

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



**ANA ALEJANDRA AYALA Y AYALA
BYRON ENRIQUE PÉREZ DÍAZ**

QUÍMICOS BIÓLOGOS

Guatemala, septiembre 2019.

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



**ANA ALEJANDRA AYALA Y AYALA
BYRON ENRIQUE PÉREZ DÍAZ**

Para optar por el título de
QUÍMICOS BIÓLOGOS

Guatemala, septiembre 2019.

JUNTA DIRECTIVA

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Byron Enrique Pérez Díaz	Vocal IV
Br. Pamela Carolina Ortega Jiménez	Vocal V

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por darnos la fortaleza, inteligencia y sabiduría necesaria para culminar una de las metas de nuestra vida profesional. Sin Él, esto no habría podido ser posible.

A NUESTROS PADRES

Leonel Estuardo Ayala, Rosa Elena Ayala, Hilario Enrique Pérez y Haydee Díaz de Pérez.

Por su lucha, trabajo y sacrificio en cada paso que hemos dado. Gracias a su apoyo y amor incondicional hemos logrado este sueño.

A LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

En especial a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por brindarnos el conocimiento necesario para nuestra vida profesional.

A NUESTROS ASESORES

Licda. María del Carmen Bran y MSc. Osberth Morales Esquivel, por su paciencia, apoyo incondicional, compartir sus conocimientos en esta investigación, así como en los cursos impartidos, por asesorarnos y guiarnos en esta nueva etapa profesional y brindarnos todo su apoyo, siempre estaremos agradecidos.

AL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA

Por abrirnos sus puertas y dejarnos ser parte de ellos, por su disposición y su apoyo incondicional en cada etapa de la investigación y formación académica.

AL LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN, ANALISIS, SERVICIO Y ASESORIA (INLASA)

En especial al Lic. Raúl Paniagua por abrirnos las puertas de su laboratorio, por su asesoría y su buena disposición para llevar a cabo nuestra investigación. Gracias por permitirnos ser parte del equipo de trabajo de INLASA.

INDICE

I. RESUMEN	1
II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	2
III. ANTECEDENTES	3
A. Micotoxinas y micotoxicosis	3
1. Aflatoxinas (AFs)	3
a. Características.....	4
b. Toxicidad.....	4
c. Aflatoxicosis.....	5
d. Potencial cancerígeno.....	5
e. Niveles de concentración máxima.....	6
2. Fumonisinias (FBs)	6
a. Características.....	6
b. Toxicidad.....	7
c. Niveles de concentración máxima.....	8
3. Ocratoxinas (OTs)	8
a. Características.....	8
b. Toxicidad.....	9
c. Carcinogénesis.....	10
d. Niveles de concentración máxima.....	10
4. Presencia de micotoxinas en alimentos	10
5. Problemática de las micotoxinas a nivel mundial	11
6. Presencia de micotoxinas en Guatemala	12
B. Factores determinantes en la producción de micotoxinas en alimentos	13
1. Factores que afectan al desarrollo fúngico y la producción de micotoxinas.....	13
a. Temperatura.....	14
b. Actividad de agua.....	14
c. Influencia del pH	14
d. Sustrato.....	15
C. Características morfológicas de los géneros <i>Aspergillus</i> , <i>Fusarium</i> y <i>Penicillium</i>	16
1. Género <i>Aspergillus</i>	16
2. Género <i>Penicillium</i>	17
3. Género <i>Fusarium</i>	17

D. Métodos utilizados para detectar hongos micotoxigénicos en alimentos	18
1. Aislamiento en medios de cultivo	18
2. Técnicas cromatográficas	19
3. Técnicas inmunológicas	19
E. Métodos utilizados para detectar micotoxinas.	20
1. Técnicas cromatográficas	20
2. Separaciones electroforéticas	21
3. Técnicas inmunoquímicas	21
F. Maíz.....	22
1. Producción nacional	23
2. Producción a nivel departamental y municipal	23
3. Consumo aparente	23
IV. JUSTIFICACIÓN	24
V. OBJETIVOS	25
A. General.....	25
B. Específicos	25
VI. HIPÓTESIS	26
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	27
A. Universo y muestras	27
1. Universo	27
2. Muestra.....	27
B. Recursos.....	27
1. Humanos.....	27
a. Asesores.....	27
b. Investigadores.....	27
2. Institucionales.....	27
C. Materiales.....	28
1. Material de laboratorio	28
2. Equipo	29
3. Equipo de oficina.....	29
4. Reactivos	30
D. Procedimientos	30
1. Fase de Campo	30
2. Fase de laboratorio	31

a. Test de luz ultravioleta a longitud de onda de 365 nanómetros (nm).....	31
b. Determinación de porcentaje de humedad	31
c. Determinación de pH.....	32
d. Aislamiento de hongos micotoxigénicos a partir de granos de maíz	32
i. Descripción macroscópica de las colonias aisladas.....	33
e. Identificación de los hongos aislados	33
i. Preparación de microcultivo	33
ii. Descripción microscópica del micelio.....	34
iii. Identificación.....	34
f. Determinación de aflatoxinas, fumonisinas y ocratoxina A por el método de ELISA Veratox®.....	34
i. Principio y especificaciones de la prueba.....	34
ii. Extracción de la muestra	35
iii. Procedimiento de la prueba de ELISA para aflatoxinas, fumonisinas y ocratoxina A	35
3. Análisis de resultados	36
VIII. RESULTADOS.....	37
IX. DISCUSIÓN	50
X. CONCLUSIONES	56
XI. RECOMENDACIONES.....	57
XII. REFERENCIAS	58
XIII. ANEXOS	67

I. RESUMEN

Las micotoxinas son productos secundarios del metabolismo de muchos hongos y son tóxicas para humanos y animales. Las más frecuentes son las aflatoxinas, fumonisinas y ocratoxinas producidas principalmente por especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*.

Debido a la importancia del maíz en el consumo humano y su impacto en la salud, el objetivo de este estudio fue determinar si el maíz que se consume en Tecpán, Chimaltenango presenta aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxinas y hongos con potencial micotoxigénico.

Lo anterior se llevó a cabo por medio de la medición del porcentaje de humedad y pH del maíz, aunado a una prueba preliminar para la determinación de las micotoxinas por medio de irradiación con luz ultravioleta a 365 nm y una prueba confirmatoria de ELISA competitiva directa, así como el aislamiento de hongos potencialmente micotoxigénicos,

Se obtuvieron ocho muestras, siete de Tecpán y una del Instituto de Ciencia y Tecnología (ICTA) de Quetzaltenango. El porcentaje de humedad de las muestras varió entre 8.5% a 14.8% y el pH entre 6.02 a 6.58. Ninguna presentó fluorescencia al ser irradiada con luz UV y las concentraciones de aflatoxinas fueron < 2 ppb, las de ocratoxina A fueron 3.6 a 37.2 ppb, sin detectarse fumonisinas. Además, se aislaron 104 cepas, de las que se identificaron 15 hongos, de los cuales el de mayor porcentaje perteneció al género *Acremonium* con un 27.88%, seguido de *Aspergillus* y *Penicillium* ambos con 11.54%.

De acuerdo con los datos obtenidos se puede inferir que las muestras analizadas provenientes de Tecpán e ICTA no son aptas para el consumo humano ya que las concentraciones para ocratoxina A, fueron mayores a los límites sugeridos por la FDA (Khoury & Atoui, 2010). Sin embargo, los valores para aflatoxinas y fumonisinas se encontraron dentro de los límites permisibles, tanto para la FDA como para COGUANOR.

Se recomienda realizar análisis de las concentraciones de micotoxinas por el método de Cromatografía líquida de alta eficacia acoplada a espectrometría de masas (HPLC/MS) y utilizar un enfoque polifásico que combine fenotipo, fisiología, secuenciación genética y metabolitos secundarios para la identificación hasta especie de hongos potencialmente micotoxigénicos.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos producidos principalmente por varias especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, entre otros, las cuales son responsables de efectos tóxicos y cancerígenos. Estas micotoxinas se producen en diversos granos tales como el maíz, maní y otros alimentos, cuando las condiciones de cosecha y almacenamiento de los mismos son inapropiadas. Algunas micotoxinas importantes son las aflatoxinas, las fumonisinas y las ocratoxinas, las cuales son hepatotóxicas y cancerígenas para animales y humanos, además de producir malnutrición crónica e inmunosupresión (Gimeno y Martins, 2011).

En Guatemala se ha comprobado que existe una alta prevalencia de aflatoxinas y fumonisinas en maíz procedente de los mercados de 22 departamentos del país, según fue demostrado en un estudio realizado en el año 2012 (Torres et al., 2015). Por otra parte, la ocratoxina A se ha encontrado en alimentos para aves de corral (Gómez y Leónidas, 2009).

Debido que el maíz es uno de los cultivos más importantes del país y es un componente esencial en la cultura y en la dieta de la población, principalmente en el área rural, en este trabajo se aislaron géneros fúngicos que colonizaron el maíz que se comercializa en el mercado del municipio de Tecpán del departamento de Chimaltenango, así como se determinó las aflatoxinas totales (B1, B2, G1 y G2), ocratoxina A y fumonisinas totales (FB1, FB2 y FB3) por el método de ELISA competitivo directo. Se analizó también, maíz certificado procedente del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas –ICTA- de Quetzaltenango, a manera de comparación.

Los resultados de este estudio demostraron la colonización por géneros fúngicos y la presencia de micotoxinas en los granos de maíz que se consumen en la localidad antes mencionada, para posteriormente recomendar condiciones apropiadas de almacenamiento que eviten que la población se exponga a micotoxinas. Este trabajo forma parte del proyecto macro “Diversidad de macrohongos y microhongos de Guatemala” que se ejecuta en el Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos, del Departamento de Microbiología.

III. ANTECEDENTES

A. Micotoxinas y micotoxicosis

Las micotoxinas (del griego *mikes* “hongo” y el latín *toxicum* “veneno”) son productos secundarios del metabolismo de muchos hongos y son tóxicas para los seres humanos, animales y plantas. Estas se producen cuando la fase de crecimiento miceliar llega a su etapa final, así como durante la fase estacionaria, a menudo asociadas con la diferenciación y la esporulación del hongo (Medeiros et al., 2012).

Las micotoxinas, al ser moléculas relativamente pequeñas (<700 kDa), pueden contaminar los alimentos, los piensos o las materias primas utilizadas para la elaboración de los mismos lo que origina un grupo de enfermedades y trastornos denominados micotoxicosis (Arrúa, Moura, y Fernández, 2013).

Por otra parte, las micotoxicosis son intoxicaciones provocadas por inhalación, contacto directo o ingestión de alimentos contaminados con micotoxinas. Según la concentración, tiempo de exposición y factores como edad, sexo, dieta o cualquier otra condición general de cada individuo, pueden clasificarse como: a) micotoxicosis aguda, se produce cuando se consumen micotoxinas en concentraciones desde moderadas a altas, lo que causa enfermedades de corta duración y rápida progresión e incluso la muerte y b) micotoxicosis crónica, se produce por la ingesta de niveles de micotoxinas moderados o bajos, lo que causa enfermedades de larga duración y de progresión lenta (Martínez-Larrañaga y Anadón, 2012).

Entre las micotoxinas más frecuentes y causantes de micotoxicosis, se encuentran las aflatoxinas, las fumonisinas y las ocratoxinas, las cuales son producidas por especies de hongos pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* (Gimeno y Martins, 2011).

1. Aflatoxinas (AFs)

Son compuestos químicos producidos principalmente por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* y son más frecuentes en cultivos de regiones tropicales y subtropicales del mundo. La contaminación puede ocurrir en el campo, así como en la postcosecha y también en las condiciones de almacenamiento (Yao, Hruska, & Di Mavungu, 2015).

Las aflatoxinas pueden dividirse en AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1 y AFM2. De ellas, *A. flavus* produce AFB1 y AFB2, en tanto que *A. parasiticus* y *A. nomius* producen AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2 (Yao et al., 2015). AFB1 es la más frecuente y tóxica, así como el más potente carcinógeno natural y, según la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) se designa dentro del Grupo 1 el cual se considera como agentes carcinógenos en humanos (International Agency for Research on Cancer, 1993).

AFB1 y AFG1 son el resultado del metabolismo de *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*, las cuales en condiciones de pH ácidos dan origen a la AFB2 y AFG2, respectivamente, por medio de una reacción de hidrogenación (Kensler, Roebuck, Wogan, & Groopman, 2010). Por otra parte, las AFM1 y AFM2 (derivados monohidroxilados de AFB1 y AFB2 respectivamente) se producen después de que los mamíferos, incluidos los seres humanos ingieren alimentos contaminados, que son secretados en la leche materna (Yao et al., 2015).

a. Características

Químicamente son cumarinas que contienen unido un resto dihidrofurano, con anillos de bifurcación y configuración tipo lactona (Anexo 1). La denominación AFB y AFG fue otorgada debido a la capacidad de emitir fluorescencia bajo la luz UV: B, color azul (Blue) y G, color verde (Green). AFB1 y AFG1 poseen un enlace insaturado en la posición 8,9 en el anillo terminal de furano, en el que se demostró que una epoxidación en esta posición era crítica para su potencial cancerígeno (Kensler et al., 2010).

b. Toxicidad

AFB1 es la forma más prevalente y potente de estas toxinas. Sin embargo, requiere ser activada metabólicamente en el ser humano a través del hígado a su forma carcinógena definitiva, por medio de un proceso que se realiza principalmente por el sistema citocromo P450 (CYP) monooxigenasa. La AFB1 se metaboliza en un epóxido reactivo AF-8,9-epóxido, reacción catalizada por CYP1A2 y CYP3A4. La formación de este epóxido abre tres rutas principales de metabolismo en humanos: la primera, donde el epóxido puede reaccionar mediante la interacción con el ácido desoxirribonucleico (ADN) para producir un aducto AFB1-N7-Guanina (Kensler et al., 2010). La palabra aducto se origina por la contracción de las palabras adición y producto y se refiere a una entidad química que se produce por la unión

de dos moléculas mediante un enlace covalente (Moncada, 2003). Este aducto es inestable en el ADN y sufre rápidamente despurinación y se excreta en la orina. La segunda, el epóxido puede formar productos que reaccionan con la albúmina del suero para formar aductos de lisina de larga vida (AFB1- ALB sérica). La tercera, el epóxido puede ser conjugado por la enzima glutatión S-transferasa (GST), que se metaboliza adicionalmente para formar AF-ácido mercaptúrico que es un producto de desintoxicación que puede ser excretado en la orina (Wu, 2015).

En las personas, las diferencias en la susceptibilidad a las aflatoxinas producidas por los diferentes tipos de esta micotoxina dependen en gran medida de la fracción de la dosis que se dirige hacia diversas vías posibles (sanguínea, urinaria, hepática) y son el resultado de la activación con el epóxido, el cual reacciona con las proteínas y el ADN (Williams et al., 2004).

c. Aflatoxicosis

Se define como la intoxicación que resulta de la ingestión de aflatoxinas. Se han identificado dos formas de aflatoxicosis: intoxicación aguda e intoxicación crónica (Gimeno y Martins, 2011).

Williams y colaboradores en el 2004, realizaron una revisión de literatura de las especies de hongos micotoxigénicos, en la cual se demostró evidencia clara que la dosis y la duración de la exposición a la aflatoxinas, tienen un efecto importante en la toxicidad y además pueden causar una serie de consecuencias: a) grandes dosis dan origen a necrosis hemorrágica del hígado, proliferación celular en las vías biliares, edema y letargo, las cuales conducen a una intoxicación aguda que resulta en daño hepático (cirrosis) y la muerte. b) dosis subletales provocan vómitos, dolor abdominal, edema pulmonar e infiltración grasa y necrosis del hígado las cuales conducen a una intoxicación crónica que tiene consecuencias nutricionales e inmunológicas.

d. Potencial cancerígeno

Para los seres humanos son agentes promotores de cáncer en el hígado y cáncer de pulmón. El aumento del riesgo de hepatomas es causado por mutaciones de delección en el gen supresor de tumores p53 y la activación de oncogenes dominantes. El riesgo de cáncer debido

a la exposición a las diversas formas de aflatoxinas está bien establecido y se basa en la dosis acumulativa de por vida. En muchos países en desarrollo se observa una fuerte sinergia entre AFB1 con los virus de la hepatitis B (VHB) y hepatitis C (VHC) para producir cáncer de hígado (Anexo 2 y 3). En personas con antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) positivo, las aflatoxinas son 30 veces más potentes que en personas sin el virus y el riesgo relativo de cáncer para los pacientes con VHB se incrementa desde 5% a 60% cuando se combina con la exposición a aflatoxinas (Kensler et al., 2010).

e. Niveles de concentración máxima

La Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos ha establecido al igual que la IARC que identifica a las aflatoxinas como carcinógenos de Clase 1, que se permita una concentración máxima de esta toxina de 20 ppb en productos destinados al consumo humano y 0.5 ppb en leche en Estados Unidos (Kensler et al., 2010). Por otra parte, en algunos países europeos es de 4 ppb en alimentos básicos (Williams et al., 2004).

En Guatemala, la Norma COGUANOR NGO 34 052h2 actualmente vigente, establece que el contenido de aflatoxinas en el maíz no debe de ser mayor a 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ equivalente a 20 ppb (Ministerio de Economía, 1992).

2. Fumonisin (FBs)

F. verticillioides es el principal productor de varias toxinas entre las cuales las fumonisin son mayoritarias. Estas micotoxinas fueron aisladas y descritas por primera vez en Sudáfrica en 1988 cuando buscaban el agente causal de la leucoencefalomalacia equina, que se asociaba con el consumo de maíz mohoso (De la Torre-Hernández, Sánchez-Rangel, Galeana-Sánchez, y Plasencia-de la Parra, 2014).

a. Características

Las fumonisin son compuestos que tienen una estructura lineal de 20 átomos de carbono con grupos metilo e hidroxilo, un grupo amino y dos moléculas de ácido tricarbónico esterificadas en C14 y C15 (Anexo 4). Las fumonisin están divididas en grupos estructurales distintos designados con las series A, B, C y P. Las más importantes desde el punto de vista de

seguridad alimentaria son FB1 y FB2 pues aparecen con frecuencia en productos agrícolas de todo el mundo, principalmente el maíz. Los principales hongos productores de fumonisinas son *F. verticillioides*, *F. proliferatum* y otras especies del género, aunque recientemente se ha descubierto que la FB2 también puede ser producida por *A. niger* (Abrunhosa et al., 2012).

b. Toxicidad

Se encuentran catalogadas dentro del Grupo 2B de acuerdo con la IARC, el cual las considera como agente posiblemente carcinógeno. Debido a que las fumonisinas tienen una estructura química similar a la cadena larga de los precursores de los esfingolípidos, se considera que el metabolismo de estos últimos es el blanco de la acción tóxica de las fumonisinas. El metabolismo de los esfingolípidos consta de dos etapas, la síntesis *de novo* a partir del complejo serina palmitoil-Coenzima A y el recambio de esfingolípidos que incluye la hidrólisis de esfingolípidos complejos. En ambas etapas interviene la enzima ceramida sintetasa, la cual es bloqueada por la acción de la fumonisina. Este bloqueo conlleva a la inhibición de la síntesis de ceramida y por lo tanto, a un incremento de la esfinganina y la esfingosina y a una mayor degradación de las bases esfingoides provenientes de la dieta, que finalmente conduce a una reducción en la formación de esfingomielina (Torres-Sánchez y López-Carrillo, 2010).

En el cuerpo humano este mecanismo produce el agotamiento de los esfingolípidos complejos (ceramida, esfingomielina y glicofosfolípidos) y la acumulación de las bases esfingoides (esfinganina y esfingosina) que alteran las funciones celulares que favorecen el estrés oxidativo y la proliferación de peroxisomas, que darán origen a un daño neural, hepático y nefrótico. A través de la activación del factor de necrosis tumoral, la exposición a FB1 también altera el balance de muerte celular y replicación, de esta forma contribuye a la carcinogénesis (Torres-Sánchez y López-Carrillo, 2010).

Un mecanismo adicional que se ve alterado por FB1 es el metabolismo del folato. La incorporación de folato a la célula depende de dos proteínas presentes en la membrana que requiere esfingomielina para su adecuado funcionamiento: el transportador de folato reducido (hRFC1) y el receptor de folato (RF). En condiciones de deficiencia de esfingomielina, disminuye la incorporación de folato a la célula y se produce un estado deficiente del mismo

que lleva a un daño en el tubo neural del embrión en mujeres embarazadas (Abrunhosa et al., 2012).

c. Niveles de concentración máxima

La FDA ha establecido niveles de acción para fumonisinas totales (FB1 + FB2 + FB3) en maíz y piensos. Para la alimentación de humanos el nivel de acción es de 2 a 4 ppm (De la Torre-Hernández et al., 2014). En Guatemala no existe una normativa vigente donde se establezca las concentraciones máximas permisibles para fumonisinas totales en maíz u otros granos.

3. Ocratoxinas (OTs)

Las ocratoxinas son micotoxinas que resultan del crecimiento de *A. ochraceus* y *A. ostianius* así como de *P. verrucosum* en el grano de maíz almacenado en un rango de porcentaje de humedad de 15 a 19% y temperaturas mayor o iguales a 15°C (Petzinger & Ziegler, 2000).

a. Características

Existen varios tipos de ocratoxinas, entre las cuales se encuentran la ocratoxina A (OTA) la que se considera de mayor toxicidad y está compuesta de una molécula de isocumarina y una de fenilalanina unida por un enlace amida (Anexo 5). La ocratoxina B (OTB) es producto de un derivado no clorado de OTA, pero con carácter menos tóxico. Por último, existe también la ocratoxina C (OTC), la cual es un derivado esterificado de OTA y tiene escaso potencial tóxico (Tozlovanu, Faucet-Marquis, Pfohl-Leszkowicz, & Manderville, 2006).

OTA es un ácido orgánico débil que posee una estructura cristalina, así como una intensa fluorescencia verde bajo luz UV en medio ácido y fluorescencia azul en condiciones alcalinas. La particularidad de esta toxina se debe a su alta estabilidad, ya que se ha demostrado que posee resistencia a la acidez y altas temperaturas, por lo tanto, una vez que contamina los productos alimenticios es muy difícil de eliminarla totalmente. Solamente se degrada parcialmente en condiciones normales de cocción, puesto que puede resistir tres horas de alta presión de vapor (121°C), e incluso a 250 °C su destrucción no es completa. Sin embargo, la molécula se degrada a un bajo nivel de humedad cuando ha sido tratada con un exceso de

hipoclorito de sodio (NaClO). Por otra parte, la exposición a la luz UV es un factor de degradación (Khoury & Atoui, 2010).

b. Toxicidad

Tras el descubrimiento de nefropatías espontáneas en humanos y animales, Faucet, Pfohl-Leszkowicz, Dai, Castegnaro & Manderville en 2004, llevaron a cabo estudios experimentales con el fin de demostrar la implicación de la OTA en estas enfermedades y demostraron que la molécula puede tener varios efectos nefrotóxicos, hepatotóxicos, neurotóxicos, teratogénicos e inmunotóxicos en varias especies de animales. Además, puede causar tumores renales y hepáticos en ratones y ratas, sin embargo, la toxicidad varía en función del sexo, la especie y el tipo celular de los animales estudiados. También se ha revelado la formación de aductos de ADN tras la exposición crónica de la OTA en ratas y exposición aguda en cerdos.

En la nefrotoxicidad, la nefropatía es el principal efecto tóxico de OTA, ya que se ha demostrado que juega un papel importante en la etiología de la nefropatía porcina. Esta micotoxina también se ha asociado con nefropatía humana y se sospecha que es la causa de la enfermedad mortal conocida como nefropatía endémica de los Balcanes (BEN), la cual es una enfermedad crónica intersticial que afecta a la población del sudeste de Europa (López de Cerain, González-Penas, Jimenez, & Bello, 2002). En cuanto a la neurotoxicidad, se ha demostrado en ratones que la administración de OTA en el período de gestación induce a muchas malformaciones en el sistema nervioso central. De la misma manera, se informó que OTA puede considerarse como una posible causa de ciertas lesiones, así como daños a nivel cerebral en humanos (Khoury & Atoui, 2010).

Bajo ciertas condiciones OTA presenta un efecto inmunosupresor potente que se observa tanto en dosis bajas como altas. Petzinger & Weidenbach en 2002, describieron los efectos sobre la inmunidad humoral y celular, ya que parece jugar un papel en la inhibición de los linfocitos T y B periféricos, lo que disminuye la proliferación y la producción de interleucina 2 (IL2) y sus receptores. Por otra parte, bloquea la actividad de las células asesinas naturales (NK), así como la producción de interferón. A raíz de estos resultados, OTA se ha tomado como un importante agente inmunosupresor (Petzinger & Ziegler, 2000).

c. Carcinogénesis

Con base en la evidencia de carcinogenicidad en animales de experimentación, se sospecha que OTA sea un agente carcinógeno humano. Cuando se administra en la dieta administrada a ratones, se observan tumores hepatocelulares, tumores de células renales y nódulos hepáticos hiperplásicos. Además, la administración de OTA en la dieta induce carcinomas hepatocelulares y adenomas en ratones hembra. Sin embargo, no se ha reportado estudios en humanos que relacionen la exposición a OTA con el cáncer humano (Pfohl-Leskowicz & Manderville, 2007).

d. Niveles de concentración máxima

Aunque el FDA no ha emitido un nivel de advertencia o regulación para OTA, se ha acordado que los niveles de cuando menos 10-20 ppb para los productos destinados para el consumo humano o animal pueden provocar problemas de salud y pérdidas económicas. Algunos mercados extranjeros han establecido límites de regulación entre los 5 y los 50 ppb (Khoury & Atoui, 2010). En Guatemala no existe una normativa vigente donde se establezca las concentraciones máximas permisibles para OTA en maíz.

4. Presencia de micotoxinas en alimentos

Los hongos pueden crecer y producir toxinas en una amplia variedad de sustratos. Las especies fúngicas toxigénicas que se encuentran más frecuentemente en los alimentos pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. La presencia del hongo toxigénico en un alimento indica el posible peligro potencial, pero el diagnóstico definitivo solo se puede realizar por la identificación de la toxina específica, ya que la presencia del hongo no indica por sí mismo que haya evidencia de producción de toxinas (Martínez-Larrañaga y Anadón, 2012).

La presencia de micotoxinas, se evidencia en productos agrícolas particularmente cereales, granos y semillas que son la principal fuente de micotoxinas en la cadena alimentaria, también en productos fermentados y alimentos madurados a base de levaduras, en alimentos y productos de origen animal debido al resultado de ser alimentados con piensos contaminados con micotoxinas, por otra parte pueden estar presentes en alimentos estropeados que dan origen

al crecimiento de hongos y la producción de micotoxinas y productos terminados conservados o almacenados durante mucho tiempo o en condiciones inapropiadas (Martínez-Larrañaga y Anadón, 2012).

5. Problemática de las micotoxinas a nivel mundial

El problema de las micotoxinas es una preocupación mundial ya que causa importantes pérdidas humanas y económicas. Aproximadamente el 5-10% de la producción mundial de alimentos puede perderse por su causa. En los Estados Unidos se estima que la presencia de micotoxinas en cultivos de cereales puede causar pérdidas directas de alrededor de 932 millones de dólares anuales e indirectas de más de 466 millones. En países subdesarrollados extremadamente dependientes de cultivos locales (como el caso del maíz en África) las micotoxinas provocan, además de perjuicios económicos, una elevada morbilidad y muerte prematura entre la población humana. Actualmente en los países desarrollados, los efectos tóxicos más relevantes atribuidos a las micotoxinas es ser causantes de carcinogenicidad y debilitar el sistema inmune de los individuos (Abrunhosa et al., 2012).

Streit y colaboradores en el 2012, informaron que la contaminación por *A. flavus* productor de AF, previamente poco común en Europa, se convertirá cada vez más en un problema. De hecho, en el año 2003 en el que hubo una estación climática caliente y seca, se evidenció una colonización severa por *A. flavus* en maíz en el norte de Italia, ya que se demostró una incidencia de AFB₁ del 75% con una significancia de contaminación de 44 ppb. Así mismo, en países como España, República Checa, Dinamarca, Portugal, Hungría, Suiza, Alemania, Polonia, Rumania, Bulgaria, Croacia y el Sur de Europa se registró presencia de micotoxinas como aflatoxinas, fumonisinas y OTA en maíz y productos relacionados con este. Así mismo se determinó que en regiones comúnmente asociadas con climas cálidos y secos, por ejemplo, Italia, Alemania y España el maíz cultivado presentaba *F. verticillioides* y como resultado, se detectó la contaminación por fumonisinas en el 34% de las muestras (Streit et al., 2012).

En muchos países en desarrollo, la combinación del secado insuficiente de los granos y las condiciones atmosféricas húmedas han dado como resultado niveles inaceptables de aflatoxinas en el maíz y otros alimentos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó varios estudios en África que informaron niveles de aflatoxinas en alimentos básicos que

exceden los límites permitidos por el Codex Alimentarius (World Health Organization -WHO, 2006).

En Argentina, durante varios años se llevaron a cabo estudios que demostraron la contaminación de maíz con niveles por encima de 20 ppb de aflatoxinas totales en el 30% de muestras, las cuales coincidentemente procedieron de cosechas producidas en condiciones de sequía. Por ejemplo, en 1990 en dos sitios de producción durante el período de cosecha, se obtuvo una frecuencia de muestras positivas para aflatoxinas totales en un ámbito de 24.5% (rango de 2-22 ppb) y 31.1% (rango de 2-230 ppb) (Resnik, Costarrica, & Pacin, 1995).

En Brasil se realizaron varios estudios sobre la contaminación por AF y la AFB1 en el maíz en varias regiones. En el Sur, el 18% de 165 muestras fueron positivas para AFB1 y el 7.2% se encontraron mayores a 30 ppb. En el Sureste el 8.5% fueron positivas y sólo el 3.7% tenían niveles superiores a 30 ppb (Scussel & Rodriguez-Amaya, 1985)

De las más de 3000 muestras de maíz analizadas en Costa Rica, sólo la mitad fueron aptas para el consumo humano ya que presentaron valores menores a 20 ppb de aflatoxinas totales, en tanto que el 30% tenían una contaminación mayor a 100 ppb. En otro estudio de las 3000 muestras analizadas por el Consejo Nacional de Producción, el 17% de las muestras presentaron contaminación por aflatoxinas entre 20 y 220 ppb con un promedio de 50 ppb (Resnik et al., 1995). En Cuba la mayor contaminación por aflatoxinas se encontró en el maíz, con una frecuencia del 25.5%. En México, el maíz vendido y distribuido a través del mayoreo a granel en varios puntos de venta en Monterrey mostró concentraciones para AFB1 entre 5.0 a 465.3 ppb, y para AFG1 entre 1.6-57.1 ppb. De las muestras, 87.8% estaban contaminados con aflatoxinas y 58.6% se encontraban por encima del límite legal 20 ppb (Torres, Acuña, Naccha, Montoya, & Castrellón, 1995).

6. Presencia de micotoxinas en Guatemala

En Guatemala, donde el maíz se consume en grandes cantidades cada día y donde la ingesta de FB1 puede ser potencialmente alta, la exposición a fumonisinas y/o aflatoxinas podría ser un factor contribuyente a la aparición de problemas de salud. Por ejemplo, el país presenta la quinta mayor prevalencia de retraso del crecimiento en el mundo y la más alta de América, también tiene la mayor incidencia y la segunda prevalencia más alta de carcinoma

hepatocelular humano (HCC) en los hombres en América (Eaton, Beima, Bammler, Rile, & Voss, 2010)

También se han investigado los departamentos donde la exposición a las fumonisinas y aflatoxinas son probablemente las más altas. Torres y otros (2015), analizaron 640 muestras de maíz de los 22 departamentos de Guatemala para determinar fumonisinas y aflatoxinas totales. Las muestras destinadas a la alimentación humana y/o animal fueron obtenidas en mercados locales. Los resultados mostraron que el riesgo de co-exposición a AFB1 y fumonisinas es potencialmente alto. El 78% de las muestras de maíz limpio (no visiblemente mohoso) contenían menos de 20 ppb de AFB1, en tanto que el 11% de las muestras se encontraban mohosas y contenían AFB1 en niveles significativamente más altos en comparación con las muestras que no presentaban moho. Todas las muestras fueron positivas en FB1 porque los niveles fueron los mismos tanto para las muestras de los granos limpios como para los que presentaban moho.

B. Factores determinantes en la producción de micotoxinas en alimentos

Los alimentos, por su naturaleza son sustratos óptimos para el crecimiento y metabolismo de los microorganismos y existen factores que influyen en la selección y multiplicación de la microbiota que poseen. Los factores intrínsecos están relacionados con la composición química y propiedades físicas o biológicas de los alimentos (composición, actividad de agua, pH), en tanto que los factores extrínsecos son propios del ambiente donde se conservan (temperatura de almacenaje, humedad ambiental). Por otra parte, existen también factores relacionados con tratamientos tecnológicos y factores implícitos (relaciones de competencia entre diferentes microorganismos). Los factores anteriormente mencionados actúan como mecanismos de selección ya que determinan la denominada resistencia a la colonización del alimento (Gimeno y Martins, 2011).

1. Factores que afectan al desarrollo fúngico y la producción de micotoxinas

Los factores intrínsecos, extrínsecos e implícitos pueden ejercer, sin duda, una presión sobre el desarrollo de los hongos toxigénicos, y por tanto sobre la acumulación de micotoxinas (Sanchis, Marín, y Ramos, 2007).

a. Temperatura

Los hongos están adaptados a desarrollarse en un amplio intervalo de temperaturas, de manera que las condiciones de producción en campo pueden conducir a la existencia de un problema fúngico o de micotoxinas. El almacenamiento de dichas materias primas a temperatura ambiente favorece el crecimiento fúngico, en tanto que la refrigeración no suele ser suficiente para frenar la alteración (Soriano del Castillo, 2007).

b. Actividad de agua

La actividad de agua (a_w , por sus siglas en inglés) junto con la temperatura, son los factores más determinantes del desarrollo fúngico. La a_w se usa como medida de la disponibilidad de agua para los microorganismos, ya que dicha medida es independiente del sustrato o alimento al que se refiere. En el campo de las micotoxinas, la a_w es la responsable de la acumulación de micotoxinas en precosecha y postcosecha. Por ejemplo, las fumonisinas de *Fusarium* se acumulan en cereales en campo o durante el almacenamiento sin secado previo, mientras que las OTA de *Aspergillus* y *Penicillium*, suelen acumularse en cereales almacenados. Por el contrario, la presencia de aflatoxinas en maíz suele ir ligada a la contaminación en campo por *A. flavus*, pese a que también puede sintetizarse en cereales almacenados con bajos niveles de humedad (Sanchis et al., 2007).

c. Influencia del pH

Los hongos son capaces de crecer en un amplio intervalo de pH (3-7), aunque tienen su intervalo óptimo cercano a 5. A pesar de que el pH no es un condicionante tan importante como lo puede ser la a_w o la temperatura, el cambio de valor de pH de un sustrato o alimento puede alterar la respuesta al resto de factores (Soriano del Castillo, 2007). En cuanto a la producción de micotoxinas, la influencia del pH va estrechamente ligada al resto de factores ambientales, como la temperatura o la a_w . A veces el efecto del pH se traduce también en un cambio en la principal micotoxina sintetizada. Por ejemplo, *A. parasiticus* cuando crece en un medio de cultivo semisintético con un nivel inicial de pH menor de 6.0, se favorece la síntesis de las AFB, mientras que en valores de pH iniciales superiores a 6.0 se estimula la síntesis de AFG (Gimeno y Martins, 2011).

d. Sustrato

Para una determinada cepa fúngica, la capacidad de producir micotoxinas y la cantidad sintetizada depende del sustrato sobre el cual se desarrolla. Se sabe que la proporción proteínas/carbohidratos es responsable de potenciar la síntesis de varias micotoxinas. Del mismo modo, la fuente de carbono también puede influir en la síntesis. La elevada cantidad de aminoácidos libres existentes en el sustrato también se ha investigado como una posible explicación para justificar la elevada tasa de producción de micotoxinas, como ocurre en el caso de la síntesis de OTA en el polen de abeja (Sanchis et al., 2007).

Cada uno de los factores mencionados determinan la colonización de los hongos, de acuerdo con los requerimientos de crecimiento de cada uno de ellos. Este fenómeno se pone de manifiesto cuando se estudia el comportamiento de las distintas especies en alimentos, donde es posible apreciar un desarrollo secuencial de poblaciones fúngicas con respecto a la actividad de agua o contenido de humedad del alimento. Este hecho ha permitido agrupar a la microbiota fúngica en tres categorías: de campo, de transición y de almacenamiento. En la primera se requiere un alto contenido de humedad para crecer (22-25%) y los hongos invaden los granos de plantas antes de la recolección, algunos géneros involucrados son *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* y *Drechslera*. En la segunda, los hongos son capaces de crecer en medios con contenidos de humedad bajos y alta presión osmótica y la invasión de los granos se da después de la recolección y secado; en esta categoría se pueden encontrar especies de los géneros *Fusarium*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Monascus*, *Geotrichum* y *Cladosporium*. En la última, al igual que en la anterior, los hongos son capaces de crecer bajo los mismos factores ambientales y estos invaden los granos durante el almacenamiento (los géneros relacionados son *Aspergillus*, *Eurotium* y *Penicillium*). Existe otra clasificación, basada en la interacción biológica entre los hongos y el sustrato que coloniza, que los agrupa en hongos de campo, los cuales presentan propiedades parasíticas o saprofitas, y los hongos de almacén, los que presentan solamente capacidad saprofitas (Soriano del Castillo, 2007).

Los alimentos que regularmente se ven alterados por hongos son diversos, entre los que destacan cereales, semillas oleaginosas, frutas, productos cárnicos, entre otros. Estos productos se caracterizan por tener un valor de actividad de agua bajo o un pH ácido. Estos dos factores, junto con el tipo de contaminación, son determinantes para que los hongos miceliares sean capaces de desplazar a las bacterias y levaduras en la colonización de los alimentos. Estos,

durante su desarrollo toman los nutrientes para producir la energía necesaria para llevar a cabo procesos biosintéticos que ayuden a su crecimiento y proliferación. Esto provoca una serie de alteraciones en el alimento como disminución del valor nutritivo, cambios de calidad organoléptica, disminución de capacidad de germinación en semillas, pérdida de materia seca y agua del grano por parte del micelio fúngico y producción de sustancias como las micotoxinas (Sanchis et al., 2007).

C. Características morfológicas de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*

Fundamentalmente las micotoxinas son producidas por especies pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, que son los que agrupan un mayor número de especies productoras de micotoxinas (Cabañas, Abarca, Bragulat. y Castellá, 2007).

1. Género *Aspergillus*

Las especies del género *Aspergillus* son mayoritariamente ubicuas y se aíslan de diferentes sustratos, con mayor frecuencia en lugares con climas cálidos. Las colonias se desarrollan de forma rápida con diversas tonalidades: blanquecinas, amarillentas, marrón-amarillentas, negruzcas, marrón-negruzcas o verdosas. El conidióforo de *Aspergillus* posee tres partes diferenciadas: vesícula (extremo apical hinchado), estípite (sección cilíndrica situada debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, que une el conidióforo con el micelio). Sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas. Cuando el conidióforo solo presenta fiálides se denomina uniseriado y si presenta fiálides y métulas, se les llama biseriados. Los conidios pueden formar columnas compactas (cabeza conidial columnar) o divergentes (cabeza conidial radial) (Frisvad, 2011).

Las aflatoxinas están producidas fundamentalmente por tres especies del género *Aspergillus* que se incluyen en la sección Flavi: *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*. Las colonias de estas especies son de color verde amarillento a verde oliváceo y pueden presentar esclerocios marrones o negros, variables en forma y tamaño. Las cabezas conidiales son principalmente radiales. Los conidios de *A. flavus* son lisos o ligeramente rugosos y las cabezas conidiales habitualmente biseriadas. *A. parasiticus*, en cambio, presenta conidios de paredes gruesas y rugosas y las cabezas conidiales suelen ser uniseriadas. *A. nomius* es

morfológicamente muy similar a *A. flavus* pero forma esclerocios más pequeños y de forma alargada (Gimeno y Martins, 2011).

En la sección *Circumdati*, además de *A. ochraceus* se han citado diversas especies con capacidad ocratoxigena, pero solo algunas tienen importancia como contaminantes de alimentos. Las especies de esta sección se caracterizan por originar colonias amarillentas que pueden presentar esclerocios amarillos, rosados o marrones según las especies. Las cabezas conidiales son radiales y biseriadas (Gimeno y Martins, 2011).

2. Género *Penicillium*

Las especies de *Penicillium* en su mayoría son consideradas saprófitas. Estas especies forman colonias que crecen generalmente de manera rápida y la mayoría presentan coloraciones verdosas. La estructura de reproducción asexual característica de *Penicillium* es un conidióforo formado por una estructura de soporte diferenciado que finaliza en un penicilo o pincel. La forma de este penicilo determina la primera división taxonómica del género en cuatro subgéneros. Para determinar a qué subgénero pertenece un aislamiento, se debe contar el número de puntos de ramificación entre la fiálide (o cadena de conidios) y la estructura de soporte (Frisvad, 2011).

Actualmente solo *P. verrucosum* se considera productor de micotoxinas el cual pertenece al subgénero *Penicillium*, sección *Viridicata* y es la única integrante de la serie *Verrucosa*. Se caracteriza por presentar un crecimiento reducido, por debajo de 25 mm de diámetro, colonias de textura aterciopelada a fasciculada o algodonosa con coloraciones de verde grisáceo a verde opaco. Presenta conidios globosos o subglobosos y lisos, sin embargo, sus estípites son rugosos (Gimeno y Martins, 2011).

3. Género *Fusarium*

El género *Fusarium* presenta una distribución tanto en suelos como en sustratos orgánicos, aunque hay especies fitopatógenas que causan enfermedades principalmente en los cereales. La principal característica del género es la presencia de conidios hialinos, curvados, fusiformes y septados denominados macroconidios. Estos macroconidios se forman a partir de unas estructuras denominadas esporodoquios. Algunas especies también pueden producir

conidios más pequeños uni o bicelulares denominados microconidios, que pueden tener diferentes formas (Frisvad, 2011).

Actualmente las principales especies que se han relacionado con la producción de fumonisinas son *F. anthophilum*, *F. verticillioides* y *F. proliferatum* de la sección Liseola. También son productoras otras especies de la sección Dlamina, como *F. nygumai*, *F. dlamini* y *F. napiforme*, *F. verticillioides*. Dichas especies se aíslan preferentemente de zonas tropicales y subtropicales y rara vez en zonas templadas, excepto en invernaderos (Frisvad, 2011).

D. Métodos utilizados para detectar hongos micotoxigénicos en alimentos

La ausencia de especies potencialmente productoras de micotoxinas en un alimento no es indicativo que no pueda contener micotoxinas. Los hongos presentes inicialmente en las materias primas de ese alimento pueden haber dejado de ser viables después de un determinado tratamiento tecnológico aplicado en su elaboración de los alimentos, pero las micotoxinas elaboradas previamente pueden encontrarse presentes en el mismo. Por otro lado, el aislamiento de una cepa perteneciente a una especie potencialmente productora puede sugerir la presencia de micotoxinas en el alimento, pero no tienen por qué significar que una determinada micotoxina esté presente en el mismo (Cabañes et al., 2007).

1. Aislamiento en medios de cultivo

Los hongos micotoxigénicos pueden aislarse de diversos alimentos, si se siembran en medios de rutina como el Agar Papa Dextrosa (PDA) y Agar Sabouraud (ASD), los cuales permiten el desarrollo micelial (Soriano del Castillo, 2007).

Una vez obtenido el aislamiento de los hongos filamentosos, el procedimiento de identificación debe comenzar con las características morfológicas de los hongos como el tipo de esporas y las estructuras que los originan, la presencia o ausencia de reproducción sexual. Para definir los principales géneros se recomienda la observación de las siguientes características: a) morfológicas como el tipo de esporas y la forma de reproducción; b) fisiológicas, como la evaluación del crecimiento en diferentes temperaturas de incubación, medios de cultivo y asimilación de sustratos; c) bioquímicas como la detección de actividades

enzimáticas; y d) del perfil de metabolitos secundarios (micotoxinas) (Soriano del Castillo, 2007).

2. Técnicas cromatográficas

Diversas técnicas cromatográficas como la cromatografía en capa fina (Thin Layer Chromatography -TLC-), cromatografía líquida (Liquid Chromatography -LC-) y la cromatografía de gases (Gas Chromatography -GC-) entre otras, son ampliamente utilizadas para este fin lo que presenta una mayor sensibilidad en la detección de cepas productoras de micotoxinas. Estos métodos están diseñados para minimizar el uso de medios de cultivo, tiempos de incubación y disolventes de extracción, por lo tanto, son útiles cuando se tienen que valorar un número elevado de cepas. Técnicas como la de TLC o la de LC se aplican, directamente o después de una sencilla extracción, a pequeños discos de agar obtenidos a partir de cultivos de las cepas a investigar (Cabañes et al., 2007).

3. Técnicas inmunológicas

Las técnicas inmunológicas emplean anticuerpos policlonales o monoclonales dirigidos contra antígenos de una especificidad variada de especies potencialmente productoras de micotoxinas. Una de las técnicas más utilizadas es la técnica de inmunoensayo enzimático sobre fase sólida (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay -ELISA-). El problema de estos anticuerpos es que pueden dar reacciones cruzadas con otras especies fúngicas debido a la falta de especificidad de los antígenos o anticuerpos elegidos, por otra parte, son incapaces de discernir entre cepas productoras y no productoras de micotoxinas de una misma especie potencialmente productora (Soriano del Castillo, 2007).

4. Técnicas de Biología Molecular

Las técnicas basadas en Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) son las que son más utilizadas para la detección de hongos micotoxigénicos y se recurre a distintos genes para la identificación de hongos. Los ensayos con genes de copia única suelen ser altamente específicos, pero pueden no llegar a ser lo suficientemente sensibles para detectar una baja concentración del hongo. Por el contrario, los genes multicopia presentan una sensibilidad elevada, debido a que el gen o genes están en mayor cantidad en la muestra. Los más utilizados

de esta última categoría son el grupo de genes del ADN ribosomal (ADNr), este es una formación en tándem de numerosas copias en el genoma haploide de todos los hongos. Los genes que codifican polipéptido sintasas son unos de los que están recibiendo mayor atención, no obstante, uno de los problemas que presentan es su falta de especificidad, ya que estas enzimas están implicadas en la síntesis de muchos tipos de metabolitos secundarios, entre ellos algunas micotoxinas, como aflatoxinas (*pks-A*), fumonisinas (*Fum5*) o OTA (Cabañes et al., 2007).

E. Métodos utilizados para detectar micotoxinas.

1. Técnicas cromatográficas

Los niveles de micotoxinas que se producen, por lo general se encuentran en un rango ppb. Por lo que es esencial realizar procedimientos de limpieza de la muestra para eliminar cantidades significativas de compuestos que tienen el potencial de interferir con la determinación analítica. Algunas de las micotoxinas más importantes como las aflatoxinas y fumonisinas se producen en un número de diferentes análogos y se requiere la separación cromatográfica para cuantificar cada análogo individualmente. Estas son en su mayoría compuestos de bajo peso molecular polares orgánicos y son solubles en una amplia gama de disolventes orgánicos y orgánicos acuosos, por esta razón, son susceptibles de separación por una serie de técnicas cromatográficas como cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), TLC y GC (Shephard, 2011).

TLC fue el primer método cromatográfico para ser aplicado en la determinación de micotoxinas, especialmente para el análisis de aflatoxinas, estas se separan fácilmente sobre placas de gel de sílice al usar cualquier mezcla de una serie de disolventes como acetona-cloroformo (1 + 9), benceno-metanol-ácido acético (90 + 5 + 5), éter-agua-metanol (96 + 3 + 1) o cloroformo-isopropanol (99 + 1). Las AF separadas en placas de gel de sílice pueden ser visualizadas fácilmente bajo la luz ultravioleta de onda larga (De Saeger, 2011).

Ya que las micotoxinas son en su mayoría pequeños compuestos polares, son ideales para la separación por HPLC de fase inversa, para la cual se utiliza una gama de fases móviles compuestas por agua, metanol y acetonitrilo o mezclas de estos componentes. Restringidos principalmente a la detección de micotoxinas individuales o análogos de micotoxinas

estructuralmente similares tales como la determinación de AFB1, AFB2, AFG1 y AFG2 o la determinación de las FB1, FB2 y FB3. Los recientes avances en el acoplamiento de HPLC a Espectrometría de Masas (MS) a través de técnicas de ionización a presión atmosférica se han traducido en el desarrollo de métodos analíticos para la cuantificación y confirmación simultánea que utiliza iones de fragmentos apropiados y supervisión de reacción múltiple. Además, el uso de la detección por MS ha servido de base para el análisis de múltiples micotoxinas (Shephard, 2011).

La cromatografía gaseosa (GC) es una técnica basada en la separación de compuestos en función de su volatilidad y afinidad por la fase estacionaria. Las micotoxinas son sustancias poco volátiles y se requiere de una modificación química previa para analizarlas por GC. En los últimos años, se ha generalizado, el empleo de columnas capilares y el uso del detector de espectrometría de masas. Las columnas capilares tienen una serie de ventajas como son su alta eficacia en la separación y la facilidad de acoplamiento a detectores MS. Los detectores de MS se aplican cada vez más en el análisis de micotoxinas, tanto en sus modalidades de impacto electrónico o de ionización química (Cabañes et al., 2007).

2. Separaciones electroforéticas

La electroforesis capilar (CE) logra la separación química mediante la utilización de la carga de moléculas en una solución contenida en un capilar de sílice fundida, en una interacción entre la micotoxina y la capa superficial del medio de separación tal como revestimiento columna de GC o envasado HPLC. Una ventaja adicional radica en el uso casi exclusivo de soluciones acuosas y pequeñas cantidades de reactivo. Sin embargo, debido a que los volúmenes de inyección son muy pequeños, se requiere que los detectores sean altamente sensibles (Arribas et al., 2011).

3. Técnicas inmunoquímicas

El método más ampliamente utilizado es ELISA. Las principales ventajas del método son: alta sensibilidad, simplificación y velocidad de operación, menor tiempo de análisis y de aplicación a múltiples analitos, alta fiabilidad de las determinaciones y preparaciones simples de la muestra. Las desventajas comunes de los métodos basados en la interacción antígeno-anticuerpo son: posible unión no específica de los componentes, no reproducibilidad de los

procesos de adsorción y posible reacción cruzada con compuestos relacionados. Por otra parte, estos métodos requieren instrumentos simples (la mayoría de los métodos se basan en fotométrica, fluorimétrica, o luminiscencia electroquímica de detección) o no requieren de instrumentación como las pruebas rápidas con detección visual para la evaluación cualitativa/semicuantitativa (Goryacheva & De Saeger, 2011).

Debido a que las micotoxinas son antígenos monovalentes, se utilizan generalmente técnicas de ELISA competitivos. El ELISA competitivo directo (dcELISA) es más comúnmente utilizado. En este la muestra compite con un analito marcado enzimáticamente para unirse con una cantidad limitada de anticuerpos inmovilizados en los pocillos. Después de la incubación los compuestos no unidos se eliminan por lavado y se añade el sustrato cromogénico. La actividad enzimática en cada pocillo es inversamente proporcional a la concentración de micotoxinas. En el caso de ELISA indirecto competitivo (icELISA), el analito o su análogo, conjugado con un portador macromolecular (albúmina sérica bovina u ovoalbúmina) se reviste sobre el pozo durante la incubación. A continuación, el extracto de la muestra y el anticuerpo específico se añade a cada pocillo. El analito presente en la muestra y el inmovilizado compiten para unirse con el anticuerpo en solución. Después de una etapa de lavado, la cantidad de anticuerpo específico unido se detecta mediante un anticuerpo secundario, marcado con una enzima. Este enfoque hace posible simplificar la preparación de inmunorreactivos, pero incluye una etapa de ensayo adicional. Para eliminar este paso adicional, el marcaje directo del anticuerpo específico también es posible (De Saeger, 2011).

F. Maíz

El maíz (*Zea mays* L.) pertenece a la familia de las gramíneas y es una planta anual alta dotada de un amplio sistema radicular fibroso. Se trata de una especie que se reproduce por polinización cruzada, ya que la flor femenina (elote, mazorca) y la masculina (espiguilla) se hallan en distintos lugares de la planta. Las panojas o shilotes son las estructuras donde se desarrolla el grano, en un número variable de hileras (12 a 16), las cuales producen de 300 a 1000 granos y pesan entre 190 y 300 g. El peso depende de las distintas prácticas genéticas, ambientales y de cultivo. El grano constituye aproximadamente el 42% del peso seco de la planta. El maíz es a menudo de color blanco o amarillo, aunque también hay variedades de color negro, rojo y jaspeado (Fuentes-López, Van-Etten, & Vivero-Pol, 2005).

El cultivo del maíz forma parte del grupo de los granos básicos que constituyen la base de la dieta de la población guatemalteca por tradición ya que revisten una importancia especial por sus implicaciones culturales, socioeconómicas y alimentarias. Los granos básicos son la principal fuente de carbohidratos (65%) y de proteína (71%) en la dieta de los guatemaltecos. El principal cultivo de los granos básicos es el maíz. El consumo promedio per cápita de maíz por año es de 114 kg. Sin embargo, este valor bajo condiciones de menor ingreso económico familiar puede hasta duplicarse (Fuentes, 2002).

1. Producción nacional

Para el año agrícola 2016/2017 se estima una producción de maíz de 41.9 millones de quintales, de los cuales el 90% corresponde a maíz blanco. La producción del grano se incrementó en un 2.5% en relación con el año 2016/2017. El área cosechada aumentó en 0.7% y los rendimientos, en 1.7%, durante ese período. (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Alimentación [MAGA], 2017).

2. Producción a nivel departamental y municipal

Si se considera la estructura geográfica de los resultados del último censo agropecuario, en el cual se estimaron las producciones a nivel departamental y municipal, Petén es el departamento que genera la mayor producción nacional de maíz blanco (18.5%), le sigue Alta Verapaz, con el 9.4%, y luego está Jutiapa, con el 7.3%; lo que significa que entre estos tres departamentos logran el 35% de la producción nacional. Por otra parte, Chimaltenango genera más de 1 millón de quintales de grano por año lo que corresponde a más del 3.68% del total de la producción nacional (MAGA, 2017).

3. Consumo aparente

En lo que respecta al consumo nacional de maíz blanco, se estima que Guatemala es un país que mantiene un equilibrio estable en términos de una relación producción/consumo, ya que las cantidades que produce son suficientes para abastecer el mercado interno (estimación para el período 2017 del índice autosuficiencia es del 97.67%). Según las estimaciones, el consumo aparente de maíz blanco fue de 3 millones de quintales mensuales para el período 2015 (MAGA, 2017).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos secundarios producidos principalmente por especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* que comúnmente se encuentran en maíz, semillas, granos y otros alimentos, cuando la temperatura y humedad de almacenamiento son inapropiadas. Las micotoxinas son hepatotóxicas, nefrotóxicas y cancerígenas para animales y humanos, además de producir malnutrición crónica e inmunosupresión. A nivel mundial se considera que 4.5 mil millones de personas se encuentran riesgo de padecer micotoxicosis (MAGA, 2017).

En Guatemala se ha demostrado que existe una alta prevalencia de aflatoxinas y fumonisinas según fue demostrado en un estudio realizado en el año 2012 en maíz procedente de los mercados de 22 departamentos, donde se observó una alta concentración de aflatoxinas en los departamentos de El Petén, Suchitepéquez y Zacapa y una alta concentración de fumonisinas en Escuintla, Santa Rosa y Chiquimula (Torres et al., 2015). Lo anterior se ha asociado al retardo en la talla y otras afecciones en niños menores de 24 meses como malnutrición crónica e inmunosupresión (MAGA, 2017).

El maíz forma parte del grupo de granos básicos que constituyen la base de la dieta de la población guatemalteca, debido a su alto contenido energético y proteínico y su consumo conlleva implicaciones culturales, socioeconómicas y alimentarias (Fuentes, 2002). Anualmente se producen en promedio alrededor de 37.2 millones de quintales de grano, de las cuales 90% es maíz blanco y se destina al consumo humano. De esta cantidad, el departamento de Chimaltenango genera más de 1 millón de quintales. El consumo anual de maíz blanco por habitante fue de 100 kg en el año 2017, principalmente en forma de tortilla elaborada a partir de masa de nixtamal o de harina de maíz nixtamalizada (MAGA, 2017).

Debido a la importancia que tiene el maíz blanco en el consumo de la población guatemalteca y el impacto que este conlleva en la salud de los consumidores principalmente en retardo de talla, hepatotoxicidad y cáncer al estar contaminado con hongos micotoxigénicos, en este trabajo se consideró importante determinar si el maíz que se consume en el área de Tecpán, Chimaltenango presentaba micotoxinas y cuáles eran los principales hongos micotoxigénicos aislados de dichos granos, con el fin de aportar datos sobre las micotoxicosis en el país.

V. OBJETIVOS

A. General

Determinar la presencia de micotoxinas (aflatoxinas, ocratoxina A y fumonisinas) y hongos productores en granos de maíz, que se consumen en el municipio de Tecpán Chimaltenango, Guatemala.

B. Específicos

1. Determinar concentraciones de micotoxinas (aflatoxinas, ocratoxina A y fumonisinas) presentes en maíz blanco en muestras del municipio de Tecpán, Chimaltenango, por el método de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).
2. Identificar hongos potencialmente micotoxigénicos presentes en granos de maíz blanco en muestras procedentes del municipio de Tecpán, Chimaltenango, a través de su aislamiento en los medios de cultivo Agar Papa Dextrosa y Agar Sabouraud Dextrosa.

VI. HIPÓTESIS

Esta investigación es un estudio descriptivo por lo que no se plantea una hipótesis.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y muestras

1. Universo

Granos de maíz que se consumen y comercializan en la cabecera municipal de Tecpán, Chimaltenango.

2. Muestra

Granos de maíz blanco obtenidos en siete lugares de comercialización elegidos al azar en la cabecera municipal de Tecpán, Chimaltenango, Guatemala, obtenidas por conveniencia (Figuras 6 y 7).

B. Recursos

1. Humanos

a. Asesores

- MSc. Osberth Isaac Morales Esquivel
- Licda. María del Carmen Bran González

b. Investigadores

- Br. Ana Alejandra Ayala y Ayala
- Br. Byron Enrique Pérez Díaz

2. Institucionales

- Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Unidad de Biodiversidad, Tecnología y Aprovechamiento de Hongos (BIOTAH), Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Laboratorio de investigación, análisis, servicio y asesoría (INLASA).
- Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA), Quetzaltenango.

C. Materiales

1. Material de laboratorio

- Agar Papa Dextrosa (PDA) marca Merck®
- Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) marca Merck®
- Cajas de Petri de plástico desechables estériles.
- Parafilm
- Agua desmineralizada
- Papel filtro Whatman No.1
- Pinzas
- Algodón
- Mayordomo
- Lysol®
- Acarklean®
- Guantes de latex
- Bolsas Ziploc® para almacenar
- Bolsas plásticas para descarte
- Aza en espátula y en “L”
- Cubreobjetos
- Portaobjetos
- Pipetas volumétricas 0.5, 1, 5 y 10 mL
- Erlenmeyers 250 y 500 mL
- Agitador magnético
- Viales de vidrio y de plástico con tapón de rosca de 3 y 5 mL
- Probeta 100 mL
- Beakers 250 y 500 mL

- Papel pH marca Merck®
- Embudo de vidrio
- Pipetas automáticas 10 µL a 1 mL
- Puntas descartables (tips)
- Cronómetro
- Descartador de punzocortantes
- Bolsas rojas
- Pizeta 250 mL

2. Equipo

- Lámpara UV (365 nm) de mano marca UVP®
- Estufa eléctrica con agitador marca Thermo Scientific®
- Cabina de seguridad clase II tipo A2 marca Nuair®
- Incubadora (Temperatura de 27-28°C) marca Thermo Scientific®
- Autoclave marca Market Forge®
- Microscopio de luz marca comercial Zeiss® calibrado en micrómetros
- Espectrofotómetro (lectores de ELISA) marca Hitachi®
- Horno de hasta 100°C marca LabLine®
- Balanza Semianalítica marca VWR®
- Molino Industrial
- Refrigeradora (2-8°C) marca GRS®
- Potenciómetro marca VWR®
- Mechero Bunsen
- Cámara digital
- Medidor de temperatura marca RadioShack®
- Medidor de humedad marca RadioShack®

3. Equipo de oficina

- Hojas de papel Bond
- Folders
- Computadora

- Impresora
- Lápices
- Lapiceros
- Marcador Indeleble
- Maskin tape
- Papel manila
- Identificadores auto adheribles
- Paletas de madera
- Formulario de recolección de muestras

4. Reactivos

- Azul de lactofenol
- Aceite mineral
- Metanol 70% grado ACS
- Etanol 70%
- Hipoclorito de sodio 1.5%
- Kit para aflatoxinas totales marca Neogen Veratox®
- Kit para fumonisinas totales marca Neogen Veratox®
- Kit para ocratoxina A marca Neogen Veratox®
- Desinfectante: Cloro 1.5%

D. Procedimientos

1. Fase de Campo

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Acuña, Salinas y Valles (2014).

Se identificaron los principales lugares de comercialización del maíz en la cabecera del municipio de Tecpán, Chimaltenango. Al azar se escogieron siete de estos lugares y en cada uno de ellos se obtuvo cinco muestras de maíz blanco (réplicas) de 250 g (Figura 6).

Asimismo, se obtuvo una muestra de referencia de maíz certificado del Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola (ICTA), de Quetzaltenango, Guatemala, la cual se dividió en cinco réplicas de 250 g cada una (Figura 7).

En cada punto de venta muestreado, así como en el ICTA, se observaron y consultaron los siguientes aspectos:

- Tipo de construcción (block, lámina, madera), piso (suelo, granito, cerámico).
- Descripción del almacenamiento del maíz (sacos, canastos, otros).
- Procedencia y técnica utilizada para el secado de maíz después de la cosecha (secado al sol, otros).
- Almacenamiento del maíz previo a su comercialización (tradicional, silos, otros).

Las muestras se colocaron en bolsas plásticas transparentes Ziploc® debidamente rotuladas. Posteriormente se llevaron tanto al laboratorio de Micología del Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, como al Laboratorio de investigación, análisis, servicio y asesoría (INLASA), para su análisis.

2. Fase de laboratorio

a. Test de luz ultravioleta a longitud de onda de 365 nanómetros (nm)

Se realizó de acuerdo con lo recomendado por Lemus, Maniscalch, Vera, De Freitas y Sangermano (2007).

- Se tomaron aproximadamente 10 gramos de maíz de cada muestra, para luego ser irradiada con una lámpara de luz ultravioleta a una longitud de onda de 365 nm por 15 minutos.
- La observación de fluorescencia de coloración verde corresponde a AFG y la de coloración azul a AFB.

b. Determinación de porcentaje de humedad

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Soriano del Castillo (2007).

- Se pesaron 10 gramos de maíz de cada muestra y réplica en cajas de Petri de vidrio y se colocaron dentro de un horno a 65°C por 24 horas.
- Pasadas las 24 horas se pesaron y se volvieron a colocar dentro del horno hasta alcanzar peso constante.
- El porcentaje de humedad se calculó por medio de la fórmula siguiente:

$$\% \text{ humedad} = \left(\frac{\text{peso seco del sustrato}}{\text{peso húmedo del sustrato}} \right) \times 100$$

c. Determinación de pH

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Soriano del Castillo (2007).

- En un molino industrial se molieron 10 gramos de maíz de cada muestra y réplica hasta obtener un tamaño de partícula homogéneo.
- Seguidamente a cada réplica se le agregó 100 ml de agua desmineralizada y luego para homogenizar se agitó manualmente durante tres minutos.
- Posteriormente se dejó en reposo durante 30 minutos, para finalmente filtrar la solución y determinar el pH por medio de un potenciómetro.

d. Aislamiento de hongos micotoxigénicos a partir de granos de maíz

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Lemus y otros (2007).

- Se prepararon cajas de Petri con agar PDA Merck® según las indicaciones del fabricante:
 - Se pesaron 39 gramos del agar y se disolvieron en 1 L de agua desmineralizada, se hirvió el medio hasta disolución y luego se procedió a esterilizar por medio de un autoclave por 15 minutos a 121°C y 15 libras de presión, para luego enfriar a 45°C y servir en cajas de Petri.
- De cada muestra y réplica se tomó al azar y lavó cinco granos de maíz con una solución de hipoclorito de sodio al 1.5%, la cual se preparó a partir de 3.75 mL de hipoclorito de sodio al 4% (hipoclorito comercial) y 6.25 mL de agua desmineralizada estéril. Se realizó un último lavado con agua desmineralizada estéril para eliminar el resto de hipoclorito de sodio.

- Los cinco granos de maíz se sembraron en una caja de Petri con agar PDA y se incubaron a temperatura de 27-28°C durante tres días.
- Las colonias que se desarrollaron en las cajas de Petri con agar PDA se aislaron en cultivo axénico en otras cajas con agar PDA y se incubaron a 27-28°C durante 3 a 5 días.

i. Descripción macroscópica de las colonias aisladas

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Mier, Toriello y Ulloa (2002).

- Las colonias obtenidas en cultivo axénico, se describieron de acuerdo con las siguientes características: color de la colonia (reverso y anverso), textura, margen, borde, elevación, diámetro, pigmentación, consistencia y velocidad de crecimiento.

e. Identificación de los hongos aislados

i. Preparación de microcultivo

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Mier y otros (2002).

- Se prepararon cajas de Petri de vidrio (dos por cada hongo aislado) que en su interior contenían un soporte de vidrio, un portaobjetos y dos cubreobjetos. Posteriormente se esterilizaron a 121°C y 15 lb de presión durante 15 minutos.
- Asépticamente en cada caja de Petri se colocaron el portaobjetos sobre el soporte con pinzas estériles con círculos de 0.5 centímetros de diámetro de agar PDA.
- Posteriormente se inoculó cada círculo de agar PDA, con el micelio de cada una de las colonias aisladas y se cubrieron con un cubreobjetos.
- Se añadió 10 mL de agua desmineralizada estéril a cada caja y se incubaron a 25-26°C hasta que se observó crecimiento y esporulación de los hongos.
- Se realizaron preparaciones con azul de lactofenol.
- Las preparaciones se observaron en microscopio en aumentos de 400x y 1000x para su descripción y posterior identificación.

ii. Descripción microscópica del micelio

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Mier y otros (2002).

- Las descripciones microscópicas incluyeron las siguientes estructuras: hifas (color, forma, diámetro y presencia de septos), célula conidiógena (forma, largo y ancho) y conidios (forma, largo y ancho, color y disposición).

iii. Identificación

Se utilizó bibliografía especializada para la identificación a nivel de género de las colonias aisladas, entre ellas, de Hoog & Guarro (1995), Larone (2002) y Raper & Fennell (1965).

f. Determinación de aflatoxinas, fumonisinas y ocratoxina A por el método de ELISA Veratox®

i. Principio y especificaciones de la prueba

Para la determinación de las concentraciones de micotoxinas, se utilizó un ELISA competitivo directo, donde anticuerpos monoclonales de reactividad cruzada específicos para cada micotoxina unidos al soporte insoluble (pozo), en los cuales se añade la muestra y un conjugado enzimático formado por las micotoxinas de interés y la enzima peroxidasa de rábano (HRP), se mezclan y compiten por los sitios de unión de anticuerpos. La adición de un sustrato cromogénico (Tetrametilbenzidina -TMB-) sobre los anticuerpos marcados, luego de un periodo de incubación produce una reacción colorimétrica que finaliza al momento de la adición de un reactivo de parada (HF, NaOH, citrato de sodio y edetato de sodio). Durante la incubación, el color azul se desarrolla en proporción a la cantidad de conjugado versus la sustancia de interés en los pozos. Cuanto más conjugado unido, más azul se desarrolla, lo que indica menos concentración de micotoxinas presente. La lectura de la reacción colorimétrica se realiza en un espectrofotómetro ultravioleta a una longitud de onda de 650 nm, la cual da como resultado la cuantificación de aflatoxinas y ocratoxina A en concentraciones de ppb y fumonisinas en ppm (Neogen corporation, 2011).

Para la detección de aflatoxinas totales se utilizaron controles de 0.0, 5.0, 15.0 y 50.0 ppb, para fumonisinas de 0.0, 0.5, 1.0, 3.0 y 6.0 ppm y para ocratoxina A de 0.0, 2.0, 5.0, 10.0, 25.0 ppb (Neogen corporation, 2011).

Los límites inferiores y rangos de cuantificación para la detección de aflatoxinas totales fueron de 2.0 ppb y 5.0-50.0 ppb, respectivamente; para fumonisinas totales de 0.2 ppm y 1.0-6.0 ppm y para ocratoxina A de 1.0 ppb y 2.0-25.0 ppb (Neogen corporation, 2011).

ii. Extracción de la muestra

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Neogen Corporation (2011).

- Se trituraron las muestras de maíz hasta obtener un tamaño de partícula que pase por un tamiz de malla 20.
- Seguidamente se mezcló durante 1 minuto, 50 gramos de muestra con 250 mL de metanol al 70% para filtrar el extracto a través de un filtro Whatman No. 1.
- Se tomó 100 μ L del filtrado obtenido.

iii. Procedimiento de la prueba de ELISA para aflatoxinas, fumonisinas y ocratoxina A

Se realizó de conformidad con lo recomendado por Neogen Corporation (2011).

- Se separaron los pozos de la mezcla de acuerdo a la cantidad de muestras a trabajar agregando de 4 a 6 pozos para los controles.
- Se agitaron los reactivos antes de ser usados y se dejaron a temperatura ambiente.
- Se agregó 100 μ L de conjugado enzimático a cada pozo de mezcla y 100 μ L de controles y muestras a los pozos.
- Se mezcló e incubó por 2 minutos a temperatura ambiente.
- Se realizó el primer lavado con agua destilada, para eliminar los antígenos fijados deficientemente o no fijados a los anticuerpos marcados enzimáticamente.
- Se voltearon los pozos y se secaron en papel toalla.
- Se realizó un segundo lavado con agua destilada, para eliminar los anticuerpos marcados que no hayan reaccionado.

- Se voltearon los pozos y secaron en papel toalla.
- Se agregaron 100 μL de sustrato cromogénico a cada pozo de mezcla y se incubó por 3 minutos a temperatura ambiente.
- Se agregó 100 μL del reactivo de parada a cada pozo de mezcla y se leyó en un espectrofotómetro UV de pocillos a una longitud de onda de 650 nm.

3. Análisis de resultados

Los datos recolectados en cada punto de venta muestreado, así como en el ICTA, se presentaron en tablas que describieron los aspectos recabados. La fluorescencia de los granos se describió como ausencia/presencia. Para el porcentaje de humedad (%), pH y concentraciones de las aflatoxinas, ocratoxina A (ppb) y fumonisinas (ppm) se calculó la media aritmética y la desviación estándar de las réplicas.

Las colonias de los hongos identificados hasta género se presentaron como descripciones taxonómicas, además se presentaron frecuencias de aislamiento de los hongos en las muestras analizadas.

VIII. RESULTADOS

En los aspectos relacionados con los procedimientos postcosecha del maíz como lo son el secado y almacenamiento previo a su comercialización, se obtuvo una similitud entre las muestras de Tecpán, Chimaltenango y el ICTA, ya que se encontró que la forma más común de secado se realizó por medio de la técnica tradicional de grano esparcido en el suelo, seguido del secado en la mazorca en el lugar de la siembra, en tanto que la técnica más utilizada para el almacenamiento posterior al secado fue en costales, seguido del almacenamiento de los granos esparcidos en troja (estructura simple, construida a base de árboles que crecen en la localidad o de tablas de madera y alambre, que está diseñada para almacenar mazorcas de maíz; Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 1990).

Sin embargo, se encontraron diferencias en cuanto los aspectos de la estructura del lugar y el tiempo de almacenamiento del maíz al momento de su recolección ya que, en Tecpán los costales de maíz se almacenaron en recipientes de plástico, con un tiempo de almacenaje promedio entre cinco a ocho meses postcosecha hasta su comercialización, en tanto que en el ICTA los costales de maíz se almacenaron en una construcción de block, con techo de lámina entre nueve a doce meses.

La geolocalización de los siete lugares de comercialización de maíz elegidos al azar en Tecpán, Chimaltenango e ICTA, Quetzaltenango se puede observar en la Tabla 1 y Figuras 6 y 7.

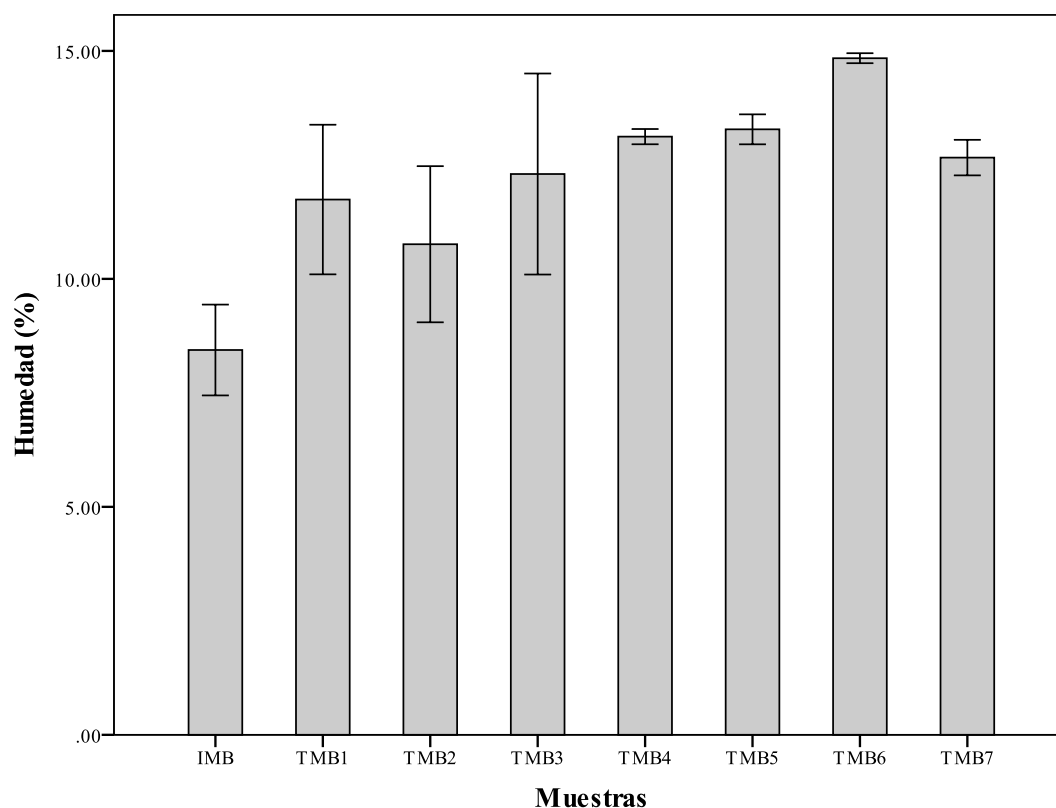
El porcentaje de humedad del maíz de Tecpán vario entre 11.7 y 14.8% y el pH de 6.02 a 6.58, en tanto que para el ICTA el porcentaje de humedad fue 8.5% y el pH de 6.43 (Grafica 1).

Los resultados de la determinación de la presencia de micotoxinas (aflatoxinas, ocratoxina A y fumonisinas) y hongos potencialmente productores de las mismas, en granos de maíz que se comercializan en el municipio de Tecpán, Chimaltenango, Guatemala, así como en maíz obtenido del ICTA, Quetzaltenango se observan en las Gráficas 2 y 3.

Tabla 1. Geolocalización de las áreas de muestreo

Puntos de recolección		Coordenadas		
		Latitud	Longitud	Altitud
Tecpán, Chimaltenango	TMB1	14°45'43.8''	-90°59'24.9''	2086 m
	TMB2	14°45'42.3''	-90°59'23.1''	2084 m
	TMB3	14°45'36.2''	-90°59'27.1''	2087 m
	TMB4	14°45'33.4''	-90°59'29.1''	2089 m
	TMB5	14°45'43.9''	-90°59'27.4''	2083 m
	TMB6	14°46'5.52''	-90°59'32.8''	2086 m
ICTA, Olinstepeque, Quetzaltenango	IBM	14°52'18.6''	-91°30'50.9''	2345 m

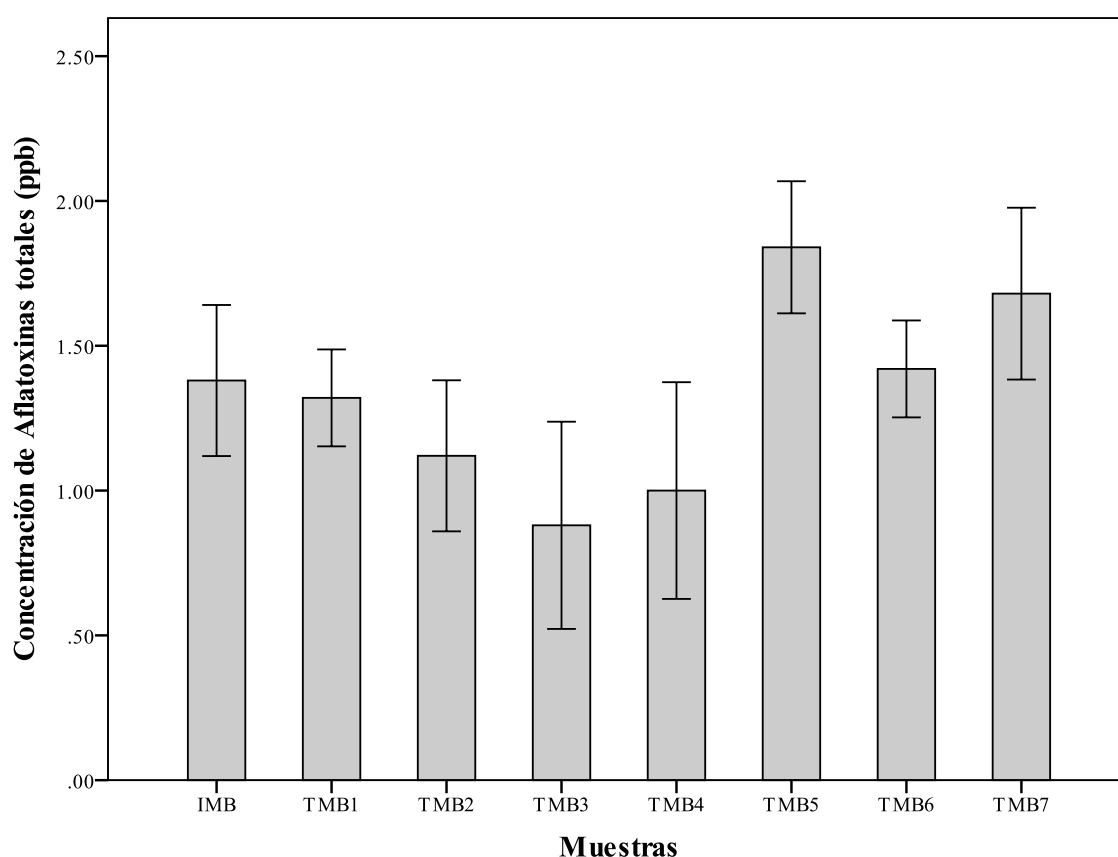
Esri (2019). Mi mapa. ArcGIS Online, recuperado de: <http://www.arcgis.com/home>. IBM: maíz del ICTA, Quetzaltenango. TMB: maíz de Tecpán, Chimaltenango.



Grafica 1. Porcentaje de humedad en muestras de granos de maíz procedentes de la cabecera municipal de Tecpán Chimaltenango, Guatemala e ICTA Quetzaltenango. Las barras representan la media del porcentaje de humedad. Las barras de error indican +/- dos desviaciones estándar. IBM: maíz del ICTA, TMB: maíz de Tecpán.

Todas las muestras de granos de maíz analizadas al ser irradiadas con luz ultravioleta a una longitud de 365 nm, no presentaron fluorescencia verdosa o azulada, por lo que el resultado fue negativo.

La concentración de aflatoxinas totales en las muestras de granos de maíz procedentes de Tecpán presentaron valores entre 0.9 y 1.8 ppb, en tanto que en los granos de maíz del ICTA, Quetzaltenango fue de 1.4 ppb (2.0-50.0 ppb, valor del límite de detección) (Grafica 2).

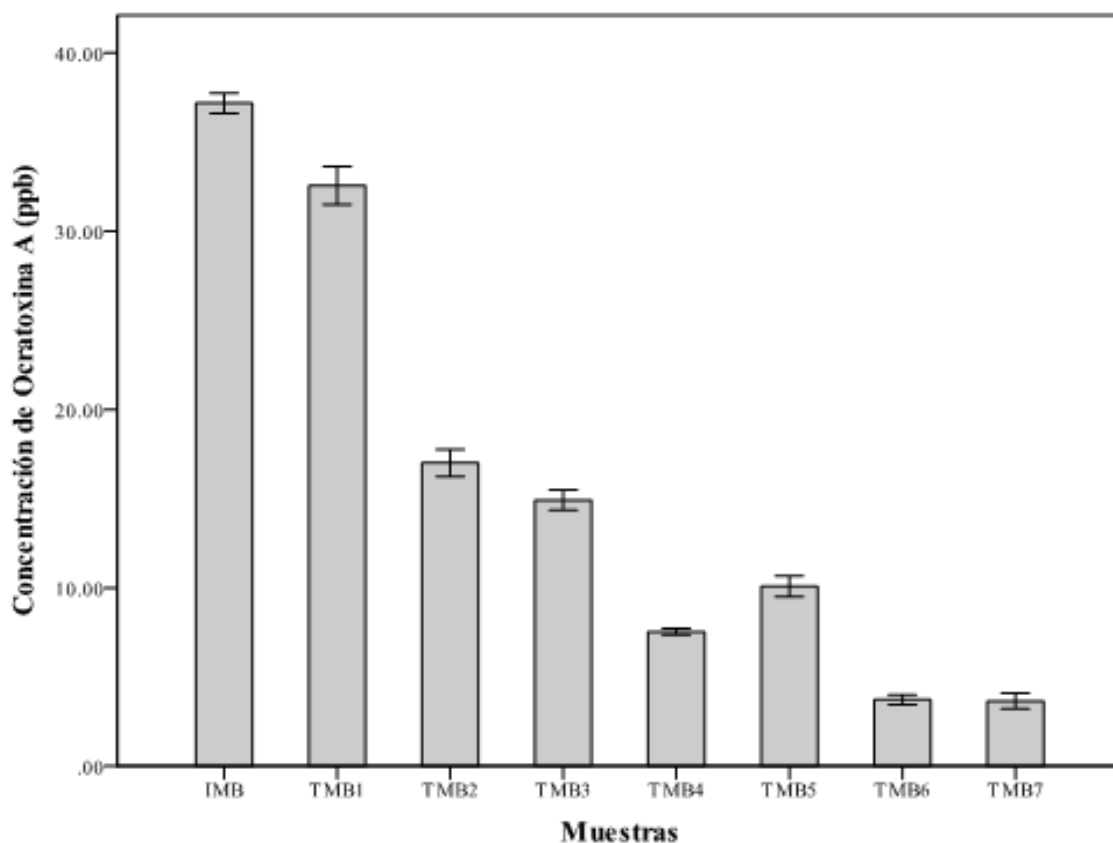


Grafica 2. Concentración de aflatoxinas totales (ppb) en muestras de granos de maíz procedentes de la cabecera municipal de Tecpán Chimaltenango, Guatemala e ICTA, Quetzaltenango. Las barras representan la media del porcentaje de concentración de aflatoxinas totales. Las barras de error indican +/- dos desviaciones estándar. IMB: maíz del ICTA, TMB: maíz de Tecpán.

En la concentración de ocratoxina A las muestras de granos de maíz procedentes de Tecpán, presentaron valores entre 3.6 a 32.6 ppb, en tanto que en los granos de maíz procedente

del ICTA, Quetzaltenango fue de 37.2 ppb (2.0-25.0 ppb, valor del límite de detección) (Grafica 3).

Con respecto a las fumonisinas totales, éstas mostraron un valor de 0.0 ppm en todas las muestras analizadas según la prueba de ELISA (Veratox®).



Grafica 3. Concentración de ocratoxina A (ppb) en muestras de granos de maíz procedentes de la cabecera municipal de Tecpán Chimaltenango, Guatemala e ICTA, Quetzaltenango. Las barras representan la media del porcentaje de concentración de ocratoxina A. Las barras de error indican +/- dos desviaciones estándar. IMB: maíz del ICTA, TMB: maíz de Tecpán.

Se recuperaron 104 cepas de los cuales 90 fueron aisladas de muestras de granos de maíz de Tecpán y 14 del ICTA, Quetzaltenango. Dichos aislamientos correspondieron a 15 especies de las cuales *Aspergillus niveus*, *Fusarium* sp. 1, *F. sporotrichioides*, *Penicillium* sp. 1, *P. chrysogenum*, *Penicillium* sp. 3, *Rhizopus microsporus* y *Trichoconiella padwickii* fueron aislados únicamente en las muestras de Tecpán, en tanto que *Acremonium* sp. 1, *A. parasiticus* y *Trichoderma* sp. se obtuvieron solamente del ICTA. Por otra parte, los hongos *Acremonium*

sp. 2, *Aspergillus* sp. 1, *N. oryzae* y *Penicillium* sp. 2 fueron aislados en ambos lugares (Tabla 2).

La frecuencia de aislamientos mostró que *Acremonium* sp. 2 fue la especie con mayor número de aislamientos (27.88%), en tanto que *Trichoderma* sp., *Fusarium* sp 1, *A. parasiticus* y *Penicillium* sp. 3 se obtuvieron en menor cantidad (Tabla 1).

Tabla 2. Frecuencia de aislamiento de los hongos potencialmente micotoxigénicos identificados.

Especies	Muestras								Total	Porcentaje (%)
	IMB	TMB1	TMB2	TMB3	TMB4	TMB5	TMB6	TMB7		
<i>Acremonium</i> sp. 2	1	6	2	1	7	3	7	2	29	27.88
<i>Aspergillus</i> sp. 1	5	0	2	0	0	4	0	1	12	11.54
<i>Penicillium</i> sp. 1	0	0	4	0	1	1	1	5	12	11.54
<i>A. niveus</i>	0	0	0	1	5	2	1	2	11	10.58
<i>Nigrospora oryzae</i>	3	0	3	0	0	0	0	3	9	8.65
<i>P. chrysogenum</i>	0	2	1	0	0	2	4	0	9	8.65
<i>Penicillium</i> sp. 2	1	3	1	2	0	0	0	0	7	6.73
<i>Trichoconiella padwickii</i>	0	2	0	1	0	0	1	1	5	4.81
<i>Acremonium</i> sp. 1	2	0	0	0	0	0	0	0	2	1.92
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	2	1.92
<i>Rhizopus microsporus</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	2	1.92
<i>A. parasiticus</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.96
<i>Fusarium</i> sp. 1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0.96
<i>Penicillium</i> sp. 3	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0.96
<i>Trichoderma</i> sp.	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0.96
TOTAL	14	13	13	10	13	13	14	14	104	100.00

IMB: maíz del ICTA, Quetzaltenango. TMB: maíz de Tecpán, Chimaltenango.

A continuación, se describen las características macro y microscópicas de los hongos identificados:

1. *Acremonium* sp. 1 (Figura 1A)

Características macroscópicas: Colonia lisa, plana, mucoide, margen filiforme, borde irregular, con reverso y anverso color rosado.

Crecimiento: 4.4-6.4 cm de diámetro a los 7 días de incubación a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-7.5 μm de ancho, hialinas, septadas. Fiálides de 1.0-3.0 μm de largo, solitarias. Conidios de 1.5-3.0 x 2.0-3.5 μm , hialinos, de pared lisa, cilíndricos a elipsoides, que nacen en forma individual, pero se agregan en los ápices de las fiálides debido a que presentan una matriz mucilaginosa.

Aislamientos: IMB: 2.1E y 3.3E.

2. *Acremonium* sp. 2 (Figura 1B)

Características macroscópicas: Colonia plana, mucoide, ocasionalmente algodonosa, margen filiforme, borde irregular, con anverso color rosado y reverso beige.

Crecimiento: 3.6-5.2 cm de diámetro a los 3 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-10.0 μm de ancho, hialinas, septadas, con abundantes clamidosporas intercalares. Fiálides de 0.5-2.3 μm de largo, solitarias. Conidios de 3.0-7.5 μm de largo, sin septos a un septo, elipsoides, abundantes, que se agregan en los ápices de las fiálides debido a que presentan una matriz mucilaginosa.

Aislamientos: IMB: 5.1E; TMB: 1.4.3, 1.2.4, 5.1.1, 5.3.1, 1.2.3, 1.1.2, 6.5.3, 6.3.2, 7.4.1, 4.2.2, 4.3.1, 6.1.2, 6.5.2, 2.4.4, 4.2.1, 4.1.1, 1.3.1, 5.4.2, 6.4.2, 4.4.2, 4.4.1, 2.3.2, 4.5.2, 6.1.3, 7.5.1, 6.4.3, 3.4.2, 1.5.2 y 6.3.2.

3. *Aspergillus niveus* Blochwitz (Figuras 1C, 1D)

Características macroscópicas: Colonia convexa, aterciopelada, margen ondulado, borde irregular, consistencia dura, con reverso y anverso color blanco.

Crecimiento: 1.5-2.4 cm de diámetro a los 3 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 1.0-5.0 μm de ancho, hialinas, delgadas, septadas. Conidióforos de 100.0-800.0 μm de largo, paredes lisas, sin coloración, vesículas hemisféricas de 8.0-25.0 μm de diámetro. Fiálides biseriadas de 5.0-12.0 μm de largo, que cubren de la mitad superior a dos tercios de la vesícula. Conidios de 2.5-3.5 μm de diámetro, esféricos, de paredes lisas a finamente rugosas, columnares.

Aislamientos: TMB: 4.1.2, 4.3.2, 4.4.3, 4.4.4, 4.5.3, 5.1.2, 6.2.3, 7.4.2, 7.1.3, 3.2.2 y 5.5.1.

4. *Aspergillus parasiticus* Speare (Figuras 1E)

Características macroscópicas: Colonia elevada, zonada, algodonosa, margen filiforme, borde entero, consistencia blanda, con anverso de color blanco con micelio aéreo con puntos negros y reverso amarillento con margen blanco.

Crecimiento: 0.8-2.5 cm de diámetro a los 3 días a 28°C, en el medio PDA, las cuales se esparcen en toda la caja de agar.

Características microscópicas: Hifas de 1.0-5.0 µm de ancho, hialinas, septadas. Conidióforos de 250.0-400.0 µm de largo, con paredes lisas e incoloras a café pálido, vesículas de 15.0-25.0 µm de diámetro, esféricas. Fiálides biseriadas de 3.0-15.0 µm de largo, que cubren tres cuartas partes de la superficie. Conidios de 4.0-6.0 µm de diámetro, esféricos, paredes rugosas, coloración café, usualmente organizados radialmente.

Aislamientos: IMB: 4.2E.

5. *Aspergillus* sp. 1 (Figura 1F)

Características macroscópicas: Colonia convexa, algodonosa, margen filiforme, borde irregular, consistencia blanda, con anverso y reverso de color blanco.

Crecimiento: 4.3-7.1 cm de diámetro a los 3 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 1.0-10.0 µm de ancho, hialinas, septadas. Conidióforos de 200.0-400.0 µm de largo, con paredes lisas y sin coloración, vesículas de 10.0-30.0 µm de diámetro, piriformes. Fiálides monoseriadas de 5.0-7.0 µm de largo, únicamente con cuello corto, sobre la mitad superior de la vesícula. Conidios de 2.0-3.5 µm de diámetro, elipsoides, con paredes lisas a finamente rugosas, cabezas radiales a columnares.

Aislamientos: IMB: 3.2, 1E, 4.1E, 3.1.1, 4.3.2.E; TMB: 2.2.2, 2.4.2, 5.5.2, 5.2.1, 5.4.3, y 7.3.3.

6. *Fusarium* sp. 1 (Figuras 3D, 3E)

Características macroscópicas: Colonia algodonosa, margen filiforme, borde irregular, consistencia dura, con anverso y reverso de color blanco.

Crecimiento: 1.0-2.8 cm de diámetro a los 3 días a 28°C, en el medio PDA, las cuales se esparcen en toda la caja de agar.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-7.5 µm de ancho, hialinas, septadas. Macroconidios de 25.0-30.0 µm de largo, curvados, fusiformes, entre tres y cuatro septos, de puntas delgadas y centro ancho, moderadamente abundantes. Fiálides de 1.0-2.5 cm de largo, solitarias, escasas. Microconidios de 8.0-10.0 µm de largo, curvados, sin septos a un septo.

Aislamientos: TMB: 5.1.3

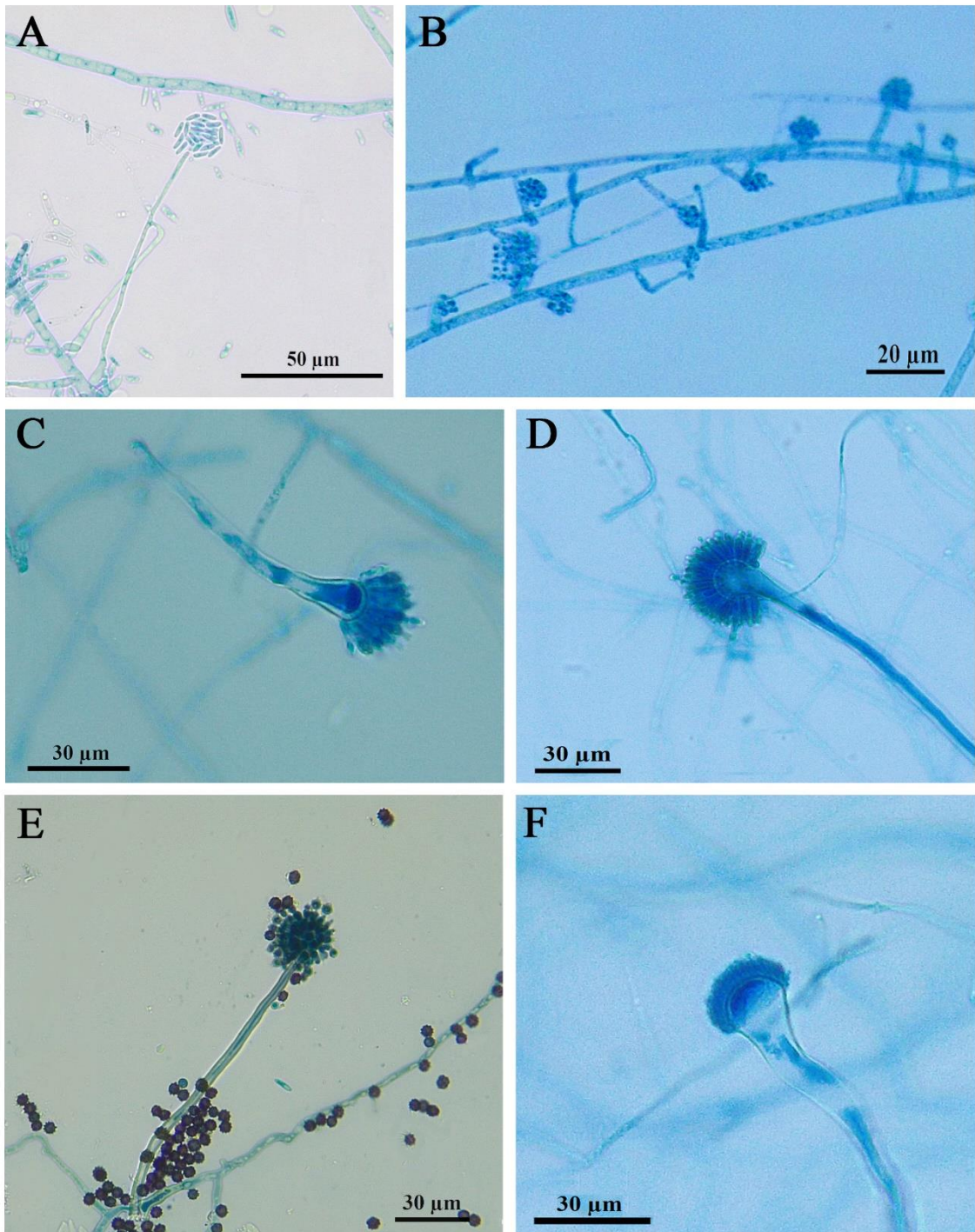


Figura 1. Características microscópicas (tinción con azul de lactofenol, 40X) de hongos aislados de granos de maíz procedentes de los puntos de venta de la cabecera municipal de Tecpán Chimaltenango, Guatemala e ICTA, Quetzaltenango. A. Microconidios de *Acremonium* sp. 1. B. Microconidios de *Acremonium* sp. 2. C-D. Conidióforo de *A. niveus*. E. Conidióforo de *A. parasiticus*. F. Conidióforo de *Aspergillus* sp. 1.

7. *Fusarium sporotrichioides* Sherb (Figuras 3A, 3B, 3C)

Características macroscópicas: Colonia elevada, algodonosa, margen filiforme, borde irregular, con anverso de color rosado y micelio aéreo blanco y reverso beige.

Crecimiento: 4.4 cm de diámetro a los 3 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-7.5 µm de ancho, hialinas, septadas, Macroconidios de 10.0-25.0 µm de largo, moderadamente curvados, entre tres y cinco septos, con célula apical puntiaguda curvada y célula basal plana, abundantes. Fiálides de 0.6-3.0 cm de largo, escasas. Microconidios de 3.0-7.5 µm de largo, elipsoides o piriformes.

Aislamientos: TMB: 3.3.1 y 3.4.3.

8. *Nigrospora oryzae* (Berkeley & Broome) Petch (Figuras 1C, 1D)

Características macroscópicas: Colonia elevada, algodonosa, margen filiforme, con anverso y reverso de color blanco y micelio aéreo anaranjado o café.

Crecimiento: 8.4 cm de diámetro de crecimiento rápido y abundante a los 3 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-10.0 µm de ancho, oscuras, septadas. Conidióforos cortos de 27.0-32.0 µm de largo. Fiálides ampuliformes, individuales o en grupos. Conidios de 15.0-22.5 µm de diámetro, achatados en los polos, solitarios, de pared lisa, negros.

Aislamientos: IMB: 2.1, 3.1.2E, 4.3.1E; TMB: 2.3.3, 2.5.2, 2.5.1, 7.1.2, 7.3.2 y 7.2.1.

9. *Penicillium chrysogenum* Thom (Figuras 4A, 4B)

Características macroscópicas: Colonia plana, plegada, pulverulenta, borde redondo, consistencia blanda, con anverso de color verde gris que se torna blanco y reverso verdoso con margen blanco.

Crecimiento: 0.8-2.8 cm de diámetro a los 5 días a 28°C, en el medio PDA, las cuales se esparcen en toda la caja de agar.

Características microscópicas: Hifas de 1.0-2.5 µm de ancho, hialinas, septadas. Conidióforos de 100.0-145.0 µm de largo, con paredes lisas e incoloras, penicilios típicamente triverticilados, terminales y divergentes. Fiálides de 10.0-12.5 µm de largo. Conidios de 2.0-5.0 µm de largo, elipsoidales, paredes lisas, organizadas en columnas largas e irregulares.

Aislamientos: TMB: 1.2.1, 1.4.1, 6.1.1, 6.2.2, 5.5.3, 5.4.1, 6.3.1, 6.4.1 y 2.2.3.

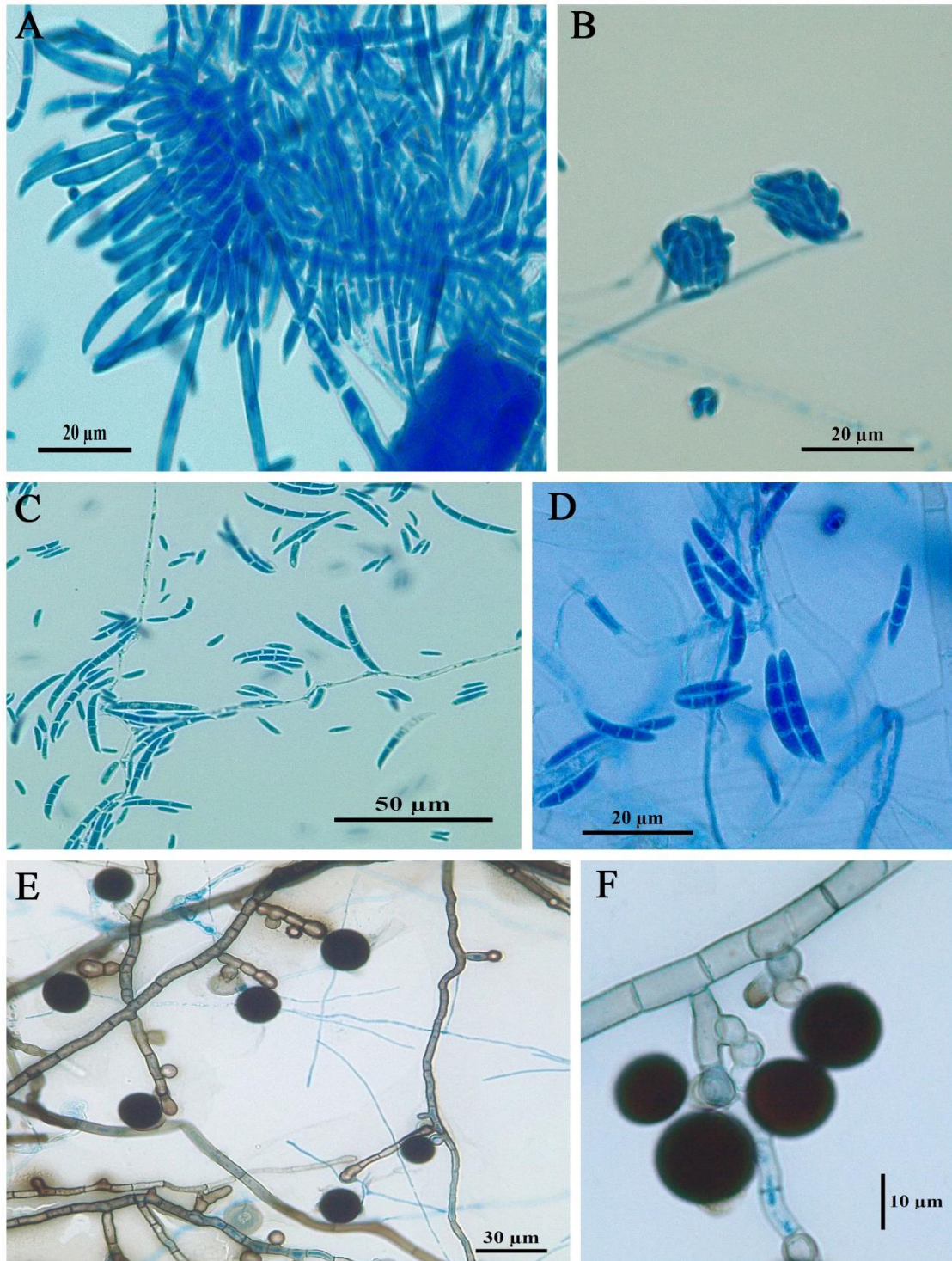


Figura 2. Características microscópicas (tinción con azul de lactofenol, 40X) de hongos aislados de granos de maíz procedentes de los puntos de venta de la cabecera municipal de Tecpán Chimaltenango, Guatemala e ICTA, Quetzaltenango. A. Esporodocio. B-D. Macroconidios de *Fusarium* sp. 1. E-F. Conidióforos de *N. oryzae*.

10. *Penicillium* sp. 1 (Figura 4C)

Características macroscópicas: Colonia plana, aterciopelada, borde irregular, consistencia dura, con anverso de color verde gris que se torna blanco y reverso verdoso con margen blanco, con pigmento amarillo difusible en el medio.

Crecimiento: 0.6-2.6 cm de diámetro a los 5 días a 28°C, en el medio PDA, las cuales se esparcen en toda la caja de agar.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-5.0 µm de ancho, hialinas, septadas. Conidióforos de 100.0-150.0 µm de largo, con paredes lisas e incoloras, penicilios triverticilados a biverticilados, de 1 a 2 ramificaciones. Fiálides de 7.5-10.0 µm de largo. Conidios de 2.0-4.0 µm de diámetro, esféricos, paredes lisas, organizadas en cadenas desordenadas.

Aislamientos: TMB: 7.2.4, 6.5.1, 4.5.1, 7.2.2, 7.1.1, 7.3.1, 7.5.2, 2.1.2, 2.3.1, 5.3.2, 2.4.3 y 2.2.4.

11. *Penicillium* sp. 2 (Figuras 4D, 4E)

Características macroscópicas: Colonia plana, zonada, aterciopelada, margen circular, borde irregular, consistencia dura, con anverso de color verde que se torna y reverso verdoso con margen blanco, con pigmento amarillo difusible en el medio.

Crecimiento: 0.6-2.8 cm de diámetro a los 5 días a 28°C, en el medio PDA, las cuales se esparcen en toda la caja de agar.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-5.0 µm de ancho, hialinas, septadas. Conidióforos de 50.0-125.0 µm de largo, con paredes lisas e incoloras, penicilios biverticilados a monoverticilados, de 1 a 2 ramificaciones. Fiálides de 4.5-5.5 µm de largo. Conidios de 3.0-5.0 µm de diámetro, esféricos, paredes lisas, organizadas en cadenas cortas.

Aislamientos: IMB: 3.1E; TMB: 3.2.1, 1.3.2, 2.4.1, 1.1.1, 1.2.2 y 3.4.4.

12. *Penicillium* sp. 3 (Figura 4F)

Características macroscópicas: Colonia elevada, aterciopelada, zonada, margen circular, con anverso de color verde grisáceo a amarillo y reverso rojizo con pigmento difusible en el medio.

Crecimiento: 1.6 cm a los 3 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-7.5 µm de ancho, hialinas, septadas. Conidióforos de 25.0-30.0 µm de largo, con paredes lisas e incoloras, penicilios biverticilados a monoverticilados, de 1 a 2 ramificaciones. Fiálides de 5.0 µm de largo. Conidios esporádicos de 3.0-4.0 µm de diámetro, esféricos, paredes lisas.

Aislamientos: TMB: 3.1.2.

13. *Rhizopus microsporus* Tiegh. (Figura 1E)

Características macroscópicas: Colonia elevada, algodonosa, con anverso y reverso de color grisáceo, con micelio aéreo gris negruzco.

Crecimiento: 8.4 cm de diámetro de crecimiento rápido y que llena la caja a los 3 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 8.0-10.0 µm ancho, oscuras, cenocíticas, con clamidosporas intercalares y terminales. Esporangióforo de 150.0-620.0 µm largo, oscuro, con estolones y rizoides. Esporangios de 40.0-70.0 µm, globoso, columela de 15.0-30.0 µm de diámetro, esférica. Esporangiosporas de 2.5-5.0 µm de diámetro, circulares, lisas y estriadas.

Aislamientos: TMB: 3.5.1 y 3.5.2.

14. *Trichoconiella padwickii* (Ganguly) B.L. Jain (Figura 1F)

Características macroscópicas: Colonia elevada, algodonosa, margen filiforme, borde irregular, con anverso y reverso de color anaranjado, con micelio aéreo blanquecino. Crecimiento: 2.5-4.5 cm a los 4 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-5.0 µm ancho, hialinas, septadas. Macroconidios de 30.0-62.0 x 2.5-10.0 µm entre la punta y el último septo, elipsoides, con pared lisa, 5 a 6 septos transversales, a veces las hifas quedan unidos a las terminaciones de los conidios dando la apariencia de apéndices largos.

Aislamientos: TMB: 1.4.2, 1.5.1, 6.2.1, 7.2.3 y 3.1.1.

15. *Trichoderma* sp. (Figura 1G)

Características macroscópicas: Colonia elevada, zonada, margen filiforme, algodonosa, con anverso de color blanco a verde oscuro en el centro y reverso amarillento a oscuro en el centro.

Crecimiento: 5.9 cm de diámetro a los 2 días a 28°C, en el medio PDA.

Características microscópicas: Hifas de 2.5-7.5 µm de ancho, hialinas, septadas. Conidióforos de 5.0 a 10.0 µm, profusamente ramificados. Conidios de 2.0-3.5 x 1.5-2.5 µm, elipsoides, individuales, de pared lisa, a menudo se adhieren en pequeños conglomerados, esferoides de 7.5-12.5 µm de diámetro.

Aislamientos: IMB: 3.2E.

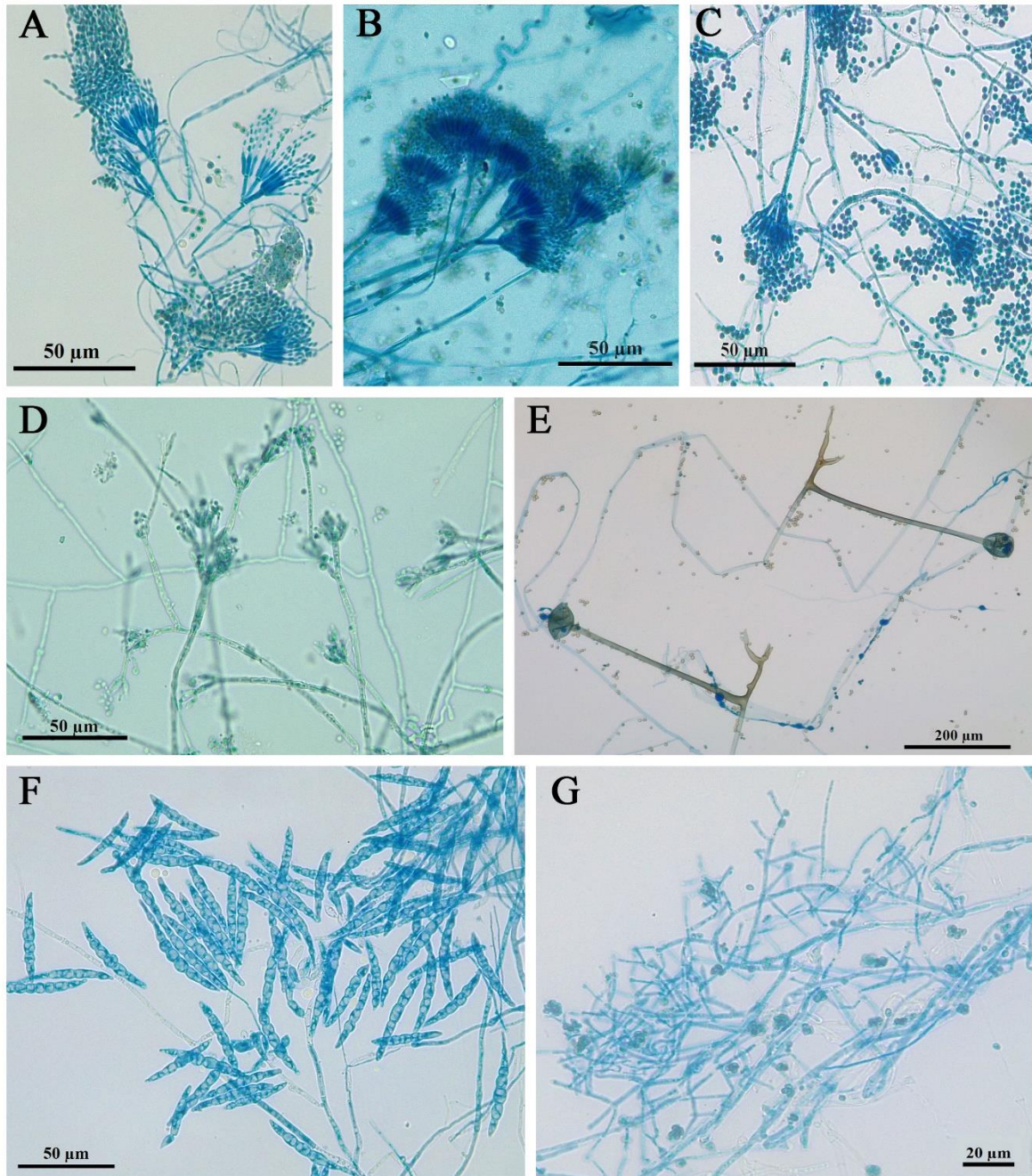


Figura 3. Características microscópicas de hongos (tinción con azul de lactofenol, 40X) aislados de granos de maíz procedentes de los puntos de venta de la cabecera municipal de Tecpán Chimaltenango, Guatemala e ICTA, Quetzaltenango. A. Conidióforos de *P. chrysogenum*. B. Conidióforo de *Penicillium* sp. 1. C. Conidióforos de *Penicillium* sp. 2. D. Conidióforo de *Penicillium* sp. 3. E. Esporangio de *R. microsporus*. F. Macroconidios de *T. padwickii*. G. Microconidios de *Trichoderma* sp.

IX. DISCUSIÓN

El maíz es el grano que constituye por tradición la base de la dieta de la población guatemalteca, ya que reviste una importancia especial por sus implicaciones culturales, socioeconómicas y alimentarias (Fuentes, 2002). Normalmente los agricultores cosechan y almacenan el maíz entre seis meses a un año dependiendo del éxito que han tenido en su producción, la cual deberá satisfacer requerimientos alimenticios en el futuro inmediato (Paliwal, Granados, Lafitte, y Violic, 2001).

En este estudio, según la información recabada en los puntos de venta, el maíz que se expende en Tecpán y en el ICTA, Quetzaltenango se cosecha de forma tradicional, lo cual hace que las mazorcas lleguen del campo con un alto contenido de humedad dentro de los granos, ya que estas recién cosechadas, se dejan secar al mismo tiempo sobre el suelo y luego se almacenan principalmente en costales, lo que favorece el desarrollo de microorganismos (Lindbland & Druben, 1980; Jamieson & Hubber, 1970).

Desde el punto de vista técnico, el porcentaje de humedad óptimo del grano de maíz almacenado debe encontrarse en 13% para que, en conjunto con la temperatura, no se favorezca el crecimiento fúngico (Christensen y Kaufmann, 1969), ya que un valor de humedad de 14% favorece el crecimiento de los hongos. Por el contrario, un valor menor a 9% favorece el almacenamiento hermético y no es apropiado para el crecimiento fúngico (Anexo 6; Granados, 2001).

El porcentaje de humedad en los granos de maíz obtenidos en Tecpán en su mayoría fue cercano al 13%, lo que demostró que el almacenamiento se realizó en condiciones de humedad apropiadas previo a su venta, sin embargo, aun así, puede permitir el desarrollo fúngico. Por otra parte, el maíz del ICTA tuvo un porcentaje de humedad más bajo como se requiere para el almacenamiento del grano tipo hermético (<9%), por lo que se esperaría que hubiera poca o nula colonización fúngica de los granos (Tabla 3, Christensen y Kaufmann, 1969).

Además de la humedad, en la colonización fúngica de los granos también influyen el pH de los mismos. En este estudio los valores encontrados en las muestras de los granos de maíz de los puntos de venta en Tecpán e ICTA, Quetzaltenango fueron cercanos a siete, lo cual

puede favorecer la colonización fúngica, ya que estos organismos prefieren los medios ácidos (Soriano del Castillo, 2007).

Otra prueba evaluada en este trabajo fue la irradiación de los granos con luz UV para determinar fluorescencia como indicador de las micotoxinas aflatoxina B y aflatoxina G, en donde se obtuvo resultados negativos, debido a que esta prueba se utiliza para determinar presuntivamente la presencia del hongo por medio de la detección de hidroxiantraquinonas (molécula fluorescente), que se produce por crecimiento activo de *A. flavus* y por lo tanto, no determina la producción de aflatoxinas, ya que si hay menos de ocho moléculas fluorescentes en una muestra de 2.5 kg no garantiza que esta esté libre de aflatoxinas, por lo que es necesario hacer la confirmación con una prueba cuantitativa (Munkvold, Hurburgh, Meyer, Loy, & Robertson, 2012).

Al respecto, por el método de ELISA, en el caso de las aflatoxinas totales se encontraron concentraciones por debajo de 2.0 ppb (límite inferior detectado por la prueba) para todas las muestras, lo anterior es de suma relevancia puesto que estos valores se encuentran dentro del límite máximo permitido (20 ppb) por la FDA y COGUANOR (Ministerio de Economía, 1992; Williams et al., 2004).

Los resultados de las concentraciones de aflatoxinas totales por el método de ELISA, parecen ser contradictorios con los de la prueba de luz UV. Sin embargo, como se mencionó anteriormente la prueba de luz UV no estima aflatoxinas, si no hidroxiantraquinona (Munkvold et al., 2012), por lo que no es extraño el resultado detectado en las muestras analizadas por el método de ELISA.

En el caso de los valores para ocratoxina A, por el método de ELISA, fueron menores a 20 ppb en la mayoría de las muestras procedentes de Tecpán, con excepción de una muestra de Tecpán e ICTA Quetzaltenango las cuales mostraron un valor mayor a 30.0 (límite de detección de 2.0-25.0 ppb), el cual sobrepasa significativamente el valor sugerido por la FDA (20.0 ppb).

Por otra parte, el hecho que en todas las muestras analizadas no se obtuvieron concentraciones de fumonisinas totales, pudo deberse a que la prueba de ELISA tiene como

límite inferior de detección concentraciones por arriba de 0.2 ppm, por lo que no se puede descartar que las muestras tengan concentraciones por debajo de este mínimo.

Con base en los resultados obtenidos para las concentraciones de micotoxinas se pudo determinar que las muestras de maíz analizadas provenientes de Tecpán e ICTA no es apto para el consumo humano ya que las concentraciones obtenidas para ocratoxina A, productor potencial de daño hepatotóxico, nefrotóxico, neurotóxico y teratogénico en humanos, fueron mayores a los límites permisibles por la FDA, aunque los valores para aflatoxinas y fumonisinas se encontraran dentro de los límites permisibles, tanto para la FDA como para COGUANOR. Debido a que en Guatemala todavía no existe una norma establecida de límites permitidos para ocratoxina A, es necesario considerar los indicados por la FDA.

Una de las limitaciones principales de este estudio fue no realizar análisis confirmatorios con métodos más robustos, ya que la prueba de ELISA actualmente es utilizada para estudios de tamizajes de micotoxinas y por ello es necesario realizar una confirmación (Martínez, Vargas, y Gómez, 2013). Al respecto, se indica que la técnica de referencia para la detección de micotoxinas en cereales y subproductos es HPLC acoplada a extracción con columnas de inmunoafinidad. Varios estudios han comparado los resultados de estas dos pruebas. Por ejemplo, Dorner & Cole (1989) indicaron que en base a el rendimiento de dos pruebas de detección de ELISA (EZ-Screen y Afla-10 Cup Test) con cromatografía líquida para la determinación de aflatoxinas en maní ambas pruebas de ELISA son adecuadas para su uso como pruebas de detección rápida en muestras negativas o contaminadas por encima de sus umbrales de detección.

Al comparar los resultados obtenidos para las micotoxinas con otros estudios realizados, por ejemplo, Torres y otros (2015) reportaron que, de 17 muestras de maíz procedentes del departamento de Chimaltenango, solamente tres presentaron un promedio de 21 ppb de aflatoxinas B1, valor que se encuentra por encima de los encontrados en este estudio. Por otra parte, todas las muestras presentaron concentraciones de fumonisinas B1 con un promedio de 0.07 ppm, lo cual indica que los valores de estas son minimos en las muestras, razón por la cual no fue posible detectarlas, debido a que la prueba de ELISA (Veratox®) utilizada tiene un valor de detección límite de 0.2 ppm.

Asimismo, Rojas-Jaimes (2008) realizó la comparación entre las pruebas ELISA (Veratox de Neogen® y R-Biopharm AG®) y HPLC para el análisis de ocratoxina en muestras de paprika y llegó a la conclusión que los resultados de ELISA tienden a ser más altos a los de HPLC, sin embargo, se obtienen una buena correlación (0.9) entre el ELISA Veratox de Neogen® y el HPLC.

Por otra parte, con respecto a las 104 cepas fúngicas recuperadas, *Acremonium* sp. 2 fue aislada con mayor frecuencia, seguida por *Aspergillus* sp. 1 y *Penicillium* sp. 1, resultados que coinciden con los estudios realizados por Lemus y otros (2007), Viñas, Sanchis y Hernández (1984), los que indicaron que las principales especies aisladas en maíz cosechado en México, España y Venezuela, respectivamente, fueron *A. flavus*, *Penicillium* spp. y *A. strictum*, debido a que varias especies de dichos géneros son los principales contaminantes del maíz, además de ser productores de micotoxinas (Smith & White, 1988).

Por el contrario, Vega (2012); Bucío, Guzmán y Peña (2001); Pineda y Carrasco (1997) así como Mazzani, Gonzalez, Luzón y Quijada (1998) indicaron que el principal género aislado en México y Venezuela fue *Fusarium* sp., lo cual es diferente a los encontrado en este estudio ya que el género *Fusarium* se aisló en un 2.88% de los casos. Lo anterior puede deberse a que *Fusarium* posee una mayor capacidad de sobrevivencia a 33°C y las temperaturas ambientales del área oscilan entre 17-25 para Tecpán y 13-22 para Quetzaltenango (Plato, 2018).

Es importante recalcar que de las cepas recuperadas del maíz del ICTA, seis correspondieron a especies de *Aspergillus* (42.85%), lo cual puede contradecir el hecho que el almacenamiento de tipo hermético de los granos no debería de favorecer el crecimiento de microbiota fúngica (Smith & White, 1988). Sin embargo esto puede deberse a que diversos estudios han demostrado que algunas especies de *Aspergillus* y *Penicillium* son capaces de colonizar las semillas en el campo y crecer con porcentajes de humedad bajos y condiciones controladas como la crioconservación ($\geq 6\%$ para *Aspergillus* y $\geq 8\%$ para *Penicillium*), y son capaces de soportar condiciones ambientales adversas como escasez de nutrientes, agua y temperaturas desfavorables al desarrollo fúngico, pues forman estructuras de resistencia (Gimeno, 2002; Figueiredo, Cardoso, y Cárdenas, 2014; Pérez y Cárdenas, 1993). Por lo tanto, estos resultados se pueden atribuir a que los agricultores utilizan métodos tradicionales con pocas condiciones controladas de cosecha y secado que no preservan la calidad del grano. Otra posibilidad es que la contaminación de los granos sea al momento de ser recolectados y

transportados a los silos o trojas previo a su almacenamiento con esporas, pues se sabe que el almacenamiento del grano no mejora su calidad, sino que solamente retarda su deterioro (Granados, 2001).

Es importante indicar que se recuperó una cepa de *A. parasiticus* en las muestras analizadas del ICTA. Esta especie se ha asociado a la producción de aflatoxinas y que la incidencia de dicha especie en aislamientos en muestras de maíz bajo condiciones de crecimiento controlado es baja, ya que posee una débil capacidad de supervivencia en condiciones ambientales del campo, lo que produce concentraciones bajas de aflatoxinas (Bucío, Peña, Y Guzmán, 2001), lo cual se demostró en este estudio.

Una de las limitaciones principales de este estudio fue la identificación taxonómica de las especies de cepas fúngicas recuperadas, ya que estas presentan características microscópicas similares difíciles de diferenciar con microscopía fotónica, por lo que deben ser identificados únicamente usando un enfoque polifásico que combina fenotipo, fisiología, secuenciación genética y datos de metabolitos secundarios de cada especie (Frisvad et al., 2019).

Por otra parte, al realizar una revisión en la literatura, se encontró que las especies de *Penicillium* y *Aspergillus* que se identificaron hasta especie, posiblemente puedan ser productoras de ocratoxina A debido a que se encontró esta micotoxina en todas las muestras. En un estudio en granos de maíz realizado por Castellari, Cendoya, Marcos, Barrera y Pacin (2015), en el cual se buscó la asociación entre factores extrínsecos e intrínsecos con poblaciones fúngicas micotoxigénicas, se recuperaron 18 cepas de *Penicillium*, dos de *Aspergillus* y cuatro de *Fusarium*, de las cuales seis tenían potencial micotoxigénico y una de ellas poseía la capacidad de producir ocratoxina A.

De los tres aislamientos del género *Fusarium* recuperados, dos correspondieron a *F. sporotrichioides*, hongo potencialmente micotoxigénico productor de tricotecenos, micotoxina no analizada en este estudio pero que se ha reportado como tóxica para el ser humano, inhibiendo la síntesis de proteínas (Kiessling, 1986).

Con respecto a las especies de *Acremonium* aisladas, se sabe que varias son endófitas del maíz y generan un antagonismo con hongos productores de micotoxinas como *Fusarium* y

Aspergillus por medio de la producción de antibióticos inhibitorios (Wicklów, Roth, Deyrup, & Gloer, 2005). Aunque no se tenga certeza de las especies aisladas en este estudio por la limitación de la identificación de las especies de hongos, se puede asumir que el elevado porcentaje de aislamiento del género *Acremonium*, inhibió el crecimiento de *Fusarium*, lo cual puede correlacionarse con la no detección de fumonisinas.

Es importante resaltar la presencia del hongo *T. padwickii* que, aunque no se conoce que produce alguna micotoxina, este género está comúnmente asociado a la contaminación en arroz, por lo que se considera a su vez como contaminante de almacenamiento, lo cual es muy común que en los comercios o sitios de venta se almacene en conjunto con varios granos (Pitt & Hocking, 2009).

Finalmente, el hallazgo de concentraciones de ocratoxina A en el maíz por encima de los valores permitidos por la FDA demuestra que existe la importancia de realizar un monitoreo constante sobre la presencia de estas, a través de la metodología de HPLC/MS, método estandarizado de detección con mayor sensibilidad y especificidad, así como también realizar una identificación por género y especie de hongos potencialmente micotoxigénicos como acción oportuna para determinar otras micotoxinas en maíz que puedan ocasionar un riesgo potencial para los consumidores. Así como también, establecer los límites permisibles de ocratoxina A en el maíz para el consumo humano sin que puedan generar patologías crónicas o cuadros de intoxicación aguda a nivel local por parte de COGUANOR, ya que diversos estudios como los de Ravelo, Rubio, Gutiérrez y Hardisson (2011) han demostrado que esta micotoxina tiene la capacidad de ser principalmente hepatotóxicas y nefrotóxicas, además de ser teratogénicas e inmunotóxicas y de poseer sinergismo contra otras micotoxinas (Serrano-Colli y Cardona-Castro, 2015; Martínez, Hernández, Reyes, y Vázquez, 2013).

X. CONCLUSIONES

1. Las concentraciones de aflatoxinas totales detectadas fueron menores a 2 ppb (2-50 ppb, valor del límite de detección), las de ocratoxina A oscilaron entre de 3.6 a 37.2 ppb (2-25 ppb, valor del límite de detección) y no se detectaron fumonisinas totales (1-6 ppm, valor del límite de detección).
2. Se identificaron 15 especies diferentes de hongos potencialmente micotoxigénicos de los cuales el mayor porcentaje correspondió a *Acremonium* con un 27.88%, seguido de *Aspergillus* y *Penicillium* ambos con 11.54%.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar los análisis de las concentraciones de micotoxinas a través de la metodología de HPLC/MS, método estandarizado de detección con mayor sensibilidad y especificidad.
2. Realizar una prueba de ELISA de alta sensibilidad para detectar concentraciones de fumonisinas por debajo de 0.10 ppm.
3. En futuros estudios analizar otros tipos de maíz que se comercialicen y se consuman en la localidad del estudio.
4. Ampliar la región geográfica de investigación, para poder obtener un punto de comparación entre los diversos ambientes agroecológicos que posee Guatemala.
5. Utilizar el medio de cultivo Czapek-dox, para identificar por género y especie a hongos potencialmente micotoxigénicos, por medio de las características macroscópicas y microscópicas.
6. En futuros estudios realizar la determinación de otras micotoxinas en maíz que puedan ocasionar un riesgo potencial para la salud de los consumidores.
7. Realizar pruebas sobre el potencial micotoxigénico de las cepas obtenidas en este estudio.

XII. REFERENCIAS

- Abrunhosa, L., Morales, H., Soares, C., Calado, T., Vila-Chã, A., Pereira, M., y Venancio, A. (2012). Micotoxinas detectadas en productos alimenticios en Portugal: Revisión. *Biociencias*, 2(1), 14-16.
- Acuña, T., Salinas, P., y Valles, N. (2014). Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en mercados de Trujillo (Perú). *Revista Científica de Estudiantes*, 2(2), e30.
- Arribas, A., Bermejo, E., Zapardiel, A., Tellez, H., Rodriguez-Flores, J., Zougagh, M., . . . Chicharro, M. (2011). Screening and confirmatory methods for the analysis of macrocyclic lactone mycotoxins by CE with amperometric detection. In S. De Saeger (Ed.), *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed* (pp. 499-506). Cornwall, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited.
- Arrúa, A., Moura, J., y Fernández, D. (2013). Aflatoxinas, un riesgo real. *Reportes Científicos de la FACEN*, 4(1), 68-81.
- Brown, D., Butchko, R., & Proctor, R. (2011). Identification of genes and gene clusters involved in mycotoxin synthesis. In S. De Saeger (Ed.), *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed* (pp. 334-338). Cornwall, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited.
- Bucío, C., Guzmán, D., & Peña, J. (2001). Aflatoxin synthesis in corn fields in Guanajuato. México: *Revista Iberoamericana de Micología*, 18, 83-87.
- Bucío, C., Peña, J. & Guzmán, D. (2001). Producción de Aflatoxinas en maíz *in vitro*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(2), 218-222.
- Cabañes, F., Abarca, M., Bragulat, M., y Castellá, G. (2007). Especies productoras de Micotoxinas. En J. Soriano del Castillo (Ed.), *Micotoxinas en alimentos* (pp. 28-61). Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.

- Castellari, C., Cendoya, M., Marcos, F., Barrera, V., y Pacin, P. (2015). Factores extrínsecos e intrínsecos asociados a poblaciones fúngicas micotoxigénicas de granos de maíz (*Zea mays* L.) almacenados en silos bolsa en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(4), 350-359.
- Christensen, C., & Kaufmann, H. (1969). Grain storage. The role of fungi in quality loss. Minneapolis, U.S. *University of Minnesota Press*, 153.
- De Hoog, G., & Guarro, J. (1995). *Atlas of clinical fungi*. Reus, España: Centraalbureau voor Schimmelcultures-Universitat Rovira il Virgili.
- De la Torre-Hernández, M., Sánchez-Rangel, D., Galeana-Sánchez, E., y Plasencia-de la Parra, J. (2014). Fumonisin – Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides*-maíz. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 17(1)78-81.
- De Saeger, S. (2011). *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed*. Cornwall, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited.
- Dorner, J., & Cole, R. (1989). Comparison of two ELISA screening tests with liquid chromatography for determination of aflatoxins in raw peanuts. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 72(6), 962-964.
- Eaton, D., Beima, K., Bammler, T., Riley, R., & Voss, K. (2010). Hepatic mycotoxins. In Roth, R. & Ganey, P. (Eds.), *Comprehensive toxicology* (Vol. 9, pp. 527-569). East Lansing, MI: Elsevier.
- Faucet, V., Pfohl-Leszkowicz, A., Dai, J., Castegnaro, M., & Manderville, R. (2004). Evidence for covalent DNA adduction by ochratoxin A following chronic exposure to rat and subacute exposure to pig. *Chemical Research in Toxicology*, 17(9), 1289-1296.
- Figueiredo, A., Cardoso, F., y Cárdenas, N. (2014). Incidencia de hongos y producción de aflatoxina en semillas de Maní crioconservadas. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 15(1), 91-102.

- Frisvad, J. (2011). Rationale for a polyphasic approach in the identification of mycotoxigenic fungi. In S. De Saeger, (Ed.), *Determining mycotoxins and mycotoxigenic* (pp. 279-292). Cornwall, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited.
- Frisvad, J., Hubka, V., Ezekiel, C., Hong, S., Nováková, A., Chen, A... Houbraken, J. (2019). Taxonomy of *Aspergillus* section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. Westerdijk Fungal Biodiversity Institute. *Study in Mycology*, 93, 1-63.
- Fuentes, M. (2002). *El cultivo del maíz en Guatemala: Una guía para su manejo agronómico*. Instituto de ciencia y tecnologías agrícolas –ICTA-, Guatemala.
- Fuentes-López, M., Van-Etten, J., y Vivero-Pol, J. (2005). Maíz para Guatemala: propuesta para la reactivación de la cadena agroalimentaria del maíz blanco y amarillo. Guatemala: *FAO Guatemala*.
- Gimeno, A. (04 de mayo de 2002). Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas [Artículo técnico]. Recuperado de <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factores-condicionantes-desarrollo-t26065.htm>
- Gimeno, A., y Martins, M. (2011). *Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos* (3a. Ed.). Miami, FL: Special Nutrients.
- Gómez, G., y Leónidas, A. (2009). *Análisis de cinco diferentes micotoxinas en muestras de alimentos terminados para aves de corral, remitidas al laboratorio de ornitopatología y avicultura de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. (Tesis de licenciatura), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Goryacheva, I., & De Saeger, S. (2011). Immunochemical methods for rapid mycotoxin detection in food and feed. In S. De Saeger (Ed.), *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed* (pp. 135-139). Cornwall, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited.

- Granados, G. (2001). Manejo Postcosecha. En R. Paliwal, G. Granados, H. Lafitte y A. Violic (Eds.), *El Maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- International Agency for Research on Cancer (1993). Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins in *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, IARC*. (Vol. 56, pp. 172-249). Lyon, France: World Health Organization.
- Jamieson, M., & Hubber, P. (1970). Prevención de pérdidas durante el almacenamiento, manejo de los alimentos. *Editorial Pax*, 3(1), 564.
- Kensler, T., Roebuck, B., Wogan, G., & Groopman, J. (2010). Aflatoxin: 50-years odyssey of mechanistic and translational toxicology. *Toxicological Sciences*, 120(1), S29-S37.
- Khoury, A., & Atoui, A. (2010). Ochratoxin A: general overview and actual molecular status. *Toxins*, 2(4), 462-466.
- Kiessling, K. (1986). Biochemical mechanism of action of mycotoxins. *Pure and Applied Chemistry*, 58, 327–338.
- Larone, D. (2002). *Medically important fungi: a guide to identification*. (4th Ed.). Washington, DC: ASM Press.
- Lemus, D. Maniscalchi, M., Vera, R., De Freitas, J., y Sangermano, A. (2007). Presencia de aflatoxinas y hongos aflatoxigénicos en maíz amarillo tipo duro clase I de la zona nororiental de Venezuela. *Saber*, 19(1), 43-49.
- Lindbland, C., & Druben, L. (1980). Preparing grain for storage. Small farm grain storage. *Action Peace Corps Program and Training Journal*, 1(2).
- López de Cerain, A., González-Penas, E., Jiménez, A., & Bello, J. (2002). Contribution to the study of ochratoxin A in spanish wines. *Food Additives & Contaminants*, 19(11), 1058-1064.

- Martínez, H., Hernández, S., Reyes, C., y Vázquez, G. (2013). El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México: problemática y perspectivas. *Revista mexicana de fitopatología*, 13(2), 126-146.
- Martínez, M., Vargas, L., y Gómez, V. (2013). Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención. *Biosalud*, 12(2), 89-109.
- Martínez-Larrañaga, M., y Anadón, A. (2012). Micotoxinas. En M. Caméan, y M. Repetto (Eds.) *Toxicología alimentaria* (pp. 290-292). Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Mazzani, C., González, N., Luzón, O., y Quijada, P. (1998). Efectividad de una mezcla de ácidos orgánicos en el control de hongos toxigénicos en granos de maíz almacenados. *Fitopatología Venezolana*, 11(2), 36-40.
- Medeiros, F., Martins, S., Zucchi, T., Melo, I., Batista, L., & Machado, J. (2012). Biological control of mycotoxin-producing molds. *Ciência e Agrotecnologia*, 36(5), 484-497.
- Mier, T., Moriello, C., y Ulloa M. (2002). *Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio*. México: Instituto de Biología de la UNAM.
- Ministerio de Economía (1992). COGUANOR NGO 34 052h2: Comisión Guatemalteca de Normas, Gobierno de la República de Guatemala, Guatemala.
- Ministerio de Ganadería, Agricultura y Alimentación [MAGA] (2017). Planeamiento: informe de situación del maíz blanco, diciembre 2017. Gobierno de la República de Guatemala, Guatemala.
- Moncada, C. (2003). Aductos, mecanismos patogénicos. *Medwave*, 3(1): 3198.
- Munkvold, G., Hurburgh, C., Meyer, J., Loy, D., & Robertson, A. (2012). Aflatoxins in corn. *Iowa State University*, 4.

Neogen Corporation (2011). Veratox: micotoxinas. Recuperado de <http://foodsafety.neogen.com/sp/veratox#micotoxinas>.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (1990). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Colección FAO: Agricultura*, 23 (1): 145.

Paliwal, R., Granados, G., Lafitte, H., y Violic, A. (2001). *El Maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Pérez, M. y Cárdenas, M. (1993). *Identificación y cuantificación de cepas fúngicas productoras de micotoxinas en alimento terminado para cerdo*. México: Universidad de Guadalajara.

Petzinger, E., & Weidenbach, A. (2002). Mycotoxins in the food chain: The role of ochratoxins. *Livestock Production Science*, 76(3), 245-250.

Petzinger, E., & Ziegler, K. (2000). Ochratoxin A from a toxicological perspective. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 23(2), 91-98.

Pfohl-Leszkowicz, A., & Manderville, A. (2007). Ochratoxin A: an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Molecular Nutrition Food Research*, 51(1), 68-69.

Pineda, J., y Carrasco, A. (1997). Poblaciones de hongos asociados a inflorescencias y mazorcas de maíz (*Zea mays*). XV Congreso Venezolano de Fitopatología. Maracaibo, Zulia. 23 - 27 de noviembre, 1997. [Resúmenes] *Fitopatología Venezolana*, 10(2), 40.

Pitt, J., & Hocking, A. (2009). *Fungi and food spoilage*. (3rd Ed., pp. 137-139). New York, NY: Springer.

Plato, E. (2018). Perspectiva climática por cuatrimestre. *Instituto Nacional de Sismología, Vulcanología, Meteorología e Hidrología*. Recuperado de: <http://www.insivumeh.gob.gt/perspectiva-climatica-para-el-cuatrimestre/>

- Raper, K., & Fennell, D. (1965). *The genus Aspergillus*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins.
- Ravelo, A., Rubio, C., Gutiérrez, A., y Hardisson, A. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutrición hospitalaria*, 26(6). 1215-1226.
- Resnik, S., Costarrica, M., & Pacin, A. (1995). Mycotoxins in Latin America and the Caribbean. *Elsevier Science*, 6(1), 20-21.
- Rojas-Jaimes, J. (2008). Comparación entre los sistemas ELISA y el HPLC usando los kits de NEOGEN “VERATOX” y R-BIOPHARM para análisis de Ocratoxina en muestras de pprika. *Universidad de Perú.*
- Sanchis, V., Marín, S., y Ramos, A. (2007). Factores determinantes en la producción de micotoxinas. En J. Soriano del Castillo (Ed.), *Micotoxinas en alimentos* (pp. 65-89). Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Scussel, V., & Rodriguez-Amaya, D. (1985). Aflatoxin levels in peanut and peanut products commercialized in Campinas in the period 1980-1982. *Boletim da Sociedade Brasileira de Cincia e Tecnologia de Alimentos*, 19(1), 109-119.
- Serrano-Colli, H., y Cardona-Castro, C. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *Revista CES Medicina*, 29(1), 143-151.
- Shephard, G. (2011). Chromatographic separation techniques for determination of mycotoxins in food and feed. In S. De Saeger (Ed.), *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed* (pp. 71-74). Cornwall, UK: Woodhead Publishing Limited.
- Smith, D., & White, D. (1988). Diseases of corn. In G. Sprague & J. Dudley (Eds.) *Corn and corn improvement*. (3rd Ed., pp. 687-766). Madison, WI: American Society of Agronomy.
- Soriano del Castillo, J. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.

- Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I., . . . Oswald, I. (2012). Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed—focus on Europe. *Toxins*, 4(10), 788-809.
- Torres, E., Acuña, K., Naccha, L., Montoya, R., & Castrellón J. (1995). Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, Mexico. *Food Additives & Contaminants*, 12(3), 128.
- Torres, O., Matute, J., Gelineau-van Waes, J., Maddox, J., Gregory, S., Ashley-Koch, A., ... Riley, T. (2015). Human health implications from co-exposure to aflatoxins and fumonisins in maize based foods in Latin America: Guatemala as a case study. *World Mycotoxin Journal*, 8(2), 143-147.
- Torres-Sánchez, L., y López-Carrillo, L. (2010). Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud Pública de México*, 52(5), 461-464.
- Tozlovanu, M., Faucet-Marquis, V., Pfohl-Leszkowicz, A., & Mandeville, R. (2006). Genotoxicity of the hydroquinone metabolite of ochratoxin A: structure-activity relationships for covalent DNA adduction. *Chemical Research in Toxicology*, 19(9), 1241–1247.
- Vega, V. (2012). *Hongos micotoxigénicos y aflatoxinas en granos de maíz de diferentes orígenes geográficos de la República Mexicana*. México: Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”.
- Viñas, I., Sanchis, V., y Hernández, E. (1984). Investigación de micotoxinas y microflora en maíz procedente de silos. *Phytopathologia Mediterranea*, (23)1, 23-27.
- Wicklów, D., Roth, S., Deyrup, S., & Gloer, J. (2005). A protective endophyte of maize: *Acremonium zeae* antibiotics inhibitory to *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Mycological Research*, 109(5), 610.
- Williams, J., Phillips, T., Jolly, P., Stiles, J., Jolly, C., & Aggarwal, D. (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health

consequences, and interventions. *American Society for Clinical Nutrition*, 80(5), 1106-1110.

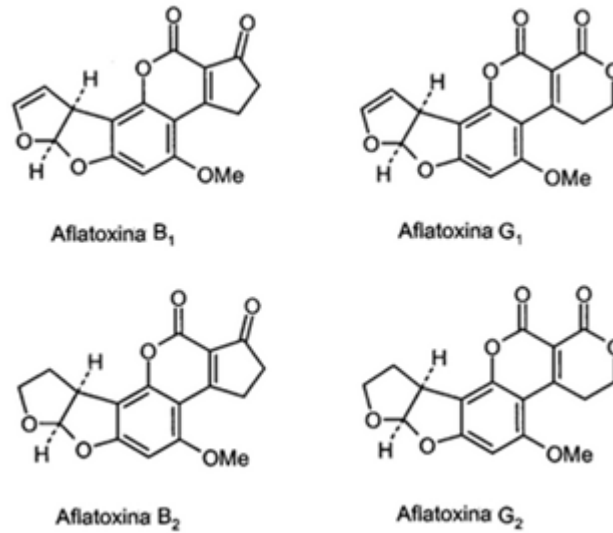
World Health Organization –WHO- (2006). *Mycotoxins in African foods: implications to food safety and health*. AFRO Food Safety Newsletter, World Health Organization Food safety.

Wu, F. (2015). Global impacts of aflatoxin in maize: trade and human health. *World Mycotoxin Journal*, 8(2), 137-139.

Yao, H., Hruska, Z., & Di Mayungu, D. (2015). Developments in detection and determination of aflatoxins. *World Mycotoxin Journal*, 8(2), 182-183.

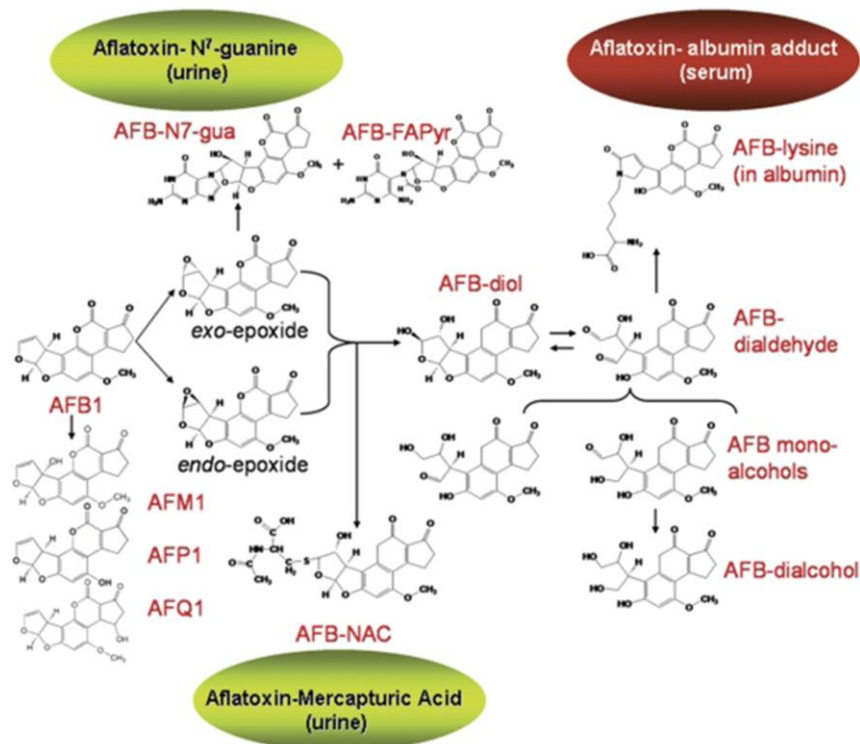
XIII. ANEXOS

Figura 1. Estructura química de aflatoxinas.



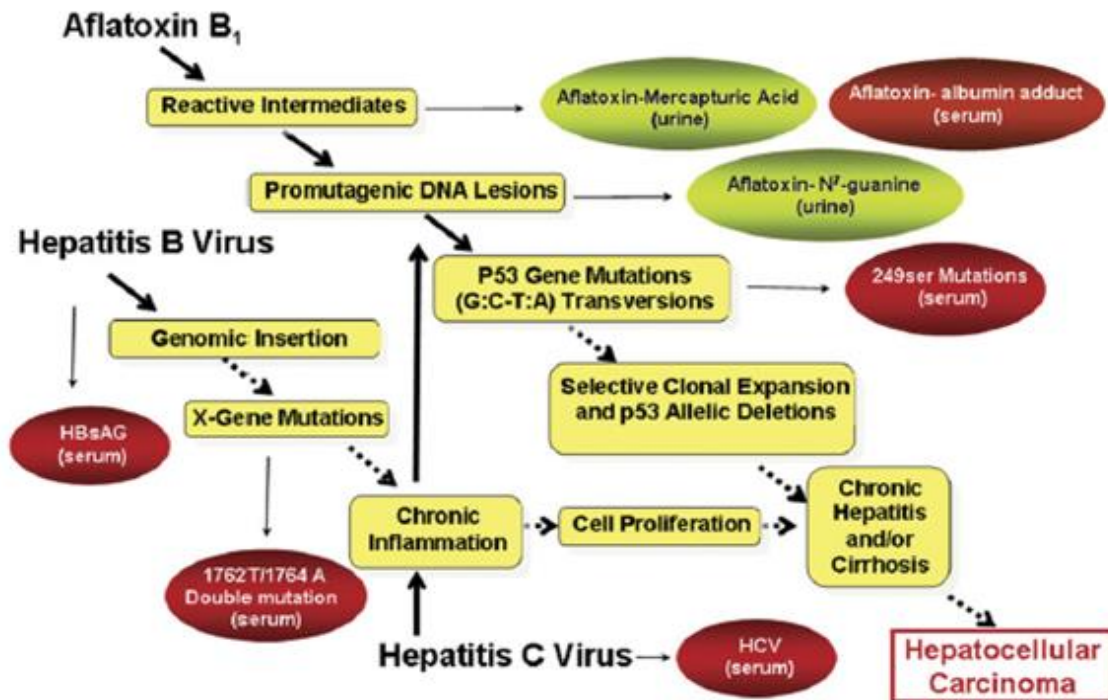
Adaptado de “Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions” por J. Williams et al., 2004, *American Society for Clinical Nutrition*, 80(5), 1106-1110.

Figura 2. Vías de biotransformación para Aflatoxina B₁ (AFB₁).



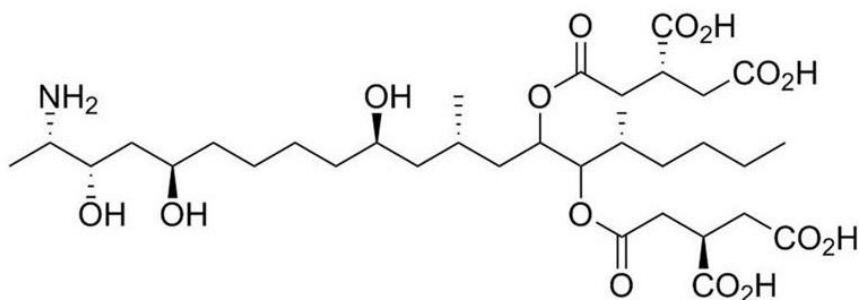
Adaptado de “Aflatoxin: 50-years odyssey of mechanistic and translational toxicology” por T. Kensler et al., 2010, *Toxicological Sciences*, 120(1), S29-S37.

Figura 3. Pasos clave en el desarrollo de HCC por químicos (aflatoxinas) y factores virales (VHB y VHC).



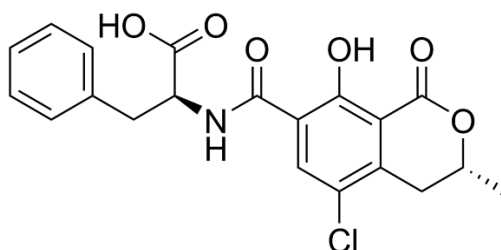
Adaptado de “Aflatoxin: 50-years odyssey of mechanistic and translational toxicology” por T. Kensler et al., 2010, *Toxicological Sciences*, 120(1), S29-S37.

Figura 4. Estructura química de FB₁.



Adaptado de “Identification of genes and gene clusters involved in mycotoxin synthesis” por D. Brown, R. Butchko & R. Proctor, 2011, en S. De Saeger (Ed.), *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed* (pp. 334-338). Cornwall, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited.

Figura 5. Estructura química de OTA.



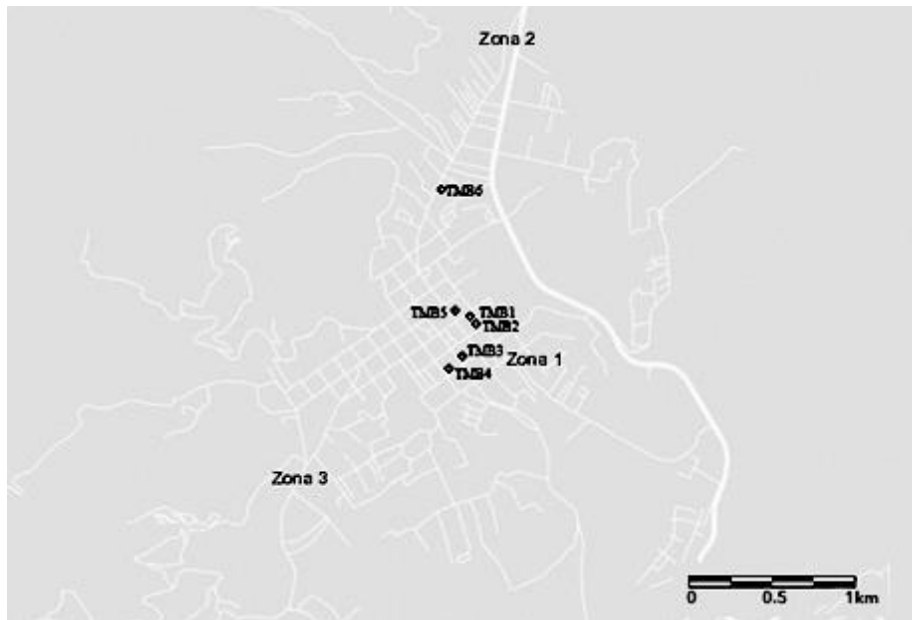
Adaptado de “Identification of genes and gene clusters involved in mycotoxin synthesis” por D. Brown et al., 2011, en S. De Saeger (Ed.), *Determining mycotoxins and mycotoxigenic fungi in food and feed* (pp. 334-338). Cornwall, United Kingdom: Woodhead Publishing Limited.

Tabla 3. Efecto del contenido de humedad del grano sobre la fisiología de la semilla y la presencia de factores bióticos de estrés

Humedad de la semilla (%)	Comportamiento de la semilla y ocurrencia de estrés
>45-60	La semilla germina
>18-20	Puede ocurrir calentamiento
>14-20	Los hongos crecen sobre y dentro la semilla
<9-8	Escasa o ninguna actividad de insectos
<8-4	Almacenamiento hermético es más seguro

Adaptado de “Manejo Postcosecha” por G. Granados, 2001, en R. Paliwal, G. Granados, H. Lafitte y A. Violic (Eds.), *El Maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Figura 6. Geolocalización del municipio de Tecpán, Chimaltenango.

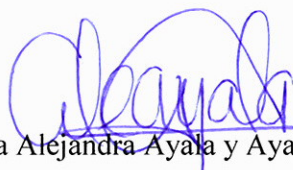


Adaptado de “Mi mapa” por Esri, 2019, en ArcGIS Online, recuperado de: <http://www.arcgis.com/home/webmap/viewer.html>

Figura 7. Geolocalización del ICTA, municipio de Olintepeque, Quetzaltenango.

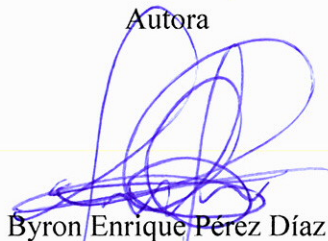


Adaptado de “Mi mapa” por Esri, 2019, en ArcGIS Online, recuperado de: <http://www.arcgis.com/home/webmap/viewer.html>



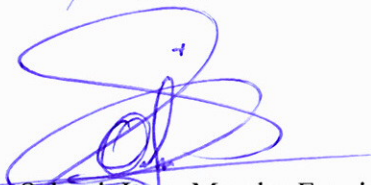
Ana Alejandra Ayala y Ayala

Autora



Byron Enrique Pérez Díaz

Autor



MSc. Osberth Isaac Morales Esquivel

Asesor



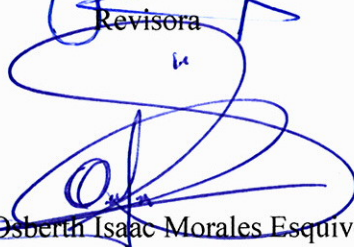
Licda. María del Carmen Bran González

Asesora



Licda. Isabel Cristina Gaitán Fernández

Revisora



MSc. Osberth Isaac Morales Esquivel

Director de Escuela Química Biológica



M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano Facultad Ciencias Químicas y Farmacia