

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**DETECCION DE AFLATOXINAS EN EL MAIZ
ALMACENADO EN SILOS**

INFORME FINAL DE TESIS

PRESENTADO POR

JOSE FELIX MENDIZABAL PINTO

PARA OPTAR EL TITULO DE

QUIMICO BIOLOGO

GUATEMALA, AGOSTO DEL 2000

DL
06
T(2052)

JUNTA DIRECTIVA

FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANA: Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta

SECRETARIO: Lic. Oscar Federico Nave Herrera

VOCAL I: Dr. Oscar Manuel Cobar Pinto

VOCALII: Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

VOCAL III: Lic. Rodrigo Herrera San José

VOCAL IV: Br. César Alfredo Flores López

VOCAL V: Br. Manuel Anibal Leal Gómez

ACTO QUE DEDICO

- | | |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A DIOS | Fuente de sabiduría. Porque gracias a El culmino mi carrera. |
| A MIS PADRES | José Félix Mendizábal Leiva y Mercedes Pinto de Mendizábal (QEPD), en agradecimiento por su amor , esfuerzos y sacrificios. |
| A MI ESPOSA | Genny Danisa , por su amor y apoyo. |
| A MIS HIJAS | Claudia María y María Denisse, por ser motivo para mi superación. |
| A MIS HERMANOS | Elba, Sonia. Luz Amalia, Estela, Marta, Esperanza (QEPD), Yolanda y Manuel, con mucho cariño. |
| A TODA MI FAMILIA | Cariñosamente. |

AGRADECIMIENTOS

A la Licenciada Karin Herrera, por su asesoría y apoyo en la realización de esta tesis.

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron en mi formación profesional.

INDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCION	3
3. ANTECEDENTES	5
3.1 HISTORIA Y ORIGEN DEL MAÍZ.....	5
3.2 ESTRUCTURA DEL GRANO DE MAIZ.....	6
3.3 SISTEMA DE POST COSECHA DEL MAIZ.....	6
3.3.1 COMPORTAMIENTO DEL SISTEMA POST COSECHA DEL MAIZ.....	7
3.3.2 PERDIDAS POR BIODETERIORO.....	7
3.3.2.1 SECADO DEL MAIZ	7
3.3.2.2 ALMACENAMIENTO DEL MAIZ	8
3.3.2.3 HUMEDAD DEL GRANO.....	9
3.3.2.4 TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO.....	10
3.3.2.5 AIREACION EN EL SILO	11
3.4 FACTORES BIOLÓGICOS EN LA FORMACION DE AFLATOXINAS EN MAIZ	12
3.4.1 INSECTOS.....	12
3.5 AFLATOXINAS	13
3.6 AGENTE ETIOLOGICO.....	15
3.7 PATOLOGIA DE AFLATOXINAS.....	16
3.8 METODOS DE DETERMINACION	18
3.9 DESCRIPCION DEL AREA DE MUESTREO.....	20
4. JUSTIFICACION	21
5. OBJETIVOS	22
6. HIPOTESIS.....	23
7. MATERIALES Y.1 METODOS	24
7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:	24
7.2 MEDIOS:.....	24
7.2.1 Recursos Humanos:.....	24
7.2.2 Recursos Institucionales:.....	25
7.2.3 Recursos Materiales:.....	25
7.2.3.1 Equipo:.....	25
7.2.3.2 Materiales:.....	25
7.2.3.3 Reactivos:.....	25
7.3 PROCEDIMIENTO	26
7.3.1 EXTRACCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA.....	26
7.3.2 PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA	27
7.3.3 LECTURA DE RESULTADOS	30
7.3.4 INTERPRETACION DE RESULTADOS.....	30
7.3.5 PRECAUCIONES.....	31
7.3.6 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO	33
7.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACION	35
7.4.1 Prueba Estadística:	35

7.4.2 Tamaño de Muestra:.....	35
7.4.3 Método de Muestreo:.....	36
8. RESULTADOS	37
9. DISCUSION DE RESULTADOS	40
10. CONCLUSIONES.....	43
11. RECOMENDACIONES.....	44
12. REFERENCIAS.....	45
13. ANEXOS	51

1. RESUMEN

Las actividades agrícolas en el área de granos básicos representa la ocupación más importante que se desarrolla a nivel de pequeños y medianos agricultores en el medio rural, conociendo que el consumo de maíz y subproductos representa el 67 por ciento en la población rural y el 33 por ciento en la población urbana, es por ello que la calidad en el almacenamiento es indispensable y tanto el agricultor como el industrial deben conocer estándares adecuados para evitar pérdidas económicas por un inadecuado almacenamiento en silos.

Este estudio se realizó en el departamento de Retalhuleu con el fin de establecer los estándares adecuados para lograr mantener por mayor tiempo el nivel de vida del maíz almacenado en silos, tomando como parámetros la humedad y la temperatura como factores predisponentes para la formación de aflatoxinas. Para ello se utilizaron dos silos, el tratamiento fue el mismo en el momento en el que se almacenó el grano; el silo controlado recibía aireación para mantener una humedad de (13.5 % - 14%) y una temperatura de (15°C – 25°C) con el fin de comprobar que en estas condiciones este silo daría negativa la presencia de aflatoxinas; comparándose éste con un silo no controlado el cual no recibió aireación para que la humedad y la temperatura variaran, de esa manera obtener una mayor probabilidad de encontrar aflatoxinas. Los resultados en las primeras seis semanas en ambos silos fueron muy similares en lo que respecta a la formación de aflatoxinas ya que los resultados fueron negativos.

Un factor importante que se controló fue la humedad relativa del ambiente externo (87 por ciento) además la humedad del grano donde ya se notaba una ligera diferencia entre silos. En la sexta y séptima semanas se tuvieron diferencias marcadas, ya que en el silo no controlado se tuvo la presencia de mohos, esto debido al calentamiento del grano y que la humedad mantenía un incremento leve, mientras que en el silo controlado la humedad estaba descendiendo levemente y la temperatura se mantenía. En ambos silos no se detectó presencia de aflatoxinas.

En la octava semana la diferencia fue más marcada debido a que la temperatura del grano fue mayor en el silo no controlado, estando mínimamente arriba del rango superior de los parámetros propuestos, la presencia de aflatoxinas fue positiva indicando que la concentración fue superior a las 20 ppb en este silo, mientras que en el silo controlado los parámetros de humedad y temperatura se encontraban dentro del rango propuesto, obteniéndose un resultado negativo a la presencia de aflatoxinas, por lo que se concluye que tanto la humedad y la temperatura sí afectan la calidad del maíz si este no es controlado durante su almacenamiento, recomendándose que estos dos factores ambientales deben controlarse para evitar pérdidas económicas al agricultor e industrial y a la vez para eliminar riesgos a la salud del consumidor.

2. INTRODUCCION

Con este estudio se estableció con muestras representativas de un silo de maíz no controlado comparándolo con uno controlado, que en las condiciones normales de temperatura (15-25°C) y humedad (13.5-14%) la concentración de aflatoxinas no pasa los niveles de 20 partes por billón, el cual es el límite máximo para aflatoxinas en alimentos, recomendado por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos (3).

El muestreo se llevó a cabo en el departamento de Retalhuleu el cual tiene una extensión de 796 kilómetros cuadrados, las condiciones del tiempo que prevalecen en este lugar son temperaturas que van desde los 20°C- 34°C y humedades relativas del 60% -93%, siendo el maíz uno de los principales cultivos de ésta región. el cual constituye el grano más importante en la alimentación como fuente de nutrientes y su producción es destinada en mayor volumen para el consumo humano y animal (1,2), por lo que la temperatura y la humedad son factores prevalecientes en este lugar para el desarrollo de mohos en el maíz almacenado en silos, principalmente de la especie *Aspergillus*. Estos mohos son formadores de micotoxinas entre las cuales se encuentran las Aflatoxinas las que representan un riesgo socio económico cuando se desconocen las condiciones ideales de almacenaje afectando la economía del país, además del riesgo de que se elaboren subproductos para el consumo humano y animal que son capaces de afectar la

salud de éstos causando principalmente cáncer hepático, y en animales puede producir cáncer en otros órganos (3,4).

Se realizó una comparación entre dos silos uno controlado y uno no controlado tomándose las muestras de cada uno de estos al momento de cargar los camiones

Los resultados obtenidos fueron analizados en el laboratorio de Calidad de una empresa alimenticia, que utiliza el maíz como materia prima; la presencia de aflatoxinas en el grano fue evaluada por medio de un método enzimático cualitativo, rápido, simple y con una eficacia de 98 a 100 por ciento de seguridad, llamado EZ-SCREEN: AFLATOXIN producido por Environmental Diagnostics, INC. Burlington , El análisis comparativo de los silos se realizó por medio de un análisis binomial.

3. ANTECEDENTES

3.1 HISTORIA Y ORIGEN DEL MAÍZ

La planta del maíz es nativa de América. Era la principal planta alimenticia de los indígenas cuando Colón descubrió el continente. En la actualidad es la cosecha alimenticia más importante en Latinoamérica. El maíz es una de las plantas cultivadas más antiguas. Al parecer ya lo habían cultivado los indios muchos siglos antes del arribo del hombre blanco. Esta planta en la actualidad ya no sobrevive en forma silvestre y sólo se produce bajo cultivo.

El maíz está clasificado dentro de una sola especie botánica, *Zea mays*. Teniendo dos parientes cercanos que son el *Tripsacum* y el Teosinte (*Euchlaena*). El *Tripsacum* crece silvestre en las regiones este y sur este de los Estados Unidos, en América Central y América del Sur. El Teosinte (*Euchlaena*) es nativo del sur de México y América Central y se le considera el pariente más cercano del maíz.

Se han mencionado dos regiones como el posible origen del maíz, éstas son:

1) Los valles altos de Perú, Ecuador y Bolivia.

2) La región sur de México y América Central. En ambas áreas se han encontrado varios tipos de maíz. Se han expuesto varias teorías acerca de su origen, una de ellas es que se originó del Teosinte (*Euchlaena*) o de los ancestros del mismo (1).

3.2 ESTRUCTURA DEL GRANO DE MAIZ

El grano de maíz es plano y con ángulos. La estructura es típica de la de un grano de cereal compuesto de un pericarpio muy delgado que encierra a una sola semilla. El pericarpio es la pared del ovario maduro y comprende todas las capas exteriores de la célula hasta el recubrimiento de la semilla. Esta última, a su vez, encierra al germen y al endospermo formando los tres, la semilla (5,6) (anexo 1).

3.3 SISTEMA DE POST COSECHA DEL MAIZ

El maíz es el cereal que a alcanzado importancia mundial en la alimentación humana y animal, por sus bondades nutritivas y su adaptación a los diferentes ecosistemas.

Es importante destacar las diversas etapas por las que puede pasar el maíz desde que está en condiciones de ser cosechado hasta que sufre alguna transformación.

Dentro de este sistema ocurren distintas acciones o tratamientos que incluyen: Cosecha, secado natural o artificial, limpieza, transporte y almacenaje; todas estas operaciones están destinadas a mantener la calidad del grano producido para consumo humano o animal (2,7).

3.3.1 COMPORTAMIENTO DEL SISTEMA POST COSECHA DEL MAIZ

La caracterización del sistema de post cosecha cobra importancia en la medida que permite identificar los puntos críticos del sistema donde se pueden producir los principales problemas de pérdidas por biodeterioro o cambios significativos en otros parámetros de calidad (2, 7).

3.3.2 PERDIDAS POR BIODETERIORO

Las pérdidas por biodeterioro ocurren muy frecuentemente en el almacenaje del grano causado principalmente por hongos y micotoxinas, los factores que predisponen a este tipo de pérdidas ya sea en el medio rural o industrial son los siguientes: un mal secado, la humedad y la temperatura en el almacenaje, por lo que se hace necesario conocer aspectos generales de estos (2, 7).

3.3.2.1 SECADO DEL MAIZ

El secado es el proceso que normalmente se define como la remoción por medios térmicos de agua contenida dentro de sólidos.

En el área rural es importante la forma como el campesino seca el grano, por utilizar métodos rústicos (anexo 2) para el proceso y no tener instrumentos de análisis para determinar la humedad después del secado, el grano puede quedar con una humedad alta, contaminándose posteriormente con hongos y aflatoxinas en el almacenaje, teniéndose pérdidas del mismo o produciendo patologías serias por consumo humano o animal.

En el área industrial la forma de secado es mecanizada donde se llevan controles de tiempo y temperatura para el secado, pero el problema que muchas veces se genera es que los equipos no son calibrados adecuadamente, por lo que en ocasiones el grano no tiene el tiempo ni la temperatura adecuada para un almacenaje correcto produciéndose problemas de almacenamiento similares a los del área rural (8,9).

3.3.2.2 ALMACENAMIENTO DEL MAIZ

Existen varias formas de almacenamiento, para cada una de ellas es necesario establecer parámetros que brinden condiciones adecuadas de almacenaje para evitar de esa manera contaminación fúngica; estos tipos de almacenaje son los siguientes:

- a) En sacos, los cuales son trasladados a bodegas.
- b) A granel en silos.
- c) Almacenaje a granel en bodegas.

Para la investigación que se realizará es necesario hacer énfasis en las condiciones óptimas de almacenamiento en silos, para ellos debemos tener claros el rol que juegan la humedad del grano, la temperatura de almacenaje y la forma del manejo del silo en la aireación para evitar recalentamientos (2,9).

3.3.2.3 HUMEDAD DEL GRANO

En todo organismo biocoloidal como los granos, se puede considerar que la humedad se encuentra presente en cuatro formas principales:

- 1- Humedad superficial, depositada por lluvias recientes o por condensación de humedad del aire producida por cambios de temperatura. Esta humedad se mantiene adherida al grano sólo por fuerzas capilares y de tensión superficial.
- 2- Humedad absorbida, ocupa espacios intergranulares y poros. Proviene de humedad superficial que ha penetrado en el grano, o de humedad de formación que aún no ha desaparecido con el proceso de maduración. Se mantiene dentro del grano principalmente por la acción de fuerzas capilares.
- 3- Humedad adsorbida, unida más íntimamente, en forma coloidal, a la sustancia del grano. Fuerzas de atracción molecular de magnitud importante la mantienen en su sitio.
- 4- Humedad de constitución, unida a la materia seca en forma química; forma parte en consecuencia, de la propia sustancia del grano y no es posible removerla sin desnaturalizarlo (3,8).

El tipo de hongos que actúan en el maíz depende de las humedades anteriormente mencionadas, entre 14 y 15 por ciento se desarrolla lentamente el *Aspergillus glaucus*, humedades superiores al 15 por ciento, actúan el A. *candidus* y el

A. ochraceus, sobre el 18 por ciento de humedad el *A. candidus* puede aumentar la temperatura del maíz hasta 54 ° C.

3.3.2.4 TEMPERATURA DE ALMACENAMIENTO

El grano debe tener una temperatura de almacenamiento entre 15-25 ° C para sumejor conservación. Se han realizado estudios en los que a temperaturas bajas retarda el crecimiento de insectos y de hongos dando como resultado una mejor conservación y mayor tiempo de almacenaje del maíz. Es necesario tener un control estricto en la temperatura en diferentes puntos del silo con grano almacenado y la del clima, para detectar recalentamientos por migración de humedad (3, 10).

El nivel de actividad metabólica de los granos aumenta con la temperatura cuando se combina con humedad elevada, acelera el desarrollo de hongos.

La mayoría de hongos se desarrollan con temperatura de 4 a 49 °C, aunque algunos pueden desarrollarse con temperaturas más bajas mientras que otros soportan temperaturas hasta de 76 °C. Sin embargo, la mayor parte de los hongos comunes en almacenaje de maíz tiene su desarrollo óptimo a temperaturas de 20 a 35 ° C.

La temperatura a la cual se recibe el maíz del campo, es normalmente, un buen indicador de su estado. En tierras calientes esta temperatura no debería ser superior a 30 °C.

Para grano que se destine a un almacenaje largo (más de 3 ó 4 meses), se debe controlar la temperatura de almacenaje (3,11).

En 1995 fue realizado un estudio por Prado et al. en el cual indican que la temperatura y la humedad son factores importantes en la biosíntesis de aflatoxinas, ya que determinaron incidencia de las mismas en muestras de maíz almacenado con temperaturas de (18-20) grados centígrados en atmósfera aireada y (35-40) grados centígrados en atmósfera semi-aireada, encontrándose niveles más elevados de aflatoxinas en el maíz almacenado con temperaturas más altas (12).

3.3.2.5 AIREACION EN EL SILO

La aireación es un procedimiento que se utiliza para enfriar el grano y facilitar su conservación. Se busca igualar la temperatura de los granos para prevenir migraciones de humedad y reducir la actividad biológica de hongos e insectos.

Debe de tomarse en cuenta la humedad y el clima de la región, como los tropicales, húmedos y calientes, o como los húmedos pero fríos, y el diseño del silo para escoger el mejor sistema de aireación.

La utilización inadecuada de los sistemas de aireación de los silos, o el mal diseño de los mismos, puede contribuir a que se presenten variaciones de humedad importantes dentro de las masas de grano. Así la aireación en silos altos, con un ventilador que succiona desde la parte superior del mismo por una sola boca, produce, con frecuencia, el fenómeno conocido como "Tunelización". Sólo la parte

central de la columna recibe aire para evacuar el calor que el grano desprende, mientras la parte exterior continúa calentándose. La diferencia de temperatura que se establece aumenta el problema al inducir movimientos de humedad y por consiguiente actividad biológica deteriorándose el grano y convirtiéndolo en inservible.

En un sistema de aireación adecuado la succión del aire se realiza por un tubo que se encuentra en la parte inferior del silo distribuyendo el aire por canales que se encuentran en la parte inferior del silo en forma de estrella, de esa manera se garantiza el adecuado desplazamiento de la temperatura y la humedad a todo el silo (3,13).

3.4 FACTORES BIOLÓGICOS EN LA FORMACION DE AFLATOXINAS EN MAIZ

3.4.1 INSECTOS

Los insectos además de consumir directamente cantidades importantes de grano, pueden dar lugar a bolsas de alta humedad en el maíz almacenado, creando focos de infección en distintos puntos del silo. El control de insectos es un aspecto muy importante en la formación de cepas de *Aspergillus* sp. productoras de aflatoxinas.

La relación entre los daños de insectos y la acción del hongo es doble:

- a) Los insectos pueden desarrollarse en granos completamente secos, pero su acción metabólica ofrece un ambiente favorable a la formación de hongos.

b) Los insectos actúan como vectores transportando las esporas a granos que se encuentran sanos.

Estas razones indican que la invasión de insectos casi siempre va acompañada de infección fúngica.

Para la prevención de una infestación por insectos el analista en el momento de la recepción del maíz, debe realizar una inspección minuciosa al grano antes de ser almacenado, observando si el grano no se encuentra dañado por acción metabólica de los mismos (14).

La utilización de insecticidas es la manera más efectiva para el control de plagas. En silos los más utilizados son los de gas, tales como el bromuro de metilo, ya que son eficaces en condiciones de temperatura tropical y a la vez que su dispersión en el silo es homogénea.

La revisión de la temperatura del silo debe ser constante para controlar focos de recalentamiento causados por insectos y darles el tratamiento adecuado a tiempo para evitar pérdida del maíz almacenado (3,15).

3.5 AFLATOXINAS

Las aflatoxinas fueron descubiertas en 1960 después de una epizootia en pavos, ocurrida en Inglaterra en la cual murieron cerca de 100,000 pavos. Al buscar la causa del problema encontraron que estaba relacionada con la dieta alimenticia, la

cual estaba formulada con pasta de maní con *Aspergillus* sp. proveniente del Brasil (4,16).

Las aflatoxinas fluorescen a la luz ultravioleta de onda corta, tienen un peso molecular aproximado de 312, y su estructura química es un anillo coumarínico unido a una ciclopentanona . En estado puro resiste temperaturas de hasta 250°C, sin embargo existe información, que en harina de maíz se destruye el 60 por ciento cuando se calienta a 120°C durante dos horas y media (17).

El nombre de las principales aflatoxinas se deriva del color que presentan cuando son expuestas bajo luz ultravioleta, las B1 y B2 presentan un color azul, mientras que las G1 y G2 presentan un color verde.

Actualmente se sabe que las aflatoxinas pueden ser producidas tanto en campo como en almacén por *Aspergillus flavus* (18).

En el campo, en el caso específico de maíz cuando la planta está en pie, el hongo puede entrar de manera directa através de las espigas y de las brácteas; y de manera indirecta por medio de los insectos que parasitan el maíz.

La penetración de *Aspergillus* sp., se ve favorecida por varios factores como son: densidad del inculo, madurez de las espigas, temperatura ambiente, sequía, fecha de siembra, fertilización y tipo de maíz (19).

Crespo J. realizó el estudio "Incidencia de la contaminación por aflatoxinas en granos en la costa sur oriental de Guatemala", debido los problemas que representan y que pueden resumirse en: 1) Pérdidas económicas en el campo

agrícola debido al poco crecimiento, enfermedad y muerte de los animales. 2) Problemas para la salud del hombre, ya que se considera el gran poder cancerígeno de aflatoxinas a largo plazo. Considerando que los factores que favorecen el desarrollo y crecimiento fúngico, como la humedad relativa del ambiente y temperaturas elevadas, son característicos de las zonas costeras de Guatemala (20).

Rojas M y Mieri A., realizaron un estudio en muestras de harina de maíz precocida, maíz en grano y pico de maíz, con el propósito de determinar la presencia de aflatoxina B1 en productos procesados y no procesados. Los riesgos potenciales por contaminación aflatoxínica del maíz y productos derivados, están asociados al destino que se les da a los mismos. En el caso de productos procesados (harina precocida) el riesgo es directo para el consumo humano. En el caso del maíz propiamente dicho, el riesgo va dirigido a una población humana restringida y a la población animal. En esta última representa un riesgo directo, y en humano, un peligro indirecto por consumir los animales o sus derivados (21).

3.6 AGENTE ETIOLOGICO

Las aflatoxinas son producidas por algunas cepas de hongos del grupo *Aspergillus*, principalmente *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Algunas cepas de estos hongos son capaces de sintetizar estas sustancias durante su crecimiento

logarítmico tardío por lo que estas toxinas son consideradas metabolitos secundarios (22).

El género *Aspergillus*, de acuerdo a Raper y Fennel, comprende 132 especies en 18 grupos; de los cuales, *A. glaucus*, *A. restrictus*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *A. candidus*, *A. flavus*, *A. versicolor*, *A. fumigatus* y *A. clavatus* son importantes en el deterioro de granos y semillas almacenados, afectando su calidad física, biológica, nutricional y sanitaria.

Dentro de cada grupo del género *Aspergillus* se encuentran de una, a varias especies con características morfológicas y fisiológicas muy afines y comunes entre sí, las que pueden ser reconocidas con facilidad; sin embargo, en algunas especies estas características no pueden ser tan claras, porque a esas especies se le colocan en el grupo de mayor afinidad. Para separación de grupos se utilizan principalmente características morfológicas y el color de las cabezuelas conidiales (23).

3.7 PATOLOGIA DE AFLATOXINAS

La presencia de aflatoxinas en alimentos, representan un riesgo potencial, ya que éstas son capaces de producir reacciones tóxicas, principalmente inducir cáncer hepático, sin embargo en estudios realizados en ocho especies de animales incluyendo primates no humanos, se ha encontrado cáncer en el colon, riñón, estómago, lengua, esófago, tráquea y glándulas lagrimales. Pueden provocar

inclusive la muerte en animales de experimentación, como ratas, y en animales de granja (24, 25).

El cáncer hepático o hepatocarcinoma, puede presentarse de tres maneras, 1) como tumor solitario masivo, que a veces produce hepatomegalia intensa, 2) muchos nódulos esparcidos en el hígado, que originan hepatomegalia menos notable, o 3) infiltración difusa de todo el parénquima hepático, difícil de descubrir sobre el fondo de cirrosis subyacente. En los tres cuadros los tumores suelen ser de color amarillo blanco, pero los carcinomas hepatocelulares bien diferenciados pueden elaborar bilis suficiente para tener color verde (26).

Se ha descrito que 25 microgramos de aflatoxina B1 en la dieta diaria de algunos peces causa hepatocarcinoma en 100 por ciento de la población. En el caso de aves 0.36 miligramos de aflatoxina B1 por kilogramo de peso causa reacciones tóxicas en gallinas ponedoras. En el caso de mamíferos se ha descrito que 0.5-10 miligramos de aflatoxina B1 por kilogramo de peso es suficiente para causar hepatocarcinoma en ratas y en el caso de monos Rhesus 1 mg. diario de aflatoxina B1 causó deceso a los 34 días.

Ordoñez Padilla, realizó un estudio en Guatemala sobre aflatoxinas y daño hepático en 37 muestras de hígado humano, 30 provenientes de personas fallecidas con problemas hepáticos y 7 sin evidencia clínica de lesiones hepáticas en el momento de ocurrir el deceso. Fueron encontrados residuos de aflatoxinas en 8 de los 30 hígados de personas que fallecieron por problemas hepáticos. En 2 de los

hígados se diagnosticó hepatocarcinoma y en ambos se encontraron niveles elevados de aflatoxinas P1 (22, 27).

3.8 METODOS DE DETERMINACION

Existen varios métodos de determinación de aflatoxinas, los más utilizados son los cromatográficos (capa fina, y cromatografía líquida de altas presión), los fluorométricos (basados en el color de fluorescencia de los tipos de aflatoxinas), y los enzimáticos, para estos métodos se necesita realizar una extracción previa para purificar la solución que será analizada (28).

Existen métodos cuantitativos y cualitativos para la determinación de aflatoxinas; entre los métodos cuantitativos podemos mencionar el método Roomer, el cual usa una combinación de minicolumna y cromatografía de capa fina. Las aflatoxinas por el método de minicolumna son detectadas por su fluorescencia bajo onda larga de luz ultravioleta. Este método tiene una amplia aplicación para varios alimentos detectando un mínimo de 10 ppb de aflatoxina en maíz (29).

En un estudio realizado en el año 1980, en la costa pacífica de Guatemala por de Campos M. y Crespo J. utilizando el método Roomer modificado por Campos encontraron que el máximo valor de aflatoxinas en maíz almacenado fue de 1650 ppb. (30).

Los métodos cualitativos, son métodos que se corren con estándares de aflatoxinas por medio de una cromatografía de capa fina, luego la placa es analizada

por medio de luz ultravioleta, y es comparada la muestra con los estándares, como la movilidad de las mismas para su identificación.

Los métodos enzimáticos, son más rápidos que los métodos cromatográficos, existen métodos cualitativos y cuantitativos, los más utilizados son los cualitativos, que determinan concentraciones mínimas de 20 ppb; siendo éste el límite máximo permitido por la FDA para el consumo humano.

Los procedimientos inmunoenzimáticos detectan aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en maíz, alimentos mixtos y manías doradas secas. Estos procedimientos de tamizaje están diseñados para servir como un indicador de la presencia de aflatoxinas.

Las pruebas de inmunoensayo enzimático son competitivas y secuenciales. Las aflatoxinas son extraídas de la muestra con metanol/agua, clarificadas por filtración y diluidas en buffer. La muestra diluida y el control negativo son añadidos en la tarjeta de prueba. Después de la absorción, se añade un conjugado de enzima seguido por un reactivo de lavado y el reactivo de substrato. Los resultados son interpretados al final de cinco minutos. En este inmunoensayo competitivo, el analito presente en la muestra compite con el analito acoplado a la enzima por anticuerpos adheridos a la tarjeta de reacción (Quick card).

La presencia de un nivel significativo de aflatoxinas es indicado por la ausencia de color en los pozos de reacción (31,32).

3.9 DESCRIPCION DEL AREA DE MUESTREO

El municipio de Retalhuleu, departamento de Retalhuleu, limita al norte con los municipios de San Sebastián, San Felipe, Nuevo San Carlos, El Asintal, Génova y Coatepeque; al sur con el municipio de Champerico y el Océano Pacífico; al Oriente con los municipios de Santa Cruz Muluá y San Andrés Villa Seca; al Occidente con el municipio de Ocos. (anexo No.3)

La extensión territorial del municipio es de 796 kilómetros cuadrados. Tiene una ciudad, cuatro aldeas, veinte caseríos, siete parajes, una comunidad agraria, sesenta haciendas y cincuenta y una fincas.

La altura de la cabecera del municipio tiene doscientos treinta y nueve metros sobre el nivel del mar, con una latitud de $14^{\circ}32'10''$, con una longitud de $91^{\circ}40'40''$, la precipitación pluvial es de 2,000 - 4,000 mm, distribuidos en 120 y 150 días. La temperatura promedio anual es de 25°C .

Los cultivos de mayor relevancia son el maíz, el frijol, ajonjolí, algodón rama, arroz y otros.

La distancia de la cabecera del municipio a la capital de la República es de 186 kilómetros de carretera asfaltada.

4. JUSTIFICACION

La población guatemalteca supera actualmente los 10 millones de habitantes de los cuales el 67 % de la población es rural y el 33% urbana. Dentro de su dieta alimenticia utiliza maíz y frijol. El maíz en Guatemala constituye la mayor parte de los alimentos ingeridos en el sector rural, siendo por lo tanto el más importante de la dieta alimenticia. El maíz provee hasta un 59% y 45% de la ingestión diaria de calorías y proteínas respectivamente. Las cantidades son mayores en la población rural, en la cual es común encontrar consumos de maíz de hasta 900 gramos por persona por día, pero en general el promedio nacional de consumo de maíz es de 318 gramos por persona en el día (2).

El 85 % del maíz consumido en el país es almacenado en silos, y el 15% en sacos, patios y trojas, por esta razón es necesario realizar un estudio para determinar las condiciones normales de humedad (13.5% 14%) y temperatura (15°C – 25°C) en silos, ya que estos factores son prevaletentes en la formación de mohos en el maíz de almacenamiento; estos mohos son formadores de micotoxinas entre ellas se encuentran las aflatoxinas que son considerados como cancerígenos potenciales tanto para el ser humano como para los animales, además de provocar pérdidas económicas a pequeños y grandes agricultores.

5. OBJETIVOS

- 5.1** Demostrar que en condiciones controladas de humedad (13.5-14%) y temperatura (15-25°C) en el maíz los niveles de aflatoxinas serán menores de 20 partes por billón.
- 5.2** Determinar la presencia de aflatoxinas del grano por medio de un método enzimático colorimétrico cualitativo.
- 5.3** Determinar las condiciones de humedad y temperatura que permiten alcanzar una vida de almacenamiento más prolongada y evitar la contaminación por aflatoxinas del maíz y subproductos que de él se elaboren.

6. HIPOTESIS

En condiciones normales de temperatura (15-25°C) y humedad (13.5-14%) del maíz almacenado en silos, la concentración de aflatoxinas no pasa los niveles de 20 partes por billón.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO DE TRABAJO:

En un silo de almacenaje controlado y en otro no controlado fueron recolectadas en un período de ocho semanas 324 muestras de maíz, para un total de 648, en el momento de ser descargadas a camiones para su traslado a la planta procesadora. En las primeras siete semanas fueron analizadas 84 muestras por semana, y en la última se analizaron 62 muestras por semana. A cada muestra se le realizó un análisis de detección de aflatoxinas por un método colorimétrico enzimático y al mismo tiempo se le determinó la humedad y la temperatura. Los silos estaban ubicados en el municipio de Retalhuleu, departamento de Retalhuleu, limita al norte con los municipios de San Sebastián, San Felipe, Nuevo San Carlos, El Asintal, Génova y Coatepeque; al sur con el municipio de Champerico y el Océano Pacífico; al Oriente con los municipios de Santa Cruz Muluá y San Andrés Villa Seca; al Occidente con el municipio de Ocos. La extensión territorial del municipio de Retalhuleu es de 796 kilómetros cuadrados) (anexo No. 3).

7.2 MEDIOS:

7.2.1 Recursos Humanos:

Tesista: Br. José Félix Mendizábal Pinto.

Asesora: Msc. Karin Herrera.

7.2.2 Recursos Institucionales:

Laboratorio de Servicios a Manufactura de
la Empresa Alimenticia.

7.2.3 Recursos Materiales:

7.2.3.1 Equipo:

Termómetro digital marca OMEGA.

Equipo para Determinación de Humedad marca Motomco 919.

Bulbo para la determinación de humedad relativa.

Licuadaora.

Estereoscopio MZ 891 aumento 8-40X marca SWIFT.

7.2.3.2 Materiales:

Pipetas graduadas de 5 y 10 ml.

Beakers de 10, 25 y 50 ml.

Probetas de 5, 10, 25 y 50 ml.

7.2.3.3 Reactivos:

Agua destilada.

Metanol grado analítico ISO.

Reactivos del kit EZ-SCREEN, enzimas y sustratos.

7.3 PROCEDIMIENTO

A las 648 muestras tomadas en los camiones se les determinó la humedad utilizando un equipo llamado Motomco 919, de fácil utilización; este equipo está autorizado para la certificación de la calidad en Estados Unidos (8).

La temperatura de las muestras fue medida con un termómetro digital marca Omega, el cual tiene una precisión de 0.01°C (8)..

Los mohos presentes fueron observados por medio de un estereoscopio MZ 891 aumento 8-40X marca SWIFT.

Para la presencia de aflatoxinas en el maíz se utilizó un método enzimático, colorimétrico, cualitativo, rápido, ya que los resultados se obtienen en menos de diez minutos, simple, y con una eficacia de 98 a 100 por ciento de seguridad, llamado (EZ-SCREEN: AFLATOXIN. ENVIROMENTAL DIAGNOSTICS, INC.), el cual se describe en la siguiente sección.

7.3.1 EXTRACCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

- Licuar 50 gramos de maíz, con 100 mililitros de una solución al 80 % metanol/agua (4 partes de metanol + 1 parte de agua destilada) por tres minutos en alta velocidad.
- Filtrar un extracto de aproximadamente quince mililitros en un beaker o recipiente limpio. Alternativamente se puede clarificar el extracto por centrifugación o dejar que la muestra se separe por sedimentación.

- Del extracto clarificado transferir un mililitro a el vial que contiene dos mililitros de buffer de dilución usando la pipeta plástica larga que viene en el kit. Agitar suavemente.

7.3.2 PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

- Sacar el kit del refrigerador para que todos los reactivos estén a temperatura ambiente antes de abrirlos.
- Preparar el control negativo removiendo el sello plástico que se encuentra alrededor del tapón.
- Preparar el reactivo de Enzima que contiene el kit, presionando el tubito plástico contra la ampolla de vidrio que contiene en el interior. Agitar suavemente el tubo hacia arriba y abajo por aproximadamente veinte segundos para rehidratar y mezclar los contenidos, evitando la formación de espuma. Luego remover el sello plástico que se encuentra alrededor del tapón.
- Preparar el sustrato presionando el tubo plástico contra la ampolla de vidrio que contiene en el interior. Agitar el tubo vigorosamente por veinte segundos para rehidratar y mezclar los componentes. Luego remover el sello plástico que se encuentra alrededor del tapón.
- Todas las pruebas de la tarjeta, la cual es con la que se efectúa las pruebas enzimáticas, deben ser realizadas en un período de ocho horas. Un control negativo debe correrse cada vez que se realiza la prueba para confirmar el

funcionamiento de los reactivos del test. Si las muestras se correrán en ocasiones diferentes un sitio del test debe ser reservado para un control negativo.

- La tarjeta de pruebas se coloca en una superficie plana y limpia. Usando un bolígrafo, se etiquetan los positos que se utilizarán con el número de la muestra y la fecha. No se marca la tarjeta muy cerca de los sitios de reacción (no más de media pulgada).
- Para cada muestra, se agita el tubo para mezclar bien el extracto diluido. Se llena la pipeta pequeña a una altura de media pulgada y se aplica el extracto diluido en el pozo de reacción. Mantenga la pipeta de tal forma que la punta esté aproximadamente a media pulgada del pozo y deje caer la gota libremente.
- Aplicar una gota de control negativo al pozo "control" de la tarjeta de prueba. No se toca la punta de la pipeta con el pozo. Hacer de igual forma que el paso anterior.
- Dejar que la muestra y el control sean absorbidos en los pozos durante 30 segundos antes de seguir con el próximo paso.
- Mantener el tubo de Enzima con la punta hacia abajo. Eliminar las burbujas de aire atrapadas golpeando o agitando para bajar el contenido. Se descarta la primera gota de enzima y luego aplicar una gota a cada uno de los pozos que estén reaccionando en la tarjeta de prueba. Se mantiene el tubo a media pulgada del pozo y se deja caer la gota libremente.

- Dejar que la gota de enzima se absorba durante 30 segundos antes de continuar con el paso siguiente.
- Aplicar una gota de control negativo a cada uno de los pozos que estén reaccionando. No se toca con la punta de la pipeta la tarjeta de pruebas.
- Dejar que las gotas se absorban en los pozos durante 30 segundos antes de continuar con el próximo paso.
- Cuidadosamente se remueve el exceso de líquido alrededor de cada uno de los pozos usando un hisopo de algodón o papel absorbente. No se toca los pozos de reacción directamente.
- Mantener el tubo del sustrato con la punta hacia abajo. Eliminar las burbujas atrapadas agitando el tubo o golpeando las paredes del mismo. Se descarta la primera gota de sustrato y luego aplicar dos gotas a cada uno de los pozos que estén reaccionando. Inmediatamente colocar un timer y darle un tiempo de cinco minutos.
- Cuando se cumpla el tiempo estipulado lea los resultados. Si hubiera exceso de líquido en el borde de los pozos, se remueve cuidadosamente con un hisopo de algodón o papel absorbente. Si el color es visible en los pozos de control y muestra antes de los cinco minutos la prueba puede ser leída antes de que el tiempo se cumpla.
- Se examina la tarjeta de pruebas viéndola en una superficie plana y con buena iluminación (33).

7.3.3 LECTURA DE RESULTADOS

El control de calidad debe funcionar para tener un resultado válido. El resultado es válido cuando el pozo de control desarrolla un color detectable (gris-azul o azul).

El resultado no es válido cuando el pozo control no desarrolla color (se mantiene incoloro) (33).

7.3.4 INTERPRETACION DE RESULTADOS

La siguiente interpretación de la muestra debe solo tomarse en cuenta cuando el pozo de control ha indicado una prueba válida.

La muestra es considerada como negativa para aflatoxinas cuando el pozo de la muestra desarrolla un color detectable (gris-azul o azul) sobre la superficie. En muchos casos una muestra negativa no dará un color azul equivalente al del control negativo.

La muestra es considerada como positiva para aflatoxinas cuando el pozo de la muestra no desarrolla un color detectable (se mantiene incoloro). En ocasiones el pozo de muestra desarrolla una banda delgada de color en el borde del pozo, mientras el resto continúa o se mantiene incolora. Tales muestras son consideradas como positivas para aflatoxinas.

Un resultado negativo sugiere que la muestra contiene aflatoxinas a un nivel menor de veinte partes por billón.

Un resultado positivo sugiere que la muestra contiene aflatoxinas a un nivel igual o mayor a veinte partes por billón (33).

7.3.5 PRECAUCIONES

- Cada reactivo ha sido optimizado para usarlo en el sistema EZ-SCREEN AFLATOXIN, por lo tanto estos reactivos no deben ser utilizados en otros métodos de determinación, ni deben ser sustituidos por los de otros fabricantes.
- No usar reactivos de un número de lote con reactivos de otros lotes de kits diferentes.
- La dilución o alteración de los reactivos o muestras no especificadas en el procedimiento de la prueba pueden dar resultados inexactos.
- No usar reactivos después de la fecha de expiración.
- El uso de tiempos de incubación diferentes a los especificados puede dar resultados inexactos.
- El kit debe llevarse a temperatura ambiente (20-37°C ó 68-98°F) antes de su uso. Evitar el almacenamiento prolongado (más de 8 horas) a temperatura ambiente.
- La presencia de material en partículas interfiere con la adherencia de la muestra en la tarjeta. Por esto asegúrese de que el paso de filtración se realice adecuadamente y que el extracto diluido esté límpido. Los extractos de muestras

que se adhieren poco o nada deben ser filtrados a través de un filtro tamaño 0.45 u., antes de la dilución del extracto.

- La falta de absorción de la muestra en la tarjeta dará resultados inexactos.
- No congelar los kits de pruebas.
- No exponer los kits de pruebas a temperaturas arriba de los 37°C (98°F).
- No romper la ampolla de vidrio que viene dentro del gotero plástico, tan duro como para que las piezas de vidrio atraviesen la pared del tubo plástico cuando se reconstituyan los reactivos de enzima y sustrato.
- Manejar la tarjeta con cuidado. No doblarla. No presionar o frotar la superficie de pruebas en sitios cercanos.
- Las aflatoxinas son sustancias muy tóxicas y carcinogénicas. Descartar todos los líquidos en un contenedor plástico que tenga cloro (de uso doméstico con un mínimo de 10%). Todo el equipo de laboratorio debe ser detoxificado por inmersión por lo menos de una hora en una solución al 30% de cloro. Reemplazar la solución de cloro diariamente. Evitar el contacto de la piel con el extracto de la muestra. Si ocurre contacto, inmediatamente lavar con abundante agua.
- Los reactivos contienen timerosal (mertiolate) como preservante. Evitar el contacto con la piel. Si ocurre contacto inmediatamente lavar con abundante agua.

- Usar pipetas y cristalería limpia para cada muestra, para evitar contaminación cruzada de las muestras. Lavar bien toda la cristalería (licuadora, jarras, frascos, tubos, etc.) entre muestras para evitar contaminación cruzada.
- No correr más de una tarjeta de pruebas completa a la vez.
- Usar la tarjeta y todos los reactivos entre las 8 horas siguientes a la apertura del kit (33).

7.3.6 LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Muestras conteniendo niveles de aflatoxinas menores de 20 ppb pero mayores de 10 ppb pueden dar un resultado positivo. La frecuencia de hallazgos positivos en este rango disminuyen cuando los niveles de contaminación están entre 20 y 10 ppb.
- La prueba provee solamente un resultado cualitativo. Se utiliza un método químico alternativo para obtener un resultado analítico confirmativo.
- Para mayor exactitud de la prueba se deben utilizar pipetas graduadas para todos los pasos de dilución y aplicación de las muestras. Si no se tienen estos instrumentos de dilución disponibles, las pipetas plásticas que vienen en el kit pueden ser usadas como volúmenes aproximados.
- Violeta de genciana es algunas veces añadida al maíz como inhibidor de mohos. Cuando se obtiene extracto de maíz con metanol al 80%, la violeta de genciana

dará al extracto un color morado. Este color interfiere con la lectura de los resultados.

- Algunas formulaciones alimenticias contienen aditivos con pigmentos naturales que son extraídos con metanol al 80%. Tales materiales darán colores al extracto que pueden variar desde el rojo hasta el amarillo. Estos pigmentos pueden interferir con la lectura de los resultados.
- Muchas de las técnicas de análisis químico para la detección cuantitativa de aflatoxinas utilizan solventes orgánicos diferentes al metanol para la extracción de la muestra. Ya que la eficiencia de la extracción de aflatoxinas de una muestra en particular puede variar dependiendo del solvente usado, se pueden obtener diferencias en los niveles de aflatoxinas comparándolos con otros métodos.
- Solventes orgánicos tales como acetona, cloroformo y acetonitrilo, no pueden ser usados para extraer muestras para realizar análisis de aflatoxinas con el sistema EZ-SCREEN: AFLATOXIN.
- La realización de la prueba a temperaturas menores de 19°C (65°F) o mayores de 37°C (98°F) pueden resultar en hallazgos inexactos de muestras en el límite de la sensibilidad de la prueba (33).

7.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACION

7.4.1 Prueba Estadística:

Se utilizó un análisis binomial para probabilidades en donde se calculó la frecuencia de aflatoxinas (p) donde la probabilidad de encontrar aflatoxinas para cada silo es de 0.5 siendo la frecuencia esperada $P = (0.5)$.

7.4.2 Tamaño de Muestra:

El cálculo de tamaño de muestra es el siguiente:

$$n = ((NC) * T) / LE$$

En donde $T = pq$ $LE = (1\%)$ $NC = Z \text{ alfa} + Z \text{ beta}$

$Z \text{ alfa} = 0.01$ $Z \text{ beta} = 0.1.$

donde $NC = 3.61$ Tamaño de = 324 para cada silo.

Total de muestras: 648.

Glosario de abreviaturas de la fórmula utilizada para determinar el tamaño de muestra:

ABREVIATURAS	SIGNIFICADO
N	Tamaño de muestra.
NC	Nivel de confianza
T	Variabilidad de la respuesta de exitos
p	Proporción de exitos
q	Proporción de fracasos
Z alfa	Probabilidad de error tipo 1
Z beta	Probabilidad de error tipo 2

7.4.3 Método de Muestreo:

En el caso de los sistemas de almacenamiento de granos, a pesar de la relativa homogeneidad de la población, las variables que se requiere investigar impide la inspección global, obligando a la obtención de muestras representativas que permitan caracterizar adecuadamente la calidad de los lotes que se integran al sistema.

La recomendación para seleccionar el número de puntos del muestreo en un cierto lote de grano, se ha calculado estadísticamente de tal forma que aquellos que trabajan en una almacenadora es común saber que cuando se trata de un camión, el número de puntos de muestreo es de siete. Por lo tanto se calcula que para 648 muestras el número de camiones será de 94.

8. RESULTADOS

Se muestrearon dos silos de maíz uno controlado y el otro no controlado, estos fueron llenados al mismo tiempo, y se dejaron almacenados una semana antes de iniciar el muestreo, la humedad relativa se mantuvo en 87% en el ambiente externo. El silo controlado tenía aireación que se accionaba por medio de un controlador automático de humedad y temperatura mientras que el silo no controlado carecía de estos controles. A las muestras que se obtuvieron en ambos silos les fue medida tanto la humedad como la temperatura, y se les detectó la presencia de aflatoxinas por medio de un método cualitativo llamado EZ-SCREEN:AFLATOXIN, con el fin de ver en que grado influyen los factores ambientales en la formación de aflatoxinas.

El estudio se realizó durante ocho semanas, en las primeras siete semanas se analizaron un total de 84 muestras por semana; mientras que la última semana fue de 62 para un total de 648 muestras, (324 para cada silo), se obtuvo lo siguiente:

TABLA 1: Resultados encontrados en el estudio de almacenaje de maíz en silos

SEMANAS	SILO CONTROLADO		SILO NO CONTROLADO	
	% DE HUMEDAD	TEMPERATURA°C	% DE HUMEDAD	TEMPERATURA°C
PRIMERA SEMANA	14.00	22.71	14.02	22.89
SEGUNDA SEMANA	13.71	23.02	14.02	23.21
TERCERA SEMANA	13.73	23.52	14.05	23.7
CUARTA SEMANA	13.87	23.60	14.09	24.05
QUINTA SEMANA	13.85	23.65	14.04	24.25
SEXTA SEMANA	13.91	23.65	13.98	24.59
SEPTIMA SEMANA	13.90	23.73	14.35	24.75
OCTAVA SEMANA	13.71	23.68	14.28	25.01

Esta tabla muestra los promedios de temperatura y humedad obtenidos, en donde se puede observar desde la cuarta semana una diferencia marcada entre los silos (0.9°C y 0.22%) siendo esto más marcado en la octava semana (1.33°C y 0.57%) respectivamente, esto es debido a que el silo controlado se estaba aireando (anexo No.4, Gráficas 1 y 2).

TABLA 2: Variación de la humedad y la temperatura comparandose con la primera semana y la determinación de presencia o ausencia de mohos y aflatoxinas en el silo controlado.

SEMANAS	% HUMEDAD	TEMPERATURA °C	FORMACION DE MOHOS	PRESENCIA DE AFLATOXINAS >20ppb*
PRIMERA SEMANA	0.00	0.00	-	-
SEGUNDA SEMANA	-0.29	0.31	-	-
TERCERA SEMANA	-0.27	0.81	-	-
CUARTA SEMANA	-0.13	0.89	-	-
QUINTA SEMANA	-0.15	0.94	-	-
SEXTA SEMANA	-0.09	0.94	-	-
SEPTIMA SEMANA	-0.10	1.02	-	-
OCTAVA SEMANA	-0.29	0.97	-	-

*ppb= partes por billón

La disminución de la humedad con respecto a la primera semana (-0.29%) y el aumento de la temperatura (0.97°C) son debidos a la aireación que se mantenía en el silo, ayudando a preservar el maíz, la tabla muestra que no hubo presencia de mohos y toxinas en el silo arriba de 20ppb.

TABLA 3 :Variación de la humedad y la temperatura comparandose con la primera semana y la determinación de presencia o ausencia de mohos y aflatoxinas en el silo no controlado.

SEMANAS	% HUMEDAD	TEMPERATURA °C	FORMACION DE MOHOS	PRESENCIA DE AFLATOXINAS >20ppB*
PRIMERA SEMANA	0.00	0.00	-	-
SEGUNDA SEMANA	0.00	0.32	-	-
TERCERA SEMANA	0.03	0.81	-	-
CUARTA SEMANA	0.07	1.16.	-	-
QUINTA SEMANA	0.02	1.36	-	-
SEXTA SEMANA	-0.04	1.70	+	-
SEPTIMA SEMANA	0.33	1.86	+	-
OCTAVA SEMANA	0.26	2.12	+	+

*ppb= partes por billón

Se observó presencia de moho en el silo no controlado, lo que pudo contaminar más el maíz debido a las condiciones de humedad y temperatura registradas, las cuales favorecían el crecimiento de estos. La temperatura aumentó en la sexta y séptima semana con relación a la primera semana 1.70°C a 1.86°C respectivamente. Sin embargo la humedad varió poco(-0.04 a 0.33%); en los análisis que se realizaron a las muestras no se detectó la presencia de aflatoxinas.

La temperatura del silo no controlado aumentó en 2.12°C. en la octava semana. Al compararlo con los resultados de la primera semana, se observó un incremento considerable de moho en la superficie de los granos y en las paredes del silo. Es importante mencionar que en todas las muestras se encontró una concentración de aflatoxinas mayor de 20ppb.

El porcentaje de muestras positivas para aflatoxinas del total de muestras analizadas en las ocho semanas en el silo no controlado fue de 5.24 % contra un 0% del silo controlado.

9. DISCUSION DE RESULTADOS

La aireación de un silo es importante para mantener la calidad del grano almacenado siempre y cuando se controle la humedad (13%-14%) y la temperatura (15°C-25°C) (3).

Durante el almacenaje, especialmente cuando se realiza a granel en silos, la temperatura del maíz se utiliza como indicador de su estado, pues cualquier aumento de su temperatura sobre la que tenía al inicio del almacenaje es señal de deterioro causado por la actividad de hongos (3). En estudios realizados por Castillo A. en 1982 y Gaviria J. en 1989, se ha demostrado que si la temperatura aumenta de 1 a 2 °C en el maíz almacenado en silos es indicador de que existe un foco de crecimiento biológico (3,8). Esto se observó en el silo no controlado ya que desde la cuarta semana la temperatura aumentó 1°C y fue ascendiendo paulatinamente hasta encontrar en la sexta semana presencia de mohos (con temperatura de 24.59°C y humedad de 13.98%) .En la octava semana, se observó un aumento de 2.12°C de temperatura y 0.26% de humedad con relación al inicio del almacenaje, obteniéndose las muestras positivas para la presencia de aflatoxinas por arriba de 20ppb (Parámetro utilizado por la FDA para determinar si un grano o un alimento procesado procedente de cereales es apto para el consumo humano (33)).

La humedad es un factor importante para la producción de aflatoxinas; la humedad mínima relativa que se evaluó en un estudio efectuado por Guzmán D., la

que permite el desarrollo de mohos productores de aflatoxinas es de 85 % (2). La humedad relativa en la que se realizó el estudio estaba por arriba de ésta (87%), afectando al maíz almacenado en el silo no controlado.

En 1995 Prado et al., indican que la humedad y la temperatura son factores importantes en la biosíntesis de aflatoxinas, ya que encontraron incidencia de las mismas en muestras de maíz a temperaturas de 18 – 20 °C con humedades de 16 – 18 % en una atmósfera aireada (12).

Con los resultados obtenidos se puede observar que si uno de los factores ambientales no se encuentran en rango pueden ser predisponente para la formación de aflatoxinas, lo que muestra la variación en el silo no controlado donde la humedad del grano se incrementó mínimamente y la temperatura aumentó drásticamente contribuyendo a la formación biológica de mohos productores de aflatoxinas.

El estudio realizado refleja que si los controles se llevan adecuadamente como es el caso del silo controlado 13.71% de humedad y 23.68°C , el almacenaje de maíz no se ve afectado con la presencia de aflatoxinas (> de 20ppb).

Es importante mencionar que para una planta industrial donde la materia prima principal son los cereales deben de tener sistemas de control de humedad y temperatura donde se puedan monitorear y puedan detectar cualquier variación de los mismos, esto los ayudará a prevenir pérdidas y posibles contaminaciones en los productos finales de sus procesos.

Según los resultados obtenidos en este estudio, en condiciones controladas de humedad (13.5-14.0%) y temperatura (15-25°C) los niveles de aflatoxinas no sobrepasan una concentración de 20 ppb, por lo tanto la hipótesis es aceptada.

10. CONCLUSIONES

- 10.1** Es importante evaluar la humedad y la temperatura del grano antes de ser almacenado, de esto dependerá que la vida de almacenaje se prolongue por 8 semanas.
- 10.2** La humedad y la temperatura a la cual no hubo problemas de formación de moho y presencia de aflatoxinas tomadas del silo controlado fue en promedio 13.8% y 23.4°C respectivamente.
- 10.3** El aumento de la temperatura por arriba de 25°C en un sistema de almacenaje no controlado a una humedad de 14% es un factor predisponente para la proliferación de mohos y por lo tanto la biosíntesis de aflatoxinas.
- 10.4** La formación de mohos y presencia de aflatoxinas se ve favorecida en un almacenaje en silos que no posea los controles necesarios de humedad y temperatura.
- 10.5** En condiciones controladas de humedad (13.5-14.0%) y temperatura (15-25°C) los niveles de aflatoxinas no sobrepasan una concentración de 20 ppb, por lo que la hipótesis es aceptada.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1** Es indispensable que en un almacenaje se controle por lo menos una vez por semana las condiciones ambientales internas del mismo para evitar pérdidas por contaminación de mohos y de aflatoxinas en maíz almacenado.
- 11.2** Es importante realizar estudios en otros tipos de granos para evaluar las condiciones óptimas de almacenaje (humedad y temperatura).
- 11.3** Es importante capacitar al agricultor para que conozca que la humedad y la temperatura del maíz almacenado pueden ser factores que influyan en la generación de mohos y contaminación de toxinas que provoquen daños severos a la salud en la población al momento de comercializarlo.
- 11.4** La evaluación y monitoreo de micotoxinas provocadas por otros mohos por ejemplo el *Penicillium sp.* produce la toxina Zearalenone que se acumula cerca del germen de los granos y la toxina del *Fusarium sp.* Funomisina afectan el sistema nervioso, por lo que se recomienda hacer un estudio para saber la incidencia de estas en granos almacenados.
- 11.5** Otro estudio importante seria el de monitoriar la presencia de *Aspergillus ochraceus*, en granos importados ya que este moho puede provocar una toxina llamada Ochratoxina, que además de causar daños en el hígado puede provocar daños en los riñones y aparatos reproductores.

12. REFERENCIAS

- 1.** Poehlam JM. Mejoramiento de las Cosechas. México: Editorial Limusa, Ediciones Ciencia y Técnica S.A. Vol. 2, 1990. 453 p. (p. 263-300).

- 2.** Memorias de la Cuarta Mesa Redonda Latinoamericana sobre Prevención de Pérdidas Postcosecha de Granos. México, 1989. 387 p. (p. 161,173-303).

- 3.** Castillo A. Almacenamiento y Secamiento de Granos. 2da. Ed. Colombia, 1982. 374 p. (p. 116, 117, 129, 265, 103-108).

- 4.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Perspectiva sobre Micotoxinas. Roma, 1982. 181 p. (p. 20-27).

- 5.** Kellogg Latin América Area. Manual de Calidad. Calidad de Cereales. México, 1992. p. 12.

- 6.** Rossander-Flulthen, L. et. al. Europ. J. Clin. Nutr. 1990;44:783-91.

- 7.** Economía Agropecuaria, Dirección General de Economía Agropecuaria. MAG. 6ta. Ed. El Salvador : San Salvador, Revista. Jul./Dic. 1986. 6ª. Ed. 96 p.

- 8.** Gaviria J. Control de Calidad de Granos. Colombia: Almacenan S.A., EDIAGRO Ltda., 1989. 200 p. (p. 72-76).

- 9.** García JC. "Evaluación del Secado y Almacenamiento del maíz en troja contra método tradicional de campo". El Salvador: Centro de Tecnología Agrícola, CENTA. 1985.

- 10.** Hall C. Manipulación y almacenamiento de granos alimenticios en las zonas tropicales y subtropicales. Cuadernos de Fomento Agropecuario, No. 90, FAO, 1971. P. 90.

- 11.** Cristiani JA. Instructivo: Cultivo del Maíz, Híbridos tropicales. CRISTIANI BURKARD S.A., 1984. P. k-1.

- 12.** Prado, Guilherme, et. al. Incidence of aflatoxins in corn (*Zea mays* L.) with different levels of moisture, after treatment with fungicide, at atmosphere with and without ventilation. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 1995;55(2):79-84.

- 13.** Desrosier NW. Elementos de Tecnología de Alimentos. México: Editorial Continental S.A., 1987. p. 156-157.

- 14.** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Prácticas recomendadas para la Prevención de las Micotoxinas en los alimentos, los piensos y sus productos. Roma, 1979. No. 10. 61 p.
- 15.** Calderón, Carmi. Fumigation trials with a mixture of Methyl Bromide and Carbon Dioxide in vertical bins. *Journal of stored Products*, 1973. Vol. 8, p.315.
- 16.** Castro MF, Soares LM y Furlani R. Mycoflora, aflatoxigenic species and mycotoxins in freshly harvested corn (*Zea mays* L.): a preliminary study. *Rev. microbiol.* 1995;26(4):289-95.
- 17.** Goldblatt LA. Aflatoxin. New York: Academic Press. 1969.
- 18.** Nepote MC, Piontelli E, y Saubois A. Toxicidad de cepas de *Aspergillus flavus* aisladas del maíz. *Bol. Micol.* 1995;10(1/2):85-8.
- 19.** Jones RK, Duncan HE y Hamilton PB. Planting date, harvest date and irrigation effects on infection and aflatoxin production by *Aspergillus flavus* in field corn. *Phytopathology.* 1981;71:810-816.

- 20.**Crespo J. Incidencia de la contaminación por aflatoxinas en granos de la costa suroriental de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala/Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá. 1979. 41p.
- 21.**Rojas M, y Mieri A. Incidencia de contaminación con aflatoxina B1 en muestras de harina de maíz precocida, maíz en grano y pico de maíz. Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela de Bioanálisis para obtención del grado Titular. 1986. 50 p.
- 22.**Campos M. Micotoxinas, con énfasis en Aflatoxinas. Guatemala: OPS/LUCAM. 1990, 7 p.
- 23.**Raper KB y Fennell DI. The Genus *Aspergillus*. Baltimore: The Williams y Wilkins. 1965.
- 24.**Environmental Carcinogens Selected Methods of Analysis. Some Mycotoxins. Lyon France: IARC Scientific Publications. 1982, No. 44.
- 25.**Canahuí E. Aflatoxinas y Micotoxinas en alimentos. Guatemala: Laboratorio Unificado de Control de Alimentos y Medicamentos (LUCAM). 1986.

- 26.**Robbins SL, Angell, Marcia y Kumar, Vinay. Patología Humana. 3ra. Ed. México: Interamericana, 1987. (XIV + 703 p.) (p. 539-540).
- 27.**Ordoñez RA. Aflatoxinas y daño hepático en humanos. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Médicas. 1985. 66 p.
- 28.**De León, GV. Aislamiento de Aspergillus y determinación de aflatoxinas en el maíz. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1985. 45 p. (p. 4, 7, 8).
- 29.**Official methods of analysis. 13 ed. Washington: Association of official analytical chemist, 1980. 1018 p. (p. 415-428).
- 30.**Campos M, Crespo SJ. Aflatoxin contamination in grains from the Pacific coast in Guatemala and the effect of storage upon contamination. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1980;27:789-95.
- 31.**Official methods of analysis. 14 ed. AOAC. Arlington, VA. 1984.

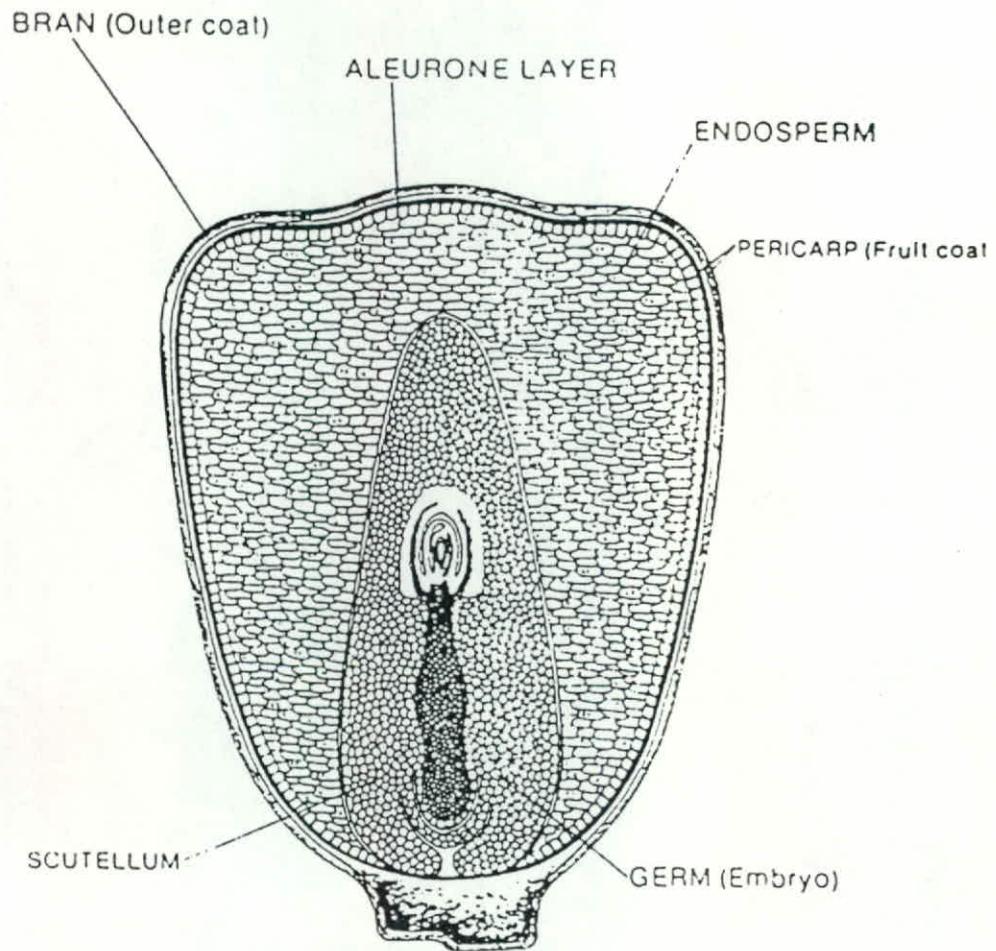
32.Chu FS, et.al. Improved enzymelinked immunosorbent assay for aflatoxin B1 in agricultural commodities. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1987;70:854-857.

33.EZ-SCREEN: Aflatoxin. EDITEK. Inc. USA: Smithkline Animal Health Products. 1988.

13. ANEXOS

ANEXO No. 1

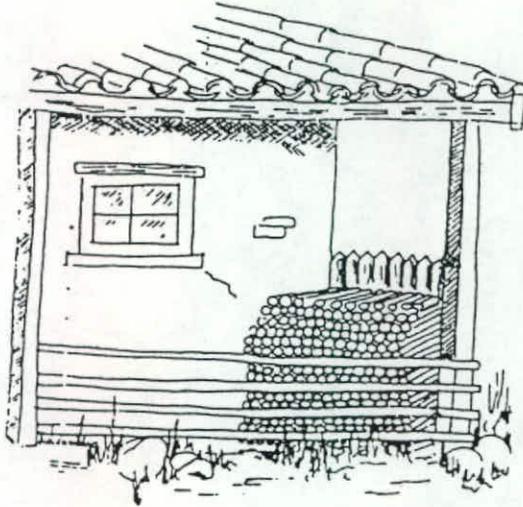
ESTRUCTURA DEL GRANO DE MAIZ



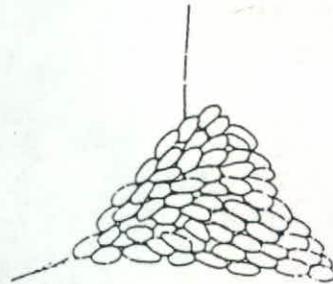
ANEXO No. 2

METODO RUSTICO DE SECADO

TROIA TRADICIONAL

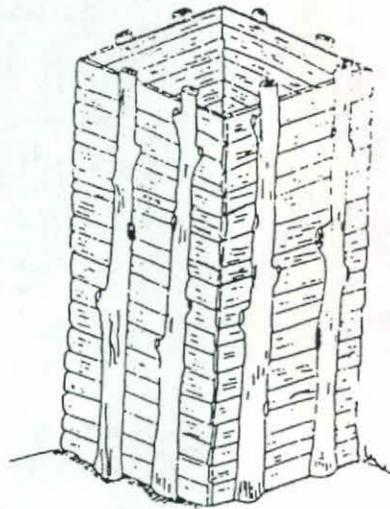
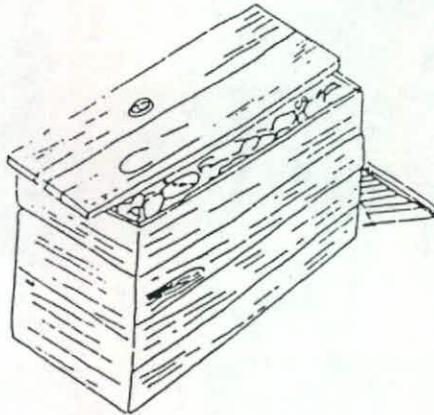


TRUFA



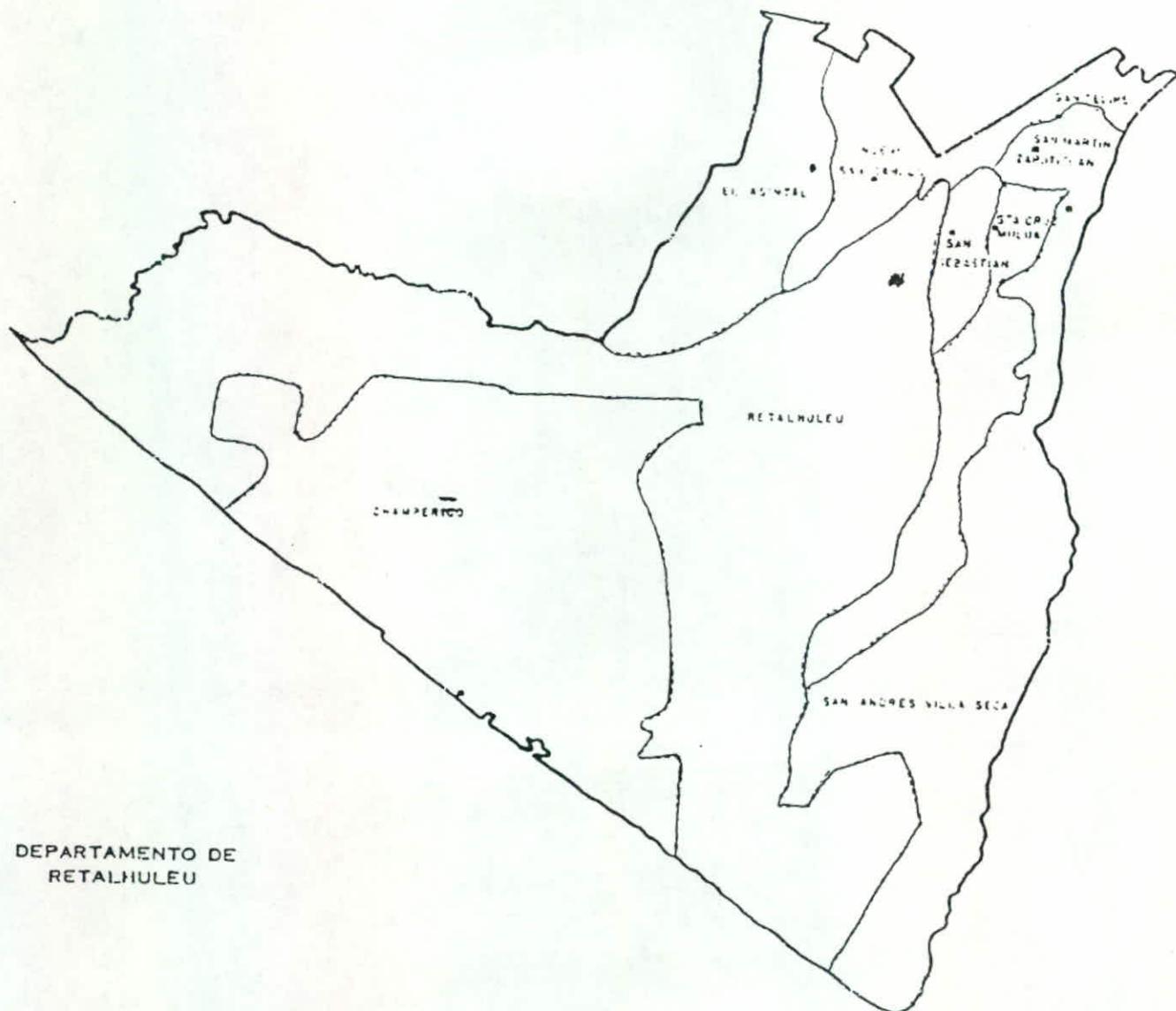
CASA DE MADEIRA TRADICIONAL

BUNKER



ANEXO No 3

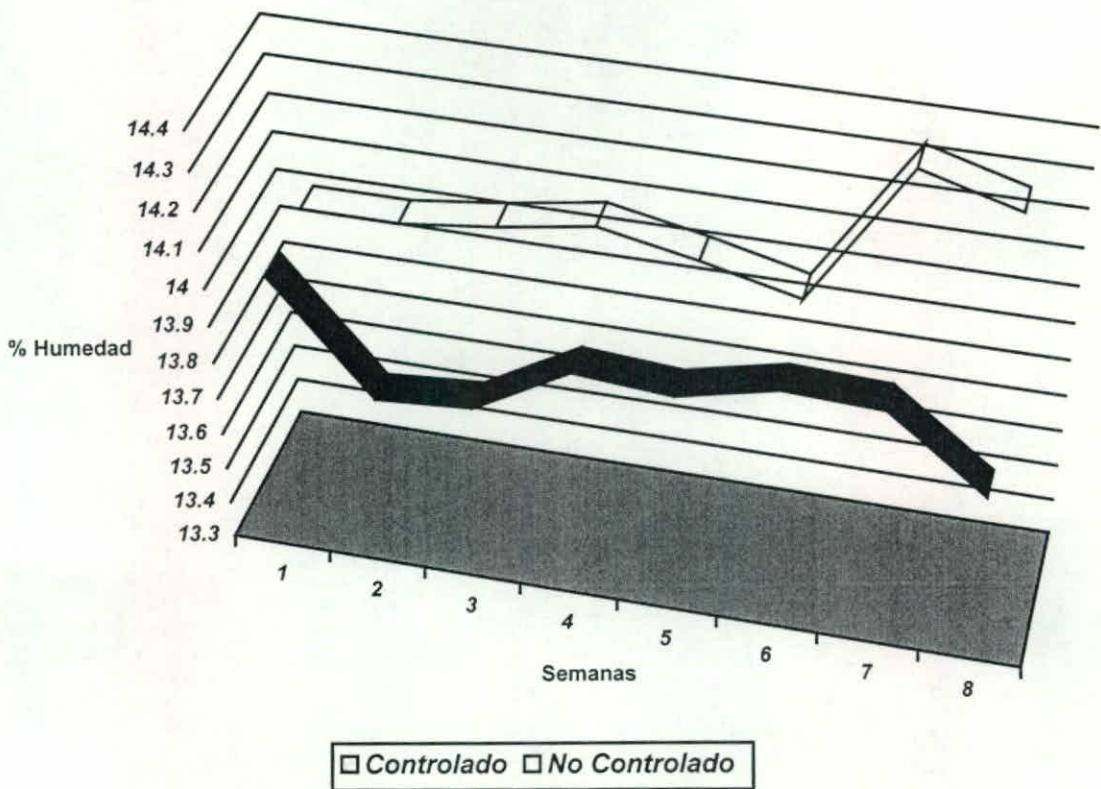
MAPA DEL DEPARTAMENTO DE RETALHULEU



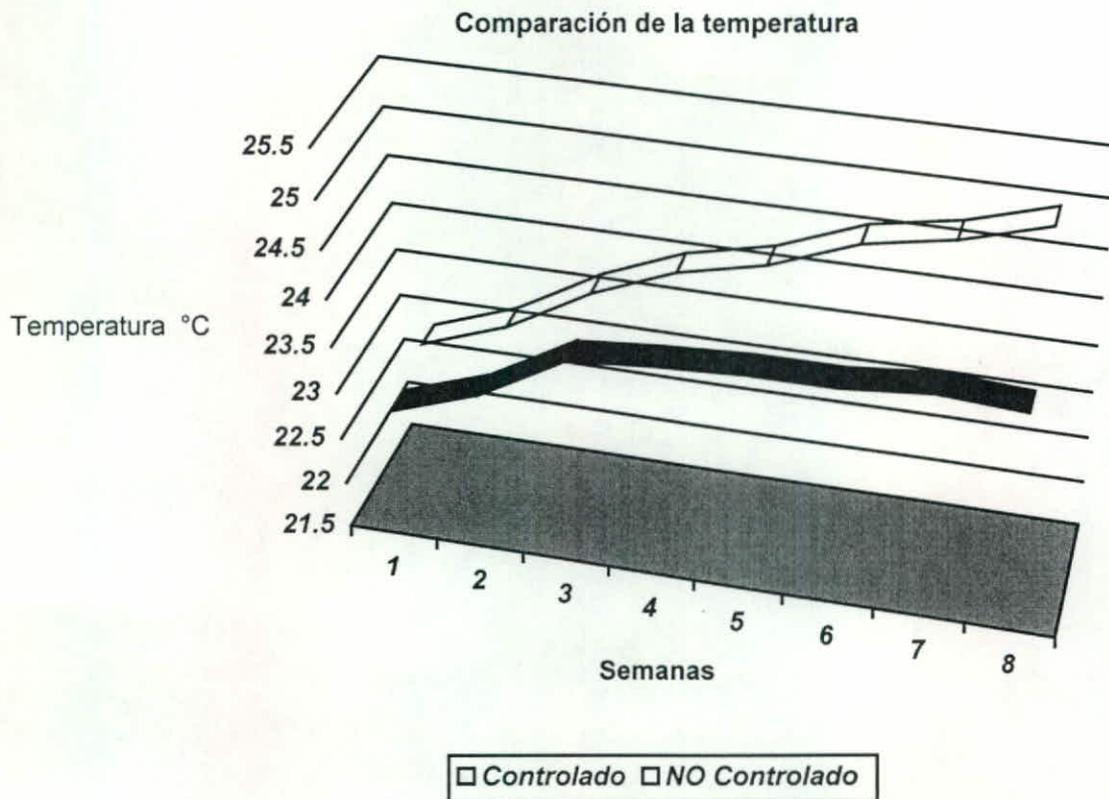
DEPARTAMENTO DE
RETA LHULEU

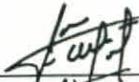
ANEXO No. 4
GRAFICA No. 1

Comparación de la humedad

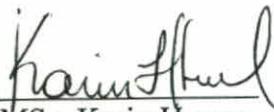


ANEXO No. 4
GRAFICA No. 2





José Félix Mendizábal Pinto
Tesisista



MSc. Karin Herrera
Asesora de tesis



Licda. Heidi Logemann Lima
Directora



Licda. Hada Marieta Alvarado Beteta
Decana