



Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 5 (1): 031-042. Enero-Junio, 2014
http://www.rvcta.org
ISSN: 2218-4384 (versión en línea)
© Asociación RVCTA, 2014. RIF: J-29910863-4. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

Comunicación

Efectos del gas ozono sobre cepas de *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum* productoras de fumonisinas

Effects of ozone gas on *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* strains
producers of fumonisin

Laura **Frisón**^{1*}, Priscila **Bourilhon**¹, Horacio **Ocampo**², Darío **Ponisio**², Juan **Basílico**¹

¹Cátedra de Microbiología, Departamento de Ingeniería en Alimentos, Facultad de Ingeniería Química,
Universidad Nacional del Litoral. Santiago del Estero 2829 (3000), Santa Fe, Argentina.

²Empresa Agua Ozonizada Santo Tomé (3016), Santa Fe, Argentina.

*Autora para correspondencia: lfrison@fiq.unl.edu.ar

Aceptado 18-Mayo-2014

Resumen

Las fumonisinas son producidas por especies de *Fusarium*, esencialmente por *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum* que se encuentran como contaminantes naturales en maíz y subproductos de maíz. Su consumo, se asocia con ciertas enfermedades en animales y humanos. La industria alimentaria apunta sus investigaciones al desarrollo de nuevas tecnologías y la aplicación de gas ozono, dado su elevado poder germicida y su descomposición espontánea a oxígeno, se ha convertido en un agente potencial para garantizar la seguridad microbiológica y la calidad de los alimentos. Debido a la importancia del consumo de maíz en Argentina y a la contaminación de este grano por cepas productoras de fumonisinas, se estudió la posibilidad de detoxificar maíz contaminado con esta toxina con gas ozono. Se aislaron cepas de *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum* de granos de maíz y de silaje. Se estudió la capacidad de producción de toxina de dichas cepas. La cuantificación de esta toxina se realizó mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) con el kit para fumonisinas RIDASCREEN®FAST Fumonisin siguiendo las instrucciones del fabricante. Se utilizó gas ozono a concentraciones de: 4500, 7500 y 25000 ppm_v, por tiempos de exposición de 10 y 20 minutos. Todas las cepas de *Fusarium* estudiadas fueron buenas productoras de

fumonisin. A las concentraciones y tiempos evaluados, no se observó la eliminación o disminución de la concentración de toxina. Prevenir la contaminación con estos mohos es la mejor solución para el problema de las micotoxinas, debido a que una vez producida la toxina es difícil de erradicar.

Palabras claves: capacidad toxicogénica, fumonisin, *Fusarium*, gas ozono, micotoxinas en maíz.

Abstract

Fumonisin are produced by *Fusarium* species, essentially *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* that occur as natural contaminant of corn and corn products. Consumption is associated with certain diseases in animals and humans. The food industry aims its research to develop new technologies and the application of ozone gas, given its high germicidal power and spontaneous decomposition to oxygen, has become a potential agent to ensure microbiological safety and food quality. Because of the importance of maize consumption in Argentina and contamination of the grain by fumonisin-producing strains, the possibility to detoxify corn contaminated with this toxin with ozone gas was studied. Strains of *Fusarium verticillioides* and *F. proliferatum* were isolated from maize grain and silage. The toxin production capacity of these strains was studied. The quantification of the toxin was performed by Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) kit for fumonisin RIDASCREEN®FAST Fumonisin following manufacturer's instructions. Ozone gas concentrations: 4500, 7500 and 25000 ppm_v, for exposure times of 10 and 20 minutes was used. All strains of *Fusarium* studied were good producers of fumonisin. At the concentrations and times studied, eliminating or decreasing the concentration of toxin was not observed. Prevent contamination with these molds is the best solution to the problem of mycotoxins, because once produced the toxin is difficult to eradicate.

Keywords: fumonisin, *Fusarium*, mycotoxin in corn, ozone gas, toxicogenic capacity.

INTRODUCCIÓN

El género *Fusarium* está ampliamente distribuido tanto en suelos como en sustratos orgánicos. Presenta especies fitopatógenas que causan graves enfermedades principalmente en los cereales. Bajo condiciones ambientales favorables, colonizan sintomáticamente o asintomáticamente un sustrato como maíz pudiendo conducir esta interacción a la producción de micotoxinas. Su importancia no se debe solo a la pérdida de las cosechas, sino también a la biosíntesis de micotoxinas que pueden estar presentes en los cereales y sus productos, produciendo síndromes de intoxicación en animales y llegando a la cadena alimentaria de los humanos (Cabañes *et al.*, 2007). Las micotoxinas asociadas a este género

son las fumonisin (FB), zearalenona (ZEA) y los tricotecenos, incluyendo es este grupo el diacetoxiscirpenol (DAS), la toxina T-2, deoxinivalenol (DON) y el nivalenol (NIV). Se asocian a cuadros de toxicidad celular, efectos sobre el crecimiento y el desarrollo de los animales, e incluso al cáncer en humanos y animales, por lo que son de gran interés en el sector agrícola y alimentario (Valle, 2011).

Fusarium verticillioides se encuentra usualmente en zonas tropicales, y zonas templadas y húmedas del mundo (Leslie y Summerell, 2006). Esta especie es un patógeno endémico de maíz, que causa pudrición del tallo durante todas las etapas de desarrollo de la planta. También se ha documentado como contaminante de las semillas oleaginosas: girasol, amaranto y soya, también especias,

como el cilantro, fenogreco, cardamomo y pimienta (Pitt y Hocking, 2009).

La especie *F. proliferatum*, al igual que *F. verticillioides*, es un problema significativo en la contaminación de plantas de maíz en toda Latinoamérica y el resto del mundo, siendo cada vez más importante en países de Europa (Bacon y Nelson, 1994; Desjardins, 2006; Leslie y Summerell, 2006). *F. proliferatum* también fue encontrado como contaminante de sorgo, nueces de pino, arroz y frijoles (Marín *et al.*, 1999).

Las FB son neurotóxicas, nefrotóxicas y hepatotóxicas. Causan edema pulmonar y cerebral, y lesiones cardíacas. Los órganos afectados son cerebro, pulmones, hígado, riñones y corazón. Los animales más sensibles son los equinos y los cerdos, aunque algunos autores informan de síntomas en ovejas, carneros y primates no humanos (Afsah-Hejri *et al.*, 2013).

El cultivo del maíz ocupa un lugar importante en la agricultura de Argentina. Los principales hongos toxicogénicos contaminantes de este cereal y alimentos formulados a base del mismo pertenecen a los géneros *Fusarium* (*F. verticillioides*, *F. graminearum*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum*), *Penicillium* (*P. rubrum*, *P. purpurogenum*), *Alternaria* (*A. alternata*) y *Aspergillus* (*A. flavus*) (FAO/WHO, 2001; WHO/FAO, 2002; Aziz *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2007; García-Aguirre y Martínez-Flores, 2010).

La industria alimentaria apunta sus investigaciones al desarrollo de nuevas tecnologías y la aplicación de gas ozono, dado su elevado poder germicida y su descomposición espontánea a oxígeno, se ha convertido en un agente potencial para garantizar la seguridad microbiológica y la calidad de los alimentos. Se considera que es un sanitizante de buena eficiencia que requiere tiempos de contacto bastante cortos. Inactiva enzimas respiratorias y destruye la membrana celular. Por su capacidad para dar reacciones de adición sobre los dobles enlaces y por su

tendencia a transformarse de nuevo en oxígeno molecular, esta tecnología es limpia, segura y eficiente y no agrede al medio ambiente ya que deja como residuo moléculas de oxígeno. Estos aspectos favorecen su empleo en la industria alimentaria (Kadre *et al.*, 2001). El potencial del ozono en la industria de alimentos incluye la reducción de microorganismos, extensión de la vida útil de productos como pescado, carne, frutas y reducción de niveles de contaminación de ambientes de envasado de alimentos.

Varios autores coinciden en que el ozono, tanto en fase acuosa como gaseosa, es un potente germicida capaz de eliminar bacterias, virus, hongos y quistes de parásitos, sin provocar la formación de compuestos tóxicos ni dejar residuos, ya que se descompone en oxígeno, aspecto ventajoso frente a otros sanitizantes comúnmente empleados para estos fines (Kim *et al.*, 1999; Rice, 1999; Ricaurte-Galindo, 2006).

Debido a que la contaminación con micotoxinas es un problema de grandes repercusiones económicas y de la salud, y que el cultivo de maíz ocupa un lugar importante en la agricultura de Argentina, se propuso como objetivo de este trabajo la posibilidad de detoxificar con gas ozono maíz contaminado con fumonisinas, ya que es una tecnología limpia y que no agrede al medio ambiente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Aislamiento e identificación de cepas de *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*

Se aislaron cepas de *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum* durante el período de Marzo-Abril del año 2012 a partir de 40 muestras de granos de maíz y 40 de silajes. Las muestras fueron provistas por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria Rafaela de la Provincia de Santa Fe, Argentina. Las mismas fueron conservadas en freezer (-20 °C), por su alto contenido de humedad, hasta el

momento de su análisis. Se colocaron granos de maíz y trozos del ensilado sobre placas con medio Agar Extracto de Malta ('Malt Extract Agar', MEA), al cual se le agregó cloranfenicol (100 mg/L) para inhibir el crecimiento bacteriano (Beuchat y Cousin, 2001). Estas placas se incubaron a 28 °C por 7 días. Luego se realizó el aislamiento y purificación de las colonias que presentaron características propias del género *Fusarium* y se procedió a su identificación a partir de características macro y microscópicas, según las claves de Nelson *et al.* (1983).

Mediante una inspección microscópica con un microscopio Leica, modelo CM E (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) y un aumento de 40 X, se determinaron cuales aislados pertenecían al género *Fusarium* por la presencia de macroconidios. Las colonias coincidentes con este género (flocosas, color rosa a morado, naranja pálido o blanco) se repicaron a medio Agar Spezieller Nährstoffarmer (SNA) y Agar Papa Dextrosa (PDA). Se incubaron por 7 días a temperatura ambiental bajo acción de luz para favorecer la esporulación del moho y así confirmar la identidad del género. Luego se realizó la identificación de cada especie aislada. Todos los cultivos utilizados fueron iniciados desde un conidio simple (cultivo monospórico) (Zapata-Basílico *et al.*, 2010).

Para la identificación se observaron las características microscópicas propias de las especies *F. verticillioides* y *F. proliferatum* pertenecientes a la sección 10, llamada sección Liseola (Nelson *et al.*, 1983). Los caracteres para determinar las secciones y las especies se basan en las características del cultivo (velocidad de crecimiento, color del micelio aéreo, color del reverso, presencia de pigmentos solubles, color de masas de conidios); en las características de los macroconidios a partir de los esporodoquios (tamaños, forma del conidio, forma de las células pie y apical); en las características de los microconidios a partir del micelio aéreo (presencia, forma, agrupación);

en los conidióforos (monofialides, polifialides) y en los clamidoconidios (presencia, ausencia).

Todas las cepas de *Fusarium* aisladas se conservaron a 4 °C en crioviales conteniendo agar-agua al 0,2 % (m/v) hasta su posterior análisis.

Capacidad toxicogénica de las cepas aisladas

Se siguió la metodología de Liu *et al.* (1996), sustituyendo el arroz por granos de maíz. Se colocaron 100 gramos de este sustrato en matraz Erlenmeyer de 250 mL, uno para cada cepa en estudio. Los granos se hidrataron con 30 mL de agua destilada y se esterilizaron en autoclave portátil de acero inoxidable Labklass, YXQ-280MD a 121 °C durante 30 minutos. Posteriormente se inoculó el maíz esterilizado con 1 mL de la suspensión de la cepa en estudio. Se incubaron 30 días a 28 °C agitando una vez al día para favorecer el desarrollo uniforme. Cada análisis se realizó por duplicado.

La determinación de FB se realizó mediante ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA) con el kit para fumonisinas RIDASCREEN®FAST Fumonisin (R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania). Este es un inmunoensayo enzimático competitivo para el análisis cuantitativo de FB en cereales y piensos.

Preparación de las muestras de maíz para la cuantificación de las fumonisinas

Para la preparación de las muestras se siguieron las instrucciones del fabricante del kit comercial. Para ello se pesaron 25 gramos de muestra de maíz (inoculado con las cepas en estudio e incubado durante 30 días a 28 °C) y se trituraron en un molinillo a cuchillas eléctrico Dalvo, modelo MC/I (Tecno Dalvo, Santa Fe, Argentina), luego se realizó la extracción de la

toxina con 125 mL de metanol:agua (70:30) y se agitó vigorosamente durante 3 minutos en mesa rotativa, marca BOECO, modelo OS-10 (Boeckel + Co (GmbH + Co), Alemania). Se procedió al filtrado de la misma a través de papel de filtro WathmanTM N° 1 (Whatman International Limited, UK). Se diluyó el filtrado 1:14 y se procedió a la cuantificación de FB.

Equipo generador de gas ozono

El equipo que se utilizó en este trabajo para la generación del gas ozono fue proporcionado y operado por personal de la firma Agua Ozonizada Santo Tomé (Santa Fe, Argentina). El gas fue producido mediante la técnica de descarga eléctrica tipo corona (Frisón *et al.*, 2013). Las cantidades de ozono generadas dependen de las condiciones de trabajo, cantidad de oxígeno que ingresa al equipo, temperatura ambiental, caudal y radiación ultravioleta. Para la medición de la concentración de ozono en fase gas se utilizó Iodometría. Se hizo burbujear un volumen conocido de un gas con ozono dentro de una solución de yoduro de potasio (KI). La medición de ozono residual en fase líquida, se realizó mezclando una muestra del líquido a medir con la solución de KI. La reacción produce yodo (I_2), el cual se tituló inmediatamente con tiosulfato de sodio ($Na_2S_2O_3$) hasta color amarillo pálido, utilizando almidón como indicador. La concentración de ozono ($mg\ O_3/min$) que produjo el equipo se calculó por el consumo de $Na_2S_2O_3$ (Beutelspacher-Santiago y Calderón-Ancona, 2005).

Con un caudal de 2 L/min, los mg de O_3 se convierten en microlitros (μL) aplicando la ecuación de los gases: $P \cdot V = n \cdot R \cdot T$ y dividiendo por el caudal, para obtener las concentraciones en partes por millón volumétricas (ppm_v).

Las concentraciones de gas ozono utilizadas en los ensayos fueron 4500 ppm_v , 7500 ppm_v y 25000 ppm_v y los tiempos de exposición fueron 10 y 20 minutos. Así, 4500

ppm_v equivalen a una producción de gas ozono de 18 mg/min , 7500 ppm_v a 30 mg/min y 25000 ppm_v a 100 mg/min .

Cuantificación de la concentración de la toxina luego de la detoxificación con gas ozono

Se trabajó de la misma manera que para el estudio de la capacidad de producción de FB por parte de los aislados. Posteriormente se expuso el maíz al gas ozono a concentraciones y tiempos determinados, en la cámara hermética del equipo. Luego se procesaron las muestras y se procedió a la cuantificación de las FB.

Tratamiento estadístico de los datos

Para analizar el efecto de los diferentes tratamientos se realizó Análisis de la Varianza (ANOVA) y Contraste de Rangos Múltiple, con un nivel de confianza de 95,0 %, utilizando el software Statgraphics® Plus, versión 5.1 (Statistical Graphics Corporation, Warrenton, VA, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Aislamiento e identificación de cepas de *Fusarium proliferatum* y *F. verticillioides*

Se obtuvieron 15 aislados del género *Fusarium*, 5 pertenecieron a la especie *F. proliferatum* var. *proliferatum* (Nirenberg y O'Donnell, 1998) (A1, A2, A3, A8 y A9) y 10 a *F. verticillioides* (Seifert *et al.*, 2003) (A4, A5, A6, A7, A10, A11, A12, A13, A14, A15).

Capacidad toxicogénica de las cepas aisladas

Al realizar el ELISA con el kit para FB RIDASCREEN®FAST Fumonisin (R-Biopharm AG), se observó que de los 15 aislados obtenidos, solo 7 resultaron ser productores de FB; 3 pertenecientes a la especie

F. proliferatum (A1, A2 y A3) y 4 a la especie *F. verticillioides* (A4, A5, A6 y A7), indicando la gran incidencia de estos mohos en maíz y silajes en la zona del litoral argentino (ciudad de Santa Fe).

En el Cuadro 1 se pueden observar los resultados obtenidos de los promedios de las 2 repeticiones realizadas (cada una por duplicado). Los aislados N° 8 al 15 no produjeron FB por lo que no figuran en el cuadro.

Cuadro1.- Concentración de fumonisinas (FB) por el método de ELISA.

Aislado	Concentración FB (ppm)
A1	10,42
A2	12,68
A3	10,80
A4	20,00
A5	15,95
A6	12,06
A7	16,69

Las concentraciones de FB producidas por estos aislados se encontraron entre 10,42 y 20,00 ppm (mg/kg). Estos resultados concuerdan parcialmente con datos publicados por Mallmann y Dilkin (2007) en su libro, sobre diferentes países como Argentina, Uruguay, Estados Unidos, Brasil y del continente africano. Ellos observaron que de 64 muestras de alimentos y 50 de híbridos de maíz analizadas en Uruguay y Argentina, respectivamente, el 50 % de las muestras de alimentos estaban contaminadas con FB en concentraciones de 0,005 a 6,34 ppm, mientras que el 100 % de las muestras de híbridos de maíz tenían entre 0,18 a 27,05 ppm. Además, en el maíz de Argentina encontraron contaminaciones con FB en el orden de 0,04 a 9,95 ppm. También el maíz proveniente del sur

de África presentaba concentraciones de FB entre 44 y 83 ppm e incluso hasta 117 ppm. En Estados Unidos las concentraciones de FB estaban entre 7,20 y 8,85 ppm, y la presencia de esta micotoxina en alimentos para cerdos y caballos había sido detectada en concentraciones de 0,2 a 330 ppm. En Brasil la mayor incidencia de contaminación con FB en cereales y otros alimentos se encontró en los estados del sur. El porcentaje de muestras positivas oscilaron entre el 50 y 90 %, y las contaminaciones variaron entre 0,005 y 15 ppm, sin embargo, el valor medio fue inferior a 1 ppm, a pesar de que también se puedan encontrar valores de contaminación superiores a 50 ppm de fumonisina B1.

Cuantificación de la concentración de la toxina luego de la detoxificación con gas ozono

En las Figs. 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se muestran los resultados obtenidos en la cuantificación de la toxina para los aislados de *F. proliferatum* y *F. verticillioides* luego de la exposición a las diferentes condiciones de gas ozono estudiadas.

El ANOVA pudo establecer que no existieron diferencias significativas ($p = 0,1268$) para las concentraciones de ozono y los tiempos ensayados, con un nivel de confianza del 95,0 %.

El Contraste de Rangos Múltiples permitió identificar 2 grupos homogéneos. Los aislados correspondientes a *F. proliferatum* (A1, A2 y A3) formaron un grupo con medias homogéneas y *F. verticillioides* (A4, A5, A6 y A7) constituyeron el otro grupo.

Al aumentar la concentración de gas ozono de 4500 ppm_v a 25000 ppm_v, no se produjo una disminución o eliminación de la toxina.

Al analizar los valores obtenidos de concentración de FB se pudo observar que hubo pequeñas variaciones en la concentración de FB a medida que se incrementó la concentración de gas ozono y el tiempo de exposición al mismo

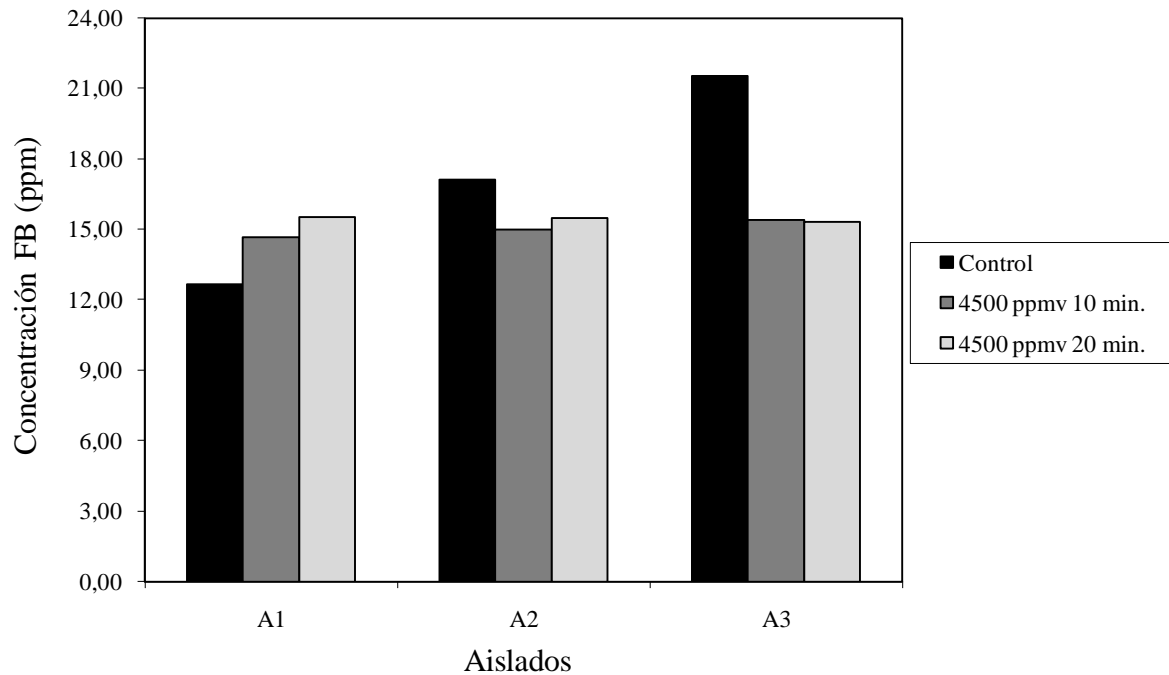


Figura 1.- Concentración de fumonisinas (FB) en aislados de *F. proliferatum* luego de exposición a gas ozono 4500 ppm_v (10 y 20 minutos) y comparación con el control.

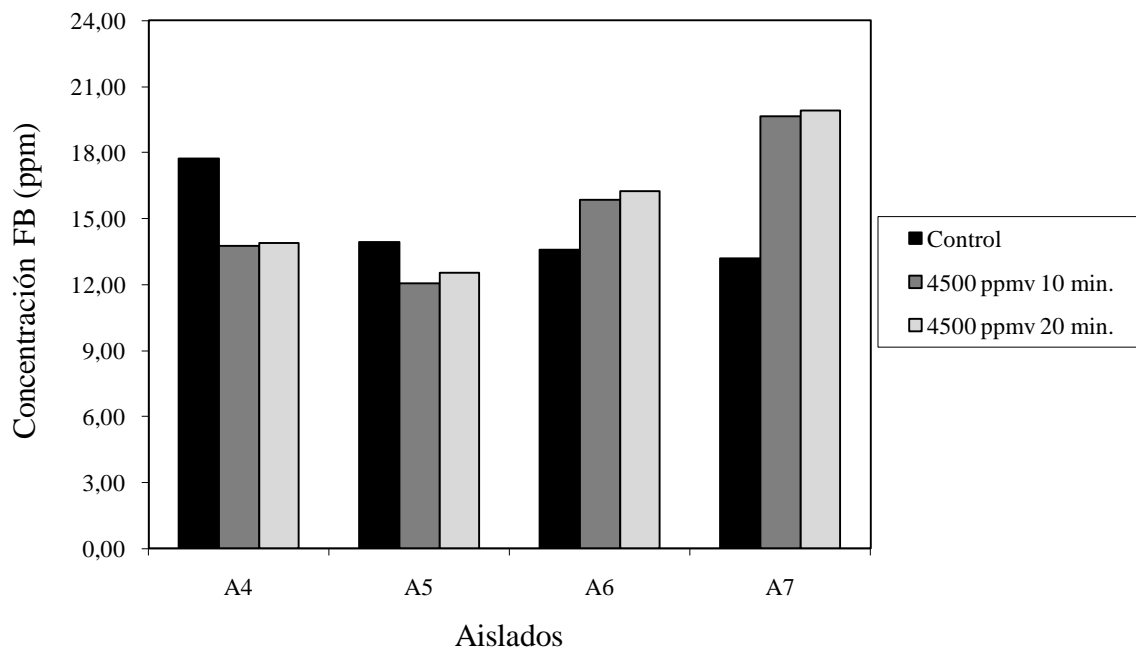


Figura 2.- Concentración de fumonisinas (FB) en aislados de *F. verticillioides* luego de exposición a gas ozono 4500 ppm_v (10 y 20 minutos) y comparación con el control.

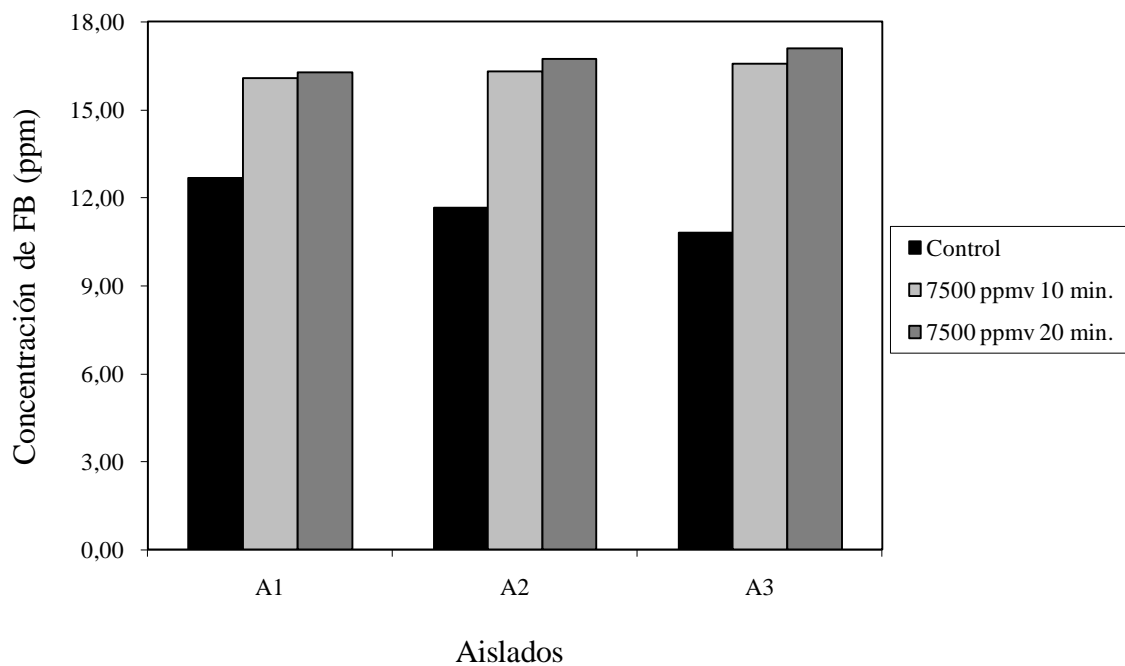


Figura 3.- Concentración de fumonisinas (FB) en aislados de *F. proliferatum* luego de exposición a gas ozono 7500 ppm_v (10 y 20 minutos) y comparación con el control.

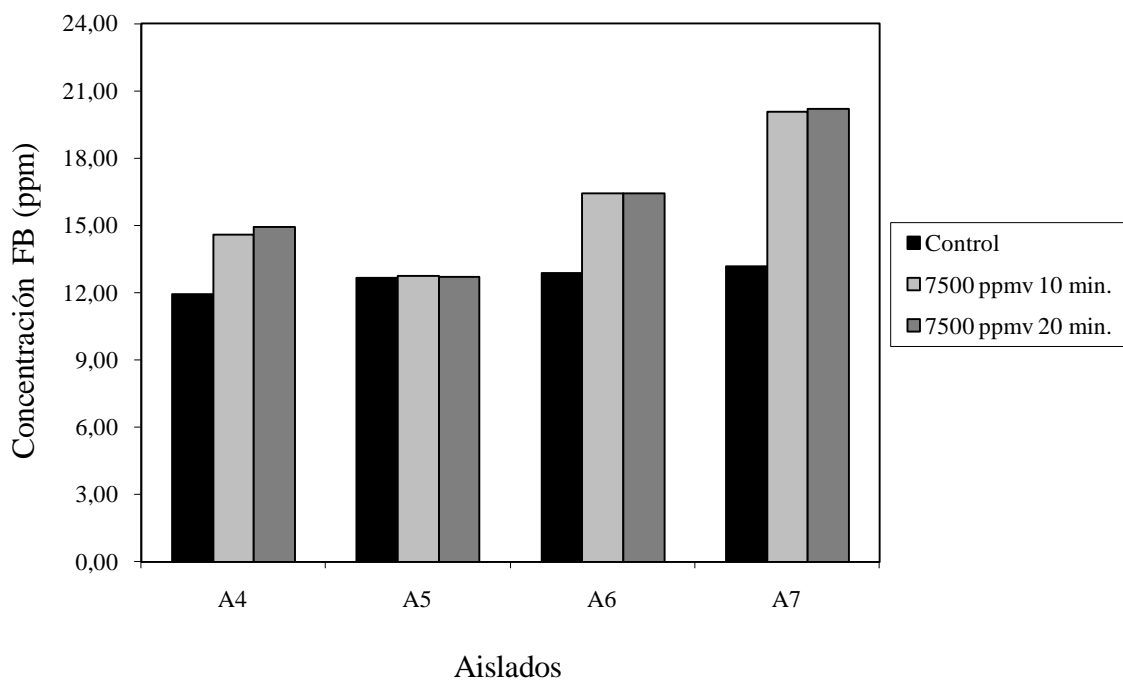


Figura 4.- Concentración de fumonisinas (FB) en aislados de *F. verticillioides* luego de exposición a gas ozono 7500 ppm_v (10 y 20 minutos) y comparación con el control.

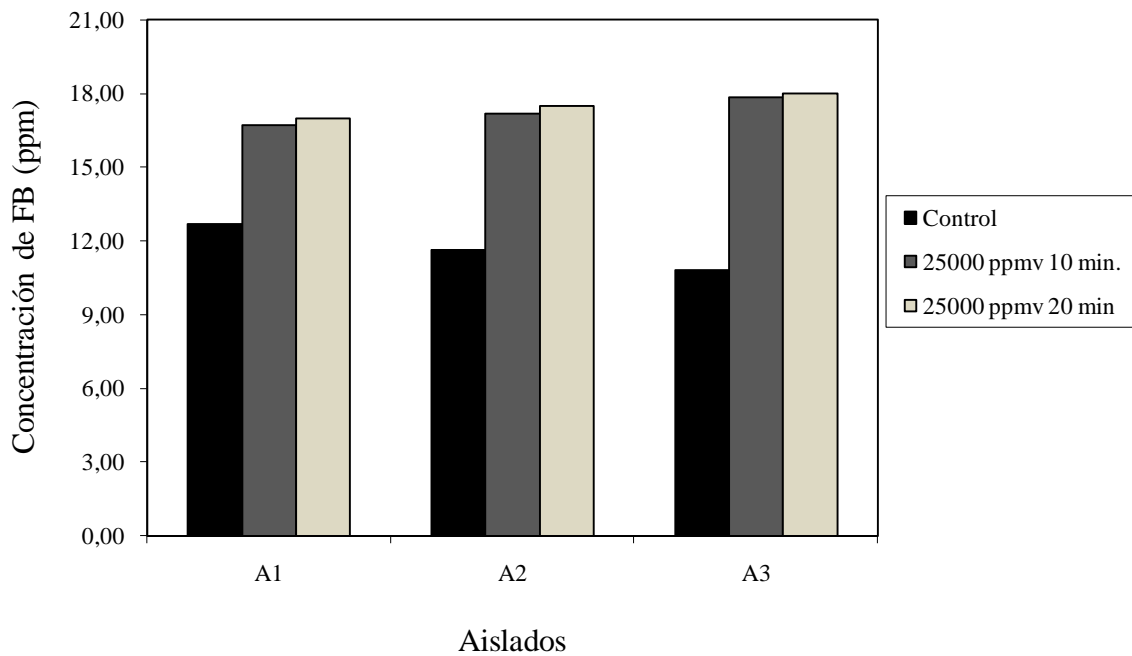


Figura 5.- Concentración de fumonisinas (FB) en aislados de *F. proliferatum* luego de exposición a gas ozono 25000 ppm_v (10 y 20 minutos) y comparación con el control.

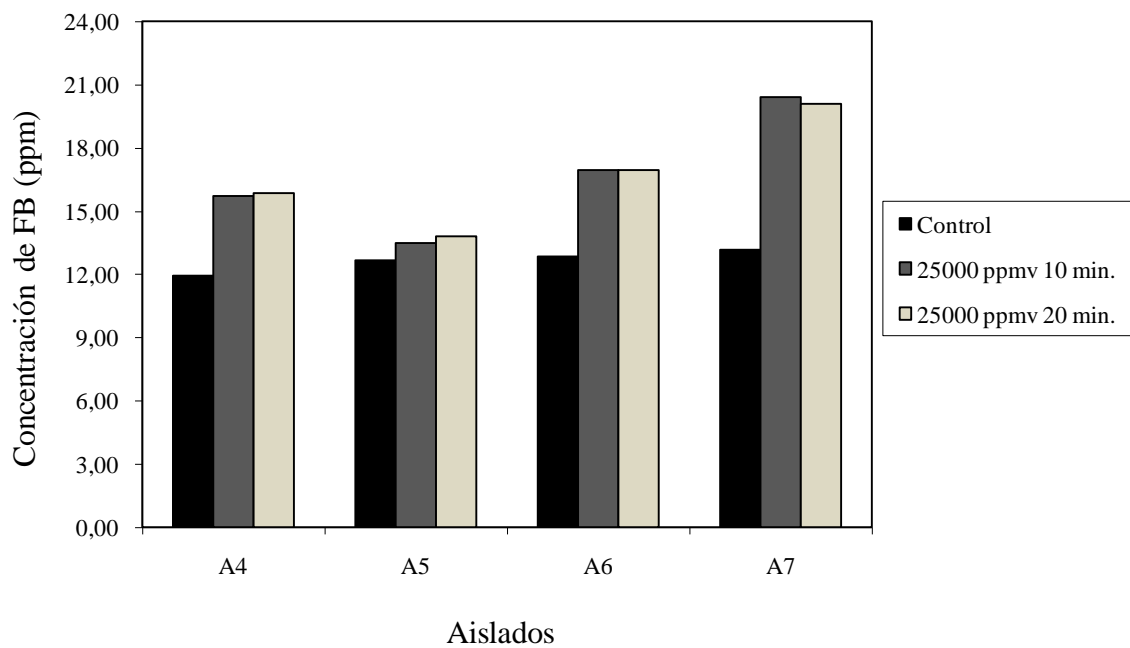


Figura 6.- Concentración de fumonisinas (FB) en aislados de *F. verticillioides* luego de exposición a gas ozono 25000 ppm_v (10 y 20 minutos) y comparación con el control.

(entre 10 y 20 min). Debido a que no existió producción espontánea de FB por parte de los aislados, estos pequeños aumentos podrían deberse al hecho de que el gas ozono es un potente oxidante, y podría haber producido interferencias con el kit comercial utilizado para cuantificar las FB.

Existen estudios realizados para aflatoxinas (AFLA); como los de Prudente y King (2001), quienes mostraron que maíz contaminado (10-12 % en peso) y tratado con ozono gas, a un caudal de 2 L/min durante 96 h, redujo los niveles de AFLA de 0,586 ppb a 0,047 ppb. Akbas y Ozdemir (2006) lograron disminuir las concentraciones de AFLA en granos de pistachos en un 23-24 % utilizando concentraciones de gas ozono de 9 ppm a tiempos de exposición de 420 min (a 20 °C y 70 % de humedad relativa). Una reducción en las concentraciones de AFLA aproximadamente de un 25-30 %, en maní contaminado, luego de la exposición a ozono gas a concentraciones de 21 ppm (mg/L) durante un tiempo de exposición de 96 h, fue alcanzada por de Alencar *et al.* (2012). Inan *et al.* (2007) observaron una reducción del 80 y 93 % de AFLA en pimientos rojos (*Capsicum annuum*), con concentraciones de ozono gas de 33 y 66 ppm (mg/L), respectivamente, durante 60 minutos de exposición.

McKenzie *et al.* (1997) estudiaron la degradación y detoxificación de soluciones acuosas de micotoxinas (aflatoxinas B1, B2, G1 y G2, ácido ciclopiazónico, fumonisina B1, ocratoxina A, patulina, ácido secalónico y zearalenona) en presencia de altas concentraciones de O₃ (2, 10 y 20 % en peso) durante un período de 5 minutos y observaron mediante la cuantificación por HPLC que aflatoxina B1 y G1 fueron degradadas rápidamente usando 2 % de O₃; mientras que aflatoxina B2 y G2 eran más resistentes a la oxidación requiriendo niveles mayores de O₃ (20 %). Para el estudio de fumonisina B1 (después de la reacción con O₃), observaron que esta toxina se degradaba rápidamente (15 s) con

la formación de nuevos productos y destacaron que la degradación de fumonisina B1 no se correlacionaba con la detoxificación, ya que las soluciones de esta toxina tratadas con O₃ presentaron valores positivos para 2 bioensayos diferentes realizados.

Prevenir la contaminación con estos mohos en granos de maíz y ensilados es la mejor solución para el problema de las micotoxinas, ya que una vez que se produjo la toxina es difícil de erradicar (Marín *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIÓN

- Se aislaron 15 cepas de las especies *Fusarium proliferatum* y *F. verticillioides* a partir de 40 muestras de maíz y 40 de ensilados.
- De los 15 aislados estudiados, 7 resultaron ser productores de fumonisinas; 3 pertenecientes a *F. proliferatum* y 4 a *F. verticillioides*.
- La concentración de fumonisinas para todos los aislados productores, luego de 30 días a 28 °C, se encontraba entre 10,42 y 20,00 ppm.
- A las concentraciones y tiempos ensayados de gas ozono, no se observó la disminución o eliminación de la concentración de fumonisinas.
- Prevenir la contaminación con estos mohos en granos de maíz y ensilados es la mejor solución para el problema de las micotoxinas, ya que una vez que se produjo la toxina es difícil erradicarla.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la financiación de este trabajo a la Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina, a través del Programa PICT Bicentenario y a su Director Dr. Juan Carlos Basílico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afsah-Hejri, L.; Jinap, S.; Hajeb, P.; Radu, S. and Shakibazadeh, Sh. 2013. A review on mycotoxins in food and feed: Malaysia case study. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 12(6):629-651.
- Akbas, Meltem Yesilcimen and Ozdemir, Murat. 2006. Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86(13):2099-2104.
- Aziz, Nagy H.; Mattar, Zakaria Ahmed and Mahrous, Souzan Rousdy. 2006. Contamination of grains by mycotoxin-producing molds and mycotoxins and control by gamma irradiation. *Journal of Food Safety*. 26(3):184-201.
- Bacon, Charles W. and Nelson, Paul E. 1994. Fumonisin production in corn by toxigenic strains of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *Journal of Food Protection*. 57(6):514-521.
- Beuchat, L.R. and Cousin, M.A. 2001. Yeast and molds. In *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*. (pp. 209-215). (4th. ed.). Washington D. C., USA: American Public Health Association.
- Beutelspacher-Santiago, Erwin y Calderón-Ancona, José María. 2005. Diseño y construcción de un generador de ozono para aplicaciones de purificación de agua. Tesis de Maestría. Centro Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico (CENIDET), Cuernavaca, Morelos, México.
- Cabañes, F Javier; Abarca, M. Lourdes; Bragulat M. Rosa y Castellá, Gemma. 2007. Especies productoras de micotoxinas. En *Micotoxinas en alimentos*. (pp. 29-61). España: Ediciones Díaz de Santos.
- de Alencar, Emandes Rodrigues; Faroni, Lêda Rita D'Antonino; Soares, Nilda de Fátima Ferreira; da Silva, Washington Azevedo and Carvalho, Marta Cristina da Silva. 2012. Efficacy of ozone as a fungicidal and detoxifying agent of aflatoxins in peanuts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 92(4):899-905.
- Desjardins, Anne E. 2006. *Fusarium mycotoxins*. Chemistry, genetics and biology. St. Paul, MN, USA: The American Phytopathological Society (APS Press). 260 p.
- FAO/WHO. 2001. Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization. Summary and conclusions. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Fifty-six meeting. 6-15 February. Geneva, Switzerland.
- Frisón, Laura; Vissani, Marcos; Ocampo, Horacio; Ponisio, Darío y Basílico, Juan. 2013. Efectos del agua ozonizada sobre microorganismos patógenos y alterantes de frutas y hortalizas. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 4 (1):119-131.
- García-Aguirre, Genoveva y Martínez-Flores, Rebeca. 2010. Especies de *Fusarium* en granos de maíz recién cosechado y desgranado en el campo en la región de Ciudad Serdán, Puebla. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 81(001):15-20.
- Inan, F.; Pala, M. and Doymaz, I. 2007. Use of ozone in detoxification of aflatoxin B₁ in red pepper. *Journal of Stored Products Research*. 43(4):425-429.
- Kadre, M.A.; Yousef, A.E. and Kim, J.G. 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of Food Science*. 66(9):1242-1252.
- Kim, J.G.; Yousef, A.E. and Dave, S. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. *Journal of Food Protection*. 62(9):1071-1087.

- Leslie, John F. and Summerell, Brett A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Ames, IA, USA: Blackwell Publishing.
- Liu, J.; Yang, Z.J. and Meng, Z.H. 1996. The isolation, purification and identification of fumitremorgin B produced by *Aspergillus fumigatus*. Biomedical and Environmental Sciences. 9(1):1-11.
- Mallmann, Carlos A. e Dilkin, Paulo. 2007. Micotoxinas e micotoxicoses em suínos. Santa Maria, Brasil: Sociedade Vicente Pallotti-Editora.
- Marín, S.; Magan, N.; Bellí, N.; Ramos, A.J.; Canela, R., Sanchis, V. 1999. Two-dimensional profiles of fumonisin B1 production by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* in relation to environmental factors and potential for modelling toxin formation in maize grain. International Journal of Food Microbiology. 51(2-3):159-167.
- Marín, Sonia; Hodžić, Irzada; Ramos, Antonio J. and Sanchis, V. 2008. Predicting the growth/no-growth boundary and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* in pistachio nuts. Food Microbiology. 25(5):683-689.
- McKenzie, K.S.; Sarr, A.B.; Mayura, K.; Bailey, R.H.; Miller, D.R.; Rogers, T.D.; Norred, W.P.; Voss, K.A.; Plattner, R.D.; Kubena, L.F. and Phillips, T.D. 1997. Oxidative degradation and detoxification of mycotoxins using a novel source of ozone. Food and Chemical Toxicology. 35(8):807-820.
- Nelson, P.; Toussoun, T. and Marasas, W. 1983. *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. USA: The Pennsylvania State University Press.
- Nirenberg, Helgard I. and O'Donnell, Kerry. 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. Mycologia. 90(3):434-458.
- Pitt, John I. and Hocking, Ailsa D. 2009. Fungi and food spoilage. (3th. ed.). New York, USA: Springer Science + Business Media, LLC.
- Prudente, A.D. Jr. and King, J.M. 2001. Efficacy and safety evaluation of ozone to degrade aflatoxin in corn. In 2001 IFT (Institute of Food Technologists) Annual Meeting. June 23-27. New Orleans, Louisiana, USA.
- Ricaurte-Galindo, Sandra Lissette. 2006. Ozonoterapia, una opción para el sector agropecuario!!!. REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria. VII(10):100604.
- Rice, Rip G. 1999. Ozone in the United States of America - State of the art. Ozone: Science & Engineering Journal. 21(2):99-118.
- Seifert, Keith A.; Aoki, Takayuki; Baayen, Robert P.; Brayford, David; Burgess, Lester W.; Chulze, Sofia; Gams, Walter; Geiser, David *et al.* 2003. The name *Fusarium moniliforme* should no longer be used. Mycological Research. 107(6):643-644.
- Valle, Héctor. 2011. Mohos productores de micotoxinas. En Micotoxinas y micotoxicosis. (pp. 19-44). Madrid, España: A. Madrid Vicente, Ediciones.
- WHO/FAO. 2002. Word Health Organization/Food and Agriculture Organization of the United Nations. Evaluation of certain mycotoxins in food. (Fifty-six report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series, N° 906. Geneva, Switzerland.
- Zapata-Basilico, María Luz; Pose, Graciela; Ludemann, Vanesa; Fernandez-Pinto, Virginia E.; Aríngoli, Elena E.; Ritieni, Alberto and Basilico, Juan Carlos. 2010. Fungal diversity and natural occurrence of fusaproliferin, beauvericin, deoxynivalenol and nivalenol in wheat cultivated in Santa Fe Province, Argentina. Mycotoxin Research. 26(2):85-91.
- Zhang, Qiao; Yang, Shengli; Dong, Ziming; Pei, Liucheng; Ding, Lanping; Song, Aiyun; Gong, Ya'ou; Liu, Guiting and Xue, Lexun. 2007. Determination of grain contaminated by *Alternaria alternata* and exposure of its toxins for residents in the high incident area of esophageal cancer. Life Science Journal. 4(4):25-28.