncer esofágico y defectos en el tubo neural [5].

Los valores de fumonisinas están expresadas ya sea en partes por millón (ppm), en mg/kg o µg/kg (1ppm=1mg/kg=1000µg/kg), en donde aún no se ha establecido

un único valor de límite permitido en maíz, señalando la FAO límites de 1 ppm, 2 ppm y 3 ppm para fumonisinas [95], y valores de 4 ppm que indica el CODEX ALIMENTARIUS [96]. A todo ello en nuestro proyecto de investigación estableció para nuestro estudio el límite de 2 ppm (2000 µg/kg) para maíz no elaborado mencionado por Ramos, Sanchis y Marín [94]. Con los resultados obtenidos, evaluados y analizados estadísticamente, indica que no es concluyente que los granos y corontas de los mercados minoristas y mayoristas de la provincia de Lima contengan niveles promedio de fumonisinas superiores a 2 ppm.

Todos estos estudios están relacionados con granos de maíz, pero no hay datos sobre presencia de fumonisinas en la coronta o tusa. Los valores encontrados en la coronta o tusa probablemente podrían deberse a la migración de la fumonisina desde el grano. Esto se puede observar en la figura 26 donde existe una correlación directa entre los valores de fumonisinas del grano de maíz y la tusa. Estos resultados estarían mostrando el riesgo potencial que existe cuando se usa la coronta como ingrediente en la preparación de bebidas.

En nuestra tesis los resultados confirman una correlación entre la cantidad de fumonisinas presentes en las corontas y la cantidad de fumonisinas presentes en los de *Zea mays* L. variedad morada, hasta el año 2020 no se evidencia trabajos sobre una correlación entre granos y corontas con respecto a su contenido de fumonisinas en los puntos de venta.

VII. CONCLUSIONES

1. Hay presencia de fumonisinas tanto en granos como en corontas (tusas) en el 100% de las muestras analizadas de *Zea mays* L. variedad morada.
2. La concentración de fumonisinas presente en granos de *Zea mays* L. variedad morada, oscila en el rango de 0,37 ppm a 8,80 ppm
3. La concentración de fumonisinas presente en corontas de *Zea mays* L. variedad morada, oscila en el rango de 0,16 ppm a 6,27 ppm
4. El 45 % de muestras de granos y el 45% de muestras de corontas superan el límite de 2ppm de fumonisinas, establecido por la FAO.
5. Existe correlación (positiva) entre granos y corontas de *Zea mays* L. variedad morada con respecto al contenido de fumonisinas

VIII. RECOMENDACIONES

1. Analizar las fumonisinas presentes en el maíz variedad morada desde una parcela de una región especifica en etapas de precosecha, postcosecha y almacenamiento.
2. Analizar las fumonisinas presentes en el maíz variedad morada con técnicas instrumentales de confirmación como HPLC/MS, o como dispositivos nanotecnológicos como los biosensores.
3. Analizar otras micotoxinas presentes en el maíz variedad morada, así como también evaluar efectos aditivos, sinérgicos o antagónicos entre ellas.
4. Determinar la flora fúngica de maíz morado de diferentes regiones del país y evaluar sus factores influyentes en su desarrollo, crecimiento y producción de micotoxinas.
5. Analizar los factores que influyen en el desarrollo fúngico en el maíz morado como temperatura, pH, actividad de agua y humedad, altitud/latitud de la cosecha, almacén, puntos de ventas, etc.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Broom L. Mycotoxins and the intestine. Anim Nutr. 2015; 1(4):262–5. doi: 10.1016/j.aninu.2015.11.001

2. Bhatnagar D, Brown R, Ehrlich K, Cleveland TE. Mycotoxins contaminating cereal grain crops: Their occurrence and toxicity. Appl Mycol Biotechnol. 2002; 2:171-96.

3. Bennett JW, Klich M. Mycotoxins. Clin Microbiol Rev. 2003; 16(3):497-516. doi: 10.1128/CMR.16.3.497-516.2003

4. Bezerra da Rocha ME, Oliveira FdC, Feitosa FE, Florindo MI, Rondina D. Mycotoxins and their effects on human and animal health. Food Control. 2014; 36(1):159-65. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.08.021

5. Ruiz MJ, Font G. Toxicidad y evaluación de riesgos. En: Soriano JM, director-coordinador. Micotoxinas en alimentos. Madrid: Díaz de Santos; 2007. p. 15-27.

6. Cabañes FJ, Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G. Especies productoras de micotoxinas. En: Soriano JM, director-coordinador. Micotoxinas en alimentos. Madrid: Díaz de Santos; 2007. p. 29-61.

7. Santin E. Crecimiento de los hongos y producción de micotoxinas. En: Díaz DE editor. El Libro Azul de Micotoxinas. Nottingham: Nottingham University Press; 2008. p. 239-50.

8. Glenn AE. Mycotoxigenic *Fusarium* species in animal feed. Anim Feed Sci Technol. 2007; 137(3-4):213–40. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2007.06.003

9. Soriano JM, Dragacci S. Fumonisinas. En: Soriano JM director-coordinador. Micotoxinas en alimentos. Madrid: Díaz de Santos; 2007. p. 223-37.

10. Pitt JI, Hocking AD. Fungi and Food Spoilage. 3º ed. New York: Springer; 2009.

11. Devegowda G, Murthy TNK. Micotoxinas: sus efectos en aves y algunas soluciones prácticas. En: Díaz DE editor. El Libro Azul de Micotoxinas. Nottingham: Nottingham University Press; 2008. p. 27-60.

12. Newman KE, Raymond SL. Efectos de las micotoxinas en caballos. En: Díaz DE editor. El Libro Azul de Micotoxinas. Nottingham: Nottingham University Press; 2008. p. 61-81.

13. Smith TK, Díaz G, Swamy HVLN. Conceptos actuales de las micotoxinas en cerdos. En: Díaz DE editor. El Libro Azul de Micotoxinas. Nottingham: Nottingham University Press; 2008. p. 251-64.

14. Bullerman LB. Occurrence of *Fusarium* and fumonisins on food grains and in foods. Adv Exp Med Biol. 1996; 392:27-38. doi: 10.1007/978-1-4899-1379-1_3

15. Manrique A. Maíz morado peruano (*Zea mays* L. amilaceae st.). Lima: INIA; 2000.

16. Marín S. Ecofisiología de cepas de *Fusarium* productoras de fumonisinas. [Tesis doctoral]. Lérida: Universidad de Lleida; 1998.

17. Gallardo-Reyes ED, Ibarra-Moreno GM, Sanchez-Mariñez RI, Cuamea-Cruz G, Molina-Gil D, Parra-Vergara NV, et al. Microbiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. Rev Mex Fitopatol. 2006; 24:27-34.

18. Coronel MB, Vicente S, Resnik SL, Alzamora SM, Pacin A. Fumonisins in maize and gluten meal analysed in Argentinean wet milling industrial plants by ELISA compared with HPLC-FLD method. Food Control. 2016; 67:285-91. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.02.052

19. Venturini G, Babazadeh L, Casati P, Pilu R, Salomoni D, Toffolatti SL. Assessing pigmented pericarp of maize kernels as posible source of resistance to fusarium ear rot, *Fusarium* spp. Infection and fumonisin accumulation. Int J Food Microbiol. 2016; 227:56-62. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.022

20. Fión M, Méndez O. Incidencia de micotoxinas en maíz (*Zea mays* L.) en los departamentos de Santa Bárbara y Copán, Honduras. [Tesis Ingeniería en Agroindustria Alimentaria]. Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana; 2018.

21. Benz BF. Archaeological evidence of teosinte domestication from Guila Naquitz, Oaxaca. Proc Natl Acad Sci. 2001; 98(4): 2104-6. doi: 10.1073/pnas.98.4.2104

22. Kistler L, Maezumi SY, Gregorio de Souza J, Przelomska NAS, Malaquias Costa F, Smith O, et al. Multiproxy evidence highlights a complex evolutionary legacy of maize in South America. Science. 2018; 362(6420):1309–13. doi:10.1126/science.aav0207

23. Arendt EK, Zannini E. Cereal Grains for the Food and Beverage Industries. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2013.

24. Ranum P, Peña-Rosas JP, Garcia-Casal MN. Global maize production, utilization, and consumption. Ann N Y Acad Sci. 2014; 1312:105–12. doi: 10.1111/nyas.12396

25. Carhuapoma M, López S. Maíz morado: Moléculas bioactivas, antioxidantes y anticancerígenas. Lima: CONCYTEC; 2008.

26. Bush MB, Correa-Metrio A, McMichael CH, Sully S, Shadik CR, Valencia BG, et al. A 6900-year history of landscape modification by humans in lowland Amazonia. Quat Sci Rev. 2016; 141:52–64. doi: 10.1016/j.quascirev.2016.03.022

27. Brugger SO, Gobet E, van Leeuwen JFN, Ledru M-P, Colombaroli D, van der Knaap WO, et al. Long-term man–environment interactions in the Bolivian Amazon: 8000 years of vegetation dynamics. Quat Sci Rev. 2015; 132: 114–28. doi: 10.1016/j.quascirev.2015.11.001

28. Grobman A, Bonavia D, Dillehay TD, Piperno DR, Iriarte J, Holst I. Preceramic maize from Paredones and Huaca Prieta, Peru. Proc Natl Acad Sci. 2012; 109(5):1755-9. doi: 10.1073/pnas.1120270109

29. Piperno DR, Flannery KV. The earliest archaeological maize (*Zea mays* L.) from highland Mexico: New accelerator mass spectrometry dates and their implications. Proc Natl Acad Sci. 2001; 98(4):2101–3. doi: 10.1073/pnas.98.4.2101

30. Vallebueno-Estrada M, Rodríguez-Arévalo I, Rougon-Cardoso A, Martínez González J, García Cook A, Montiel R, et al. The earliest maize from San Marcos Tehuacán is a partial domesticate with genomic evidence of inbreeding. Proc Natl Acad Sci. 2016; 113(49):14151–6. doi: 10.1073/pnas.1609701113

31. Melgarejo M. El maíz: su importancia histórica en la cultura americana. En: ILSI Argentina. Maíz y Nutrición: Informe sobre los usos y las propiedades nutricionales del maíz para la alimentación humana y animal. 2006; 2(1):22-5.

32. Velásquez H Montoro Y. Estudio sobre la Biodiversidad, Erosión y Contaminación Genética del Maíz Nativo en Perú. En: Manzur MI, editor. Biodiversidad, Erosión y Contaminación Genética del Maíz Nativo en América

Latina [Internet]. RALLT; 2011 [citado el 15 set 2020]. p. 93-120. Disponible en: https://www.semillas.org.co/apc-aa-files/5d99b14191c59782eab3da99d8f95126/biodiversidad__erosion_contaminaciongenetica_maiznativo_al_1.pdf

33. Ministerio del Ambiente. Línea de base de la diversidad genética del maíz peruano con fines de bioseguridad [Internet]. Ministerio de Ambiente; 2017 [actualizado enero 2019; citado el 29 nov 2019]. Disponible en: https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2019/01/Linea-de-base-ma%C3%ADz-LowRes.pdf

34. Ministerio de Agricultura y Riego. Maíz morado: Purple corn Fact Sheet [Internet]. Ministerio de Agricultura y Riego; 2017 [citado el 22 oct 2019]. Disponible en: http://agroaldia.minagri.gob.pe/biblioteca/download/pdf/tematicas/f-taxonomia_plantas/f01-cultivo/maiz_morado.pdf

35. Li K, Ramakrishna W. Basic Information. En: Wusirika R, Bohn M, Lai J, Cole C, editors. Genetics, Genomics and Breeding of Maize. Boca Raton: CRC Press; 2015. p. 1-13.

36. Morrison LA, Wrigley CW. Taxonomic Classification of Grain Species. Encyclopedia of Food Grains. 2016; 31–40. doi: 10.1016/B978-0-12-394437-5.00002-4

37. Guo H, Guo J, Jiang X, Li Z, Ling W. Cyanidin-3-O-β-glucoside, a typical anthocyanin, exhibits antilipolytic effects in 3T3-L1 adipocytes during hyperglycemia: Involvement of FoxO1-mediated transcription of adipose triglyceride lipase. Food Chem Toxicol. 2012; 50(9):3040-7. Doi: 10.1016/j.fct.2012.06.015

38. Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.) Food Chem X. 2007; 100(3):956-63. Doi: 10.1016/j.foodchem.2005.11.004

39. Lao F, Sigurdson GT, Giusti M. Health Benefits of purple Corn (*Zea mays* L.) Phenolic Compounds. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2017; 16(2):234-46. doi: 10.1111/1541-4337.12249

40. Yang Z, Zhai W. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (*Zea mays* L.). Innov Food Sci Emerg Technol. 2010; 11(1):169-76. doi: 10.1016/j.ifset.2009.08.012

41. Hosoda K, Miyaji M, Matsuyama H, Haga S, Ishizaki H, Nonaka K. Effect of supplementation of purple pigment from anthocyanin-rich corn (*Zea mays* L.) on blood antioxidant activity and oxidation resistance in sheep. Livest Sci. 2012; 145(1-3):266-70. doi: 10.1016/j.livsci.2011.12.001

42. Ramos-Escudero F, Muñoz AM, Alvarado-Ortíz C, Alvarado Á, Yáñez JA. Purple corn (*Zea mays* L.) Phenolic Compounds Profile and Its Assessment as an Agent Against Oxidative Stress in Isolated Mouse Organs. J Med Food. 2012; 15(2):206-15. doi: 10.1089/jmf.2010.0342

43. Matsuba T, Kubozono, Saegusa A, Obata K, Gotoh K, Miki K, et al. Short communication: Effects of feeding purple corn (*Zea mays* L.) silage on productivity and blood superoxide dismutase concentration in lactating cows. J Dairy Sci. 2019; 102:7179-82. doi: 10.3168/jds.2019-16353

44. Zhang Q, Gonzalez de Mejia E, Luna-Vital D, Tao T, Chandrasekaran S, Chatham L, et al. Relationship of phenolic composition of selected purple maize (*Zea mays* L.) genotypes with their anti-inflammatory, anti-adipogenic and anti-diabetic potential. Food Chem X. 2019; Volume 289(15):739-50. doi: 10.1016/j.foodchem.2019.03.116

45. Zhao X, Corrales M, Zhang C, Hu X, Ma Y, Tauscher B. Composition and thermal stability of anthocyanins from chinese purple corn (*Zea mays* L.) J Agric Food Chem. 2008; 56(22):10761-6. doi: 10.1021/jf8025056

46. Luna-Vital D, Cortez R, Ongkowijoyo P, Gonzalez de Mejia E. Protection of color and chemical degradation of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.) by zinc ions and alginate through chemical interaction in a beverage model. Food Res Int. 2017; 105:169-77. doi: 10.1016/j.foodres.2017.11.009

47. Ruiz de Castilla R. Maíz morado, una oportunidad que se abre al mundo. Red agrícola. 2013; 6:16-7.

48. Lago C, Landoni M, Cassani E, Doria E, Nielsen E, Pilu R. Study and characterization of a novel functional food: purple popcorn. Mol Breed. 2013; 31:575-85. doi: 10.1007/s11032-012-9816-6

49. Sanchis V, Marín S, Ramos AJ. Factores determinantes en la producción de micotoxinas. En: Soriano JM director-coordinador. Micotoxinas en alimentos. Madrid: Díaz de Santos; 2007. p. 63-89.

50. Carroll KC, Morse SA, Mietzner T, Miller S. Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 27 ed. México DF: McGraw-Hill Interamericana; 2016.

51. Leslie JF, Summerell BA. The *Fusarium* laboratory manual. Iowa: Blackwell Publishing Professional; 2006.

52. Soriano JM. Introducción En: Soriano JM director-coordinador. Micotoxinas en alimentos. Madrid: Díaz de Santos; 2007. p. 3-14.

53. Galvano F, Ritieni A, Piva G, Pietri A. Micotoxinas en la cadena alimentaria humana. En: Díaz DE editor. El Libro Azul de Micotoxinas. Nottingham: Nottingham University Press; 2008. p. 199-238

54. Wilson TM, Nelson PE, Knepp CR. Hepatic neoplastic nodules, adenofibrosis, and cholangiocarcinomas in male Fisher 344 rats fed corn naturally contaminated with *Fusarium moniliforme*. Carcinogenesis. 1985; 6(8):1155–60. doi: 10.1093/carcin/6.8.1155

55. Ross PF, Rice LG, Osweiler GD, Nelson PE, Richard JL, Wilson TM. A review and update of animal toxicoses associated with fumonisin-contaminated feeds and production of fumonisins by *Fusarium* isolates. Mycopathologia. 1992; 117:109–14. doi:10.1007/BF00497286

56. Brown DW, Butchko RAE, Proctor RH. Identification of genes and gene clusters involved in mycotoxin synthesis. En: De Saeger S editor. Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 333-48.

57. Munaut F, Van Hove F. Molecular identification of mycotoxigenic fungi in food and feed. En: De Saeger S editor. Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 299-331.

58. Nicholson P. Rapid detection of mycotoxigenic fungi in plants. En: Magan N, Olsen M, editors. Mycotoxins in food: Detection and control. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2004. p. 111-36.

59. Marasas WFO. Fumonisins: their implications for human and animal health. Nat Toxins. 1995; 3(4):193-8. doi: 10.1002/nt.2620030405

60. Braun MS, Wink M. Exposure, occurrence, and chemistry of fumonisins and their cryptic derivatives. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2018; 17:769–91. doi: 10.1111/1541-4337.12334

61. Soriano JM, González, Catalá AI. Mechanism of action of sphingolipids and their metabolites in the toxicity of fumonisin B1. Prog Lipid Res. 2005; 44(6):345-56. doi: 10.1016/j.plipres.2005.09.001

62. Becker WM, Kleinsmith LJ, Hardin J. El mundo de la Célula. Madrid: Pearson Educación; 2007.

63. Iwasa J, Marshall W. Biología celular y molecular de Karp: Conceptos y experimentos. 8a ed. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana; 2014

64. Pratt CW, Cornely K. Bioquímica. México D.F.: Manual Moderno; 2012

65. Mathews CK, Van Holde KE, Ahern KG. Bioquímica. 3a ed. Madrid: Pearson Educación; 2002

66. Feduchi E, Blasco I, Romero CS, Yañez E, García-Hoz C. Bioquímica: Conceptos esenciales. 2a ed. Madrid: Panamericana; 2015.

67. Devlin TM. Bioquímica: Libro de texto con aplicaciones clínicas. 4a ed. Barcelona: Reverté; 2008.

68. Herrera E, Ramos MdP, Roca P, Viana P. Bioquímica básica. Barcelona: Elsevier España; 2014.

69. Horton HR, Moran LA, Scrimgeour KG, Perry MD, Rawn JD. Principios de bioquímica. 4ª ed. Ciudad Juárez: Pearson Educación; 2008.

70. Teijón JM, Garrido A, Blanco MD, Olmo R, Teijón C, Castel B. Bioquímica metabólica. Conceptos y test. 2ª ed. Madrid: Tébar S.L.; 2009.

71. Ferrier DR. Lippincott's Ilustrated Reviews: Bioquímica. 6a ed. Barcelona: Wolters Kluwer Health España; 2014.

72. Martínez F, Pardo JP, Riveros H. Bioquímica de Laguna y Piña. 8a ed. Ciudad de México: Manual Moderno; 2018.

73. Rodwell VW, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Weil PA. Bioquímica ilustrada de Harper. 31a ed. Ciudad de México: McGraw-Hill Interamericana; 2018.

74. Muller-Sterl W. Bioquímica: Fundamentos para la medicina y ciencias de la vida. Barcelona: Reverte; 2008.

75. Nelson DL, Cox MM. Principios de bioquímica de Lehninger. 5a ed. Barcelona: Omega; 2009.

76. Sharma S, Ahmed M, Akhter. The revelation of selective sphingolipid pathway inhibition mechanism on fumonisin toxin binding to ceramide synthases in susceptible organisms and survival mechanism in resistant species. Biochimie. 2018; 149:41-50. doi: 10.1016/j.biochi.2018.03.014

77. Wyatt RD. Interacciones de las micotoxinas. En: Díaz DE editor. El Libro Azul de Micotoxinas. Nottingham: Nottingham University Press; 2008. p. 287-96.

78. Cimbalo A, Alonso-Garrido M, Font G, Manyes L. Toxicity of mycotoxins in vivo on vertebrate organisms: A review. Food Chem Toxicol. 2020 Mar;137:111161. doi: 10.1016/j.fct.2020.111161

79. Gelderblom WCA, Kriek NPJ, Marasas WFO, Thiel PG. Toxicity and carcinogenicity of the *Fusarium moniliforme* metabolite, fumonisin B1, in rats. Carcinogenesis. 1991; 12(7):1247–51. doi: 10.1093/carcin/12.7.1247

80. Colvin BM, Harrison LR. Fumonisin-induced pulmonary edema and hydrothorax in swine. Mycopathologia. 1992; 117:79–82. doi: 10.1007/BF00497282

81. Poersch AB, Trombetta F, Braga ACM, Boeira SP, Oliveira MS, Dilkin P. Involvement of oxidative stress in subacute toxicity induced by fumonisin B1 in broiler chicks. Vet Microbiol. 2014; 174(1–2):180-5. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.08.020

82. Ostry V, Malir F, Toman J, Grosse Y. Mycotoxins as human carcinogens—the IARC Monographs classification. Mycotoxin Res. 2016; 33(1):65–73. doi: 10.1007/s12550-016-0265-7

83. Soriano JM, Moltó JC, Mañes J. Análisis de micotoxinas en alimentos. En: Soriano JM director-coordinador. Micotoxinas en alimentos. Madrid: Díaz de Santos; 2007. p. 91-117.

84. Lozano JA, Galindo JD, García-Borrón JC, Martinez-Liarte JH, Peñafiel R, Solano F. Bioquímica y Biología Molecular para ciencias de la salud. 3ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2005.

85. Goryacheva IY, De Saeger S. Inmunochemical methods for rapid mycotoxin detection in food and feed. En: De Saeger S, editor. Determining mycotoxins and

mycotoxigenic fungi in food and feed. 1a ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 135-67.

86. Owen JA, Punt J, Stranford SA. Inmunología de Kuby. 7ª ed. México D.F.: McGraw-Hill Interamericana; 2014.

87. Tothill IE. Emerging bio-sensing methods for mycotoxin analysis. En: De Saeger S, editor. Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed. 1a ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 359-84

88. Santana I, Galdino da Silva A, Souza de Andrade CA, Lima MD. Biosensors for early detection of fungi spoilage and toxigenic and mycotoxins in food. Curr Opin Food Sci. 2019; 29:64-79. doi: 10.1016/j.cofs.2019.08.004

89. Shephard GS. Chromatographic separation techniques for determination of mycotoxins in food and feed. En: De Saeger S, editor. Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 71-88.

90. Krska R, Schubert-Ullrich P, Molinelli A, Sulyok, MacDonald S, Crews C. Mycotoxin analysis: An update. Food Addit Contam Part A. 2008; 25 (2): 152-63. doi: 10.1080 / 02652030701765723

91. Spanjer MC. Mass spectrometry in multi-mycotoxin and fungal spore analysis. En: De Saeger S, editor. Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited; 2011. p. 90-134.

92. Murugesan GR, Ledoux DR, Naehrer K, Berthiller F, Applegate TJ, Grenier B, et al. Prevalence and effects of mycotoxins on poultry health and performance, and recent development in mycotoxin counteracting strategies. Poult Sci. 2015; 94(6):1298–1315. doi: 10.3382/ps/pev075

93. Leite M, Freitas A, Silva AS, Barbosa J, Ramos F. Maize (*Zea mays* L.) and mycotoxins: A review on optimization and validation of analytical methods by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. Trends Food Sci Technol. 2020; 99:542-65. doi: 10.1016/j.tifs.2020.03.023

94. Ramos AJ, Sanchis V, Marin S. Aspectos legislativos de las micotoxinas y normativa vigente. En: Soriano JM director-coordinador. Micotoxinas en alimentos. Madrid: Díaz de Santos; 2007. p. 133-63.

95. FAO. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Roma: FAO; 2004

96. FAO/OMS 1995. Normas Internacionales en los alimentos: Normas generales para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos. Roma: FAO; 1995.

97. EC 2006b. European Commission (2006). Regulation (EC) 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of mycotoxin levels in foodstuffs. Official Journal of the European Union. L70, 9.3.2006, pp. 12-34.

98. INEI. Compendio Estadístico Provincia de Lima. Lima: INEI; 2019.

99. AOAC 2001.06-2005, Total fumonisins in corn. Competitive direct [Internet]. En: AOAC International, Official Methods of Analysis. Gaithersburg, MD (EU); AOAC International; 2019 [citado el 26 oct 2019]. Disponible en: http://www.aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&cPath=1&products_id=1601

100. Martin Q, Cabero MT, de Paz YdlR. Tratamiento estadístico de datos con SPSS. Madrid: Thomson; 2008.

101. Rius F, Barón F. Bioestadística. Madrid: Thomson; 2005.

102. Arellano JL, Torres NE. Estudio de la contaminación fúngica y por micotoxinas en las variedades de maíz ALSA 036W, ALSA 038W, LUCERO 901, LUCERO 807, P30G40 y UDG 600. [Tesis de Médico Veterinario y Zootecnista]. Guadalajara: Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias; 2005.

103. Castellari Cl, Cendoya M, Marcos F, Barrera V, Pacin AM. Factores extrínsecos e intrínsecos asociados a poblaciones fúngicas micotoxigénicas de granos de maíz (*Zea mays* L.) almacenados en silos bolsas en Argentina. Rev Argent Microbiol 2015;47(4): 350-359. doi: 10.1016/j.ram.2015.08.003

104. Chavarri M, Barroyeta J, Ochoa Y, Rumbos N, Alezones J. Detección de *Fusarium verticillioides* y fumonisinas en granos de maíz blanco provenientes de los estados Yaracuy y Guárico, Venezuela. Nova Scientia. 2017; 9(19): 173-84. doi: 10.21640/ns.v9i19.1035

105. Cao A, Santiago R, Ramos AJ, Marín S, Reid LM, Butron A. Environmental factors related to fungal infection and fumonisin accumulation during the development and drying of White maize kernels. Int J Food Microbiol. 2013; 164: 15-22. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.03.012

X. ANEXOS (*)

Anexo 1. Análisis por triplicado en cada muestra de granos y corontas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada y sus promedios respectivos (Elaboración propia)

Muestra	Fumonisinas en corontas (ppm) Analizadas por triplicado			Fumonisinas en coronta Promedio (ppm)	FUM en granos (ppm) Analizadas por triplicado			Fumonisinas en granos Promedio (ppm)
I3350	0.98	0.96	0.99	**0.98**	1	1.01	1.04	**1.02**
I3343	3.28	3.26	3.2	**3.25**	4.52	4.54	4.55	**4.54**
I3344	6.24	6.14	6.43	**6.27**	8.75	8.83	8.81	**8.80**
I3345	1.12	1.14	1.22	**1.16**	1.56	1.56	1.59	**1.57**
I3347	1.19	1.11	1.19	**1.16**	1.23	1.27	1.28	**1.26**
I3335	2.62	2.66	2.65	**2.64**	2.63	2.64	2.68	**2.65**
I3337	2.18	2.15	2.17	**2.17**	3.44	3.47	3.44	**3.45**
I3341	2.62	2.66	2.65	**2.64**	2.68	2.71	2.66	**2.68**
I3349	1.37	1.36	1.34	**1.36**	1.86	1.82	1.81	**1.83**
I3333	0.81	0.85	0.87	**0.84**	1.36	1.32	1.41	**1.36**
I3336	1.6	1.65	1.68	**1.64**	1.98	1.85	1.88	**1.90**
I3340	2.74	2.67	2.34	**2.58**	4.92	4.83	4.84	**4.86**
I3338	2.73	2.71	2.69	**2.71**	4.42	4.44	4.22	**4.36**
I3339	2.09	2.04	2.05	**2.06**	2.78	2.76	2.7	**2.75**
I3342	1.19	1.11	1.19	**1.16**	1.27	1.24	1.28	**1.26**
I3348	1.31	1.3	1.35	**1.32**	1.71	1.74	1.73	**1.73**
I3352	0.82	0.79	0.81	**0.81**	0.92	0.96	0.97	**0.95**
I3346	0.2	0.13	0.14	**0.16**	0.38	0.38	0.35	**0.37**
I3334	2.74	2.67	2.34	**2.58**	4.47	4.86	4.54	**4.62**
I3351	0.35	0.37	0.33	**0.35**	0.37	0.4	0.37	**0.38**

Anexo 2. Promedios de concentración de fumonisinas en granos y corontas de maíz (*Zea mays* L.) variedad morada y valor límite permitido (Elaboración propia)

Muestra	Concentración de fumonisinas en corontas (ppm)	Concentración de fumonisinas en grano (ppm)	Max. Permitido (ppm)
I3350	0.98	1.02	**2.00**
I3343	3.25	4.54	**2.00**
I3344	6.27	8.80	**2.00**
I3345	1.16	1.57	**2.00**
I3347	1.16	1.26	**2.00**
I3335	2.64	2.65	**2.00**
I3337	2.17	3.45	**2.00**
I3341	2.64	2.68	**2.00**
I3349	1.36	1.83	**2.00**
I3333	0.84	1.36	**2.00**
I3336	1.64	1.90	**2.00**
I3340	2.58	4.86	**2.00**
I3338	2.71	4.36	**2.00**
I3339	2.06	2.75	**2.00**
I3342	1.16	1.26	**2.00**
I3348	1.32	1.73	**2.00**
I3352	0.81	0.95	**2.00**
I3346	0.16	0.37	**2.00**
I3334	2.58	4.62	**2.00**
I3351	0.35	0.38	**2.00**