

***Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz (Zea mays L.) para autoconsumo:
prácticas de preparación y almacenamiento del grano, asociadas a la
prevalencia de contaminación.***



Universidad Doctor Andrés Bello
Dirección Nacional de Investigación y
Proyección Social
Área: Salud

AFLATOXINAS Y OCRATOXINAS TOTALES EN MAÍZ (*Zea mays L.*) PARA AUTOCONSUMO: PRÁCTICAS DE PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DEL GRANO ASOCIADAS A LA PREVALENCIA DE CONTAMINACIÓN

ÁREA SALUD

2014



Dirección Nacional de Investigación y Proyección Social

UNIVERSIDAD DOCTOR ANDRÉS BELLO
DIRECCIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN SOCIAL
ÁREA SALUD

615.956 57

C957a Cruz Salmerón, Alvin Tedis, 1988-

sv Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz (Zea mays L.) para autoconsumo : prácticas de preparación y almacenamiento del grano, asociadas a la prevalencia de contaminación / Alvin Tedis Cruz Salmerón, Roxana Ivette Martínez López, José Roberto Hernández Rauda. -- 1ª ed. -- San Salvador, El Salv. : Universidad Doctor Andrés Bello, 2015.

53 p. : il. : 28 cm.

ISBN 978-99961-906-9-8

1. Maíz - El Salvador-Investigaciones. 2. Intoxicación por Alimentos. 3. Almacenamiento de granos-Enfermedades y plagas. 4. Enfermedades transmitidas por alimentos. 5. Bacteriología de Alimentos. I. Título.

BINA/jmh

©2015, Universidad Doctor Andrés Bello
Primera edición 2015.

ISBN 978-99961-906-9-8

Cualquier reproducción total o parcial deberá hacerse citando la fuente, previa autorización por escrito.

Código Institucional: **4SR/INV/C/2014**

Alvin Tedis Cruz Salmerón, Roxana Ivette Martínez López y José Roberto Hernández Rauda¹ (Investigadores).

Con la cooperación técnica de:

Samuel Alejandro Cano, Delia del Rosario Cañas de Morán, Gloria Marcela Doradea de Hernández, Juan José Escuintla, Mariella Jeannette Hernández Moncada, Jazmine Ermelinda Pérez Pérez, Ever Alexander Rodríguez, José Domingo Romero y Mildred Amparo Sandoval (colaboradora externa).

¹ A quien debe dirigirse la correspondencia. 1ª Calle Poniente y 41 Av. Norte, #2128, Col. Flor Blanca, San Salvador, El Salvador. Tel + (503) 2510-7455, casilla electrónica: roberto.rauda@unab.edu.sv

ÍNDICE DE CONTENIDO

PRÓLOGO.....	i
RESUMEN.....	ii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Micotoxinas.....	1
1.1.1 Micotoxicosis.....	2
1.1.2 Micotoxinas en los alimentos.....	3
1.2 Aflatoxinas.....	3
1.3 Ocratoxinas.....	5
1.4 Análisis de micotoxinas en alimentos.....	6
1.5 Aspectos legislativos de las micotoxinas y normativa vigente.....	6
1.5.1 Aflatoxinas totales en los alimentos.....	6
1.5.2 Ocratoxina A en los alimentos.....	7
1.6 Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, estudios en El Salvador.....	8
2. MÉTODOS.....	9
2.1 Diseño del estudio y muestreo.....	9
2.2 Colecta de datos e instrumentos.....	10
2.3 Recolección de muestras.....	11
2.3.1 Programa de trabajo.....	11
2.3.1.1 Tipos de muestras.....	11
2.3.1.2 Fechas de muestreo	12
2.3.1.3 Diagrama de flujo del proceso de muestreo	12
2.3.1.4 Descripción del sitio y la muestra	12
2.3.1.5 Toma de muestra.....	13
2.4 Análisis de laboratorio.....	13
2.4.1 Recepción de muestras.....	13
2.4.2 Análisis de composición esencial y factores de calidad según Norma Técnica Salvadoreña NTS CODEX STAN 153:1985.....	13
2.4.3 Preparación de la muestra y obtención de extractos.....	13

2.4.4 Técnica de inmunoensayo enzimático competitivo directo (ELISA-CD).....	14
2.4.4.1 Aflatoxinas totales, principios analíticos.....	14
2.4.4.2 Ocratoxinas totales, principios analíticos.....	15
2.5. Clasificación de casos y controles.....	15
2.6 Análisis de datos.....	15
3. RESULTADOS.....	17
3.1 Características de la población participante del tamizado por localidad agrícola.....	17
3.1.1 San Miguel.....	17
3.1.2 Chalatenango.....	17
3.1.3 La Libertad.....	17
3.1.4 Sonsonate.....	18
3.2 Características de las prácticas de preparación y almacenamiento del grano de maíz, por cada localidad agrícola muestreada.....	21
3.2.1 San Miguel.....	21
3.2.2 Chalatenango.....	21
3.2.3 La Libertad.....	22
3.2.4 Sonsonate.....	22
3.3 Niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, determinados en cada localidad agrícola muestreada.....	23
3.4 Prevalencia de casos de contaminación por Aflatoxinas y Ocratoxinas totales determinados en cada localidad agrícola muestreada.....	28
3.5 Prácticas de preparación y almacenamiento del grano de maíz, asociados a niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales arriba de la norma europea.....	30
4. DISCUSIÓN.....	34
4.1 Factores promotores que intervienen en el crecimiento de hongos toxicogénicos y la producción de micotoxinas en granos de maíz.....	34
4.2 Prevalencia de contaminación por Aflatoxinas totales en maíz destinado para autoconsumo de productores de granos básicos.....	35

4.2 Prevalencia de contaminación por Ocratoxinas totales en maíz destinado para autoconsumo.....	35
5. CONCLUSIONES.....	36
6. REFERENCIAS.....	37
7. APÉNDICES.....	41

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición y origen de las muestras de maíz, obtenidas por conveniencia para la detección de niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales. Julio a octubre de 2014.....	10
Tabla 2. Características demográficas y agrícolas de la muestra por conveniencia de cada localidad agrícola.....	19
Tabla 3. Prácticas de preparación y almacenamiento del grano de maíz, por cada localidad agrícola muestreada.....	20

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases de crecimiento fúngico y localización de la síntesis de micotoxinas.....	1
Figura 2. Estructuras químicas de las Aflatoxinas de los grupos B y G.....	5
Figura 3. Estructura química de la Ocratoxina A.....	6
Figura 4. Límites a nivel mundial para Aflatoxinas totales en los alimentos.....	7
Figura 5. Límites a nivel mundial para Ocratoxina A en los alimentos.....	7
Figura 6. Ubicación geográfica de las localidades agrícolas muestreadas en los municipios de Villa San Antonio (San Miguel), Nueva Concepción (Chalatenango), San Pablo Tacachico (La Libertad) y Acajutla (Sonsonate).....	9
Figura 7. Flujo de actividades del proceso de muestreo incluyendo análisis ELISA-CD para Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en las muestras de maíz, desarrollado entre los meses de Julio a Octubre de 2014.....	12
Figura 8. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ocratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en los cantones San Marcos y San Diego, Villa San Antonio, San Miguel. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ocratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.....	24
Figura 9. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ocratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en el cantón Santa Rosa y en la Hacienda Los Chilamates, Nueva Concepción, Chalatenango. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ocratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.....	25

Figura 10. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ocratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en el cantón Atiocoyo, San Pablo Tacachico, La Libertad. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ocratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.....26

Figura 11. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ocratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en el cantón Metalío, Acajutla, Sonsonate. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ocratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.....27

Figura 12. Prevalencias de contaminación probable de granos de maíz, tanto para Aflatoxinas totales como para Ocratoxinas totales en las localidades de Villa San Antonio, Nueva Concepción, Atiocoyo y Metalío expresadas en porcentajes. Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.....29

Figura 13. Modelo predictivo de los niveles de Aflatoxinas totales en los granos de maíz, según el efecto de ocho prácticas y dos condiciones de preparación y almacenamiento de la semilla ($R^2 = 0.071$, $\chi^2 = 252.888$, 84 gl., $p < 0.001$, $n = 128$). Los números sobre las flechas unidireccionales son coeficientes **b** de regresión y aquellos sobre las bidireccionales son coeficientes de correlación (**r**). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.....31

Figura 14. Relación inversamente proporcional entre la altitud de la zona de ubicación y la temperatura del depósito de almacenamiento de granos de maíz analizados. Las variaciones de ambos factores se ajustan a una curva definida por $y = 42.90 - 0.023x$, delineada en rojo, con un $R^2 = 0.690$, $p < 0.001$. Las curvas en color azul representan al intervalo de confianza al 95%, respecto a la media de la muestra.....32

Figura 15. Relación inversamente proporcional entre la temperatura y la humedad relativa porcentual del depósito de almacenamiento de granos de maíz analizados. Las variaciones de ambos factores se ajustan a una curva definida por $y = 133.84 - 2.488x$, delineada en rojo, con un $R^2 = 0.721$, $p < 0.001$. Las curvas en color azul representan al intervalo de confianza al 95%, respecto a la media de la muestra.....33

PRÓLOGO

Actualmente en El Salvador se tiene poco conocimiento sobre la importancia de las toxinas producidas por hongos; Aflatoxinas y Ocratoxinas totales y sus efectos hepatotóxicos y nefrotóxicos en los seres humanos. Estas sustancias químicas se encuentran como contaminantes naturales en granos de maíz, frijol, arroz, maní y frutos secos entre otros.

Las intoxicaciones por estas toxinas pueden ser agudas, pero las de mayor importancia para los humanos son las crónicas, debido a que la exposición a bajas concentraciones por un tiempo prolongado a través de alimentos contaminados son las que provocan los daños en hígado y riñones.

En nuestro país el cultivo de maíz es fundamental por su uso como alimento y por ser fuente de ingresos económicos a los pequeños agricultores que principalmente lo destinan para autoconsumo, pero el excedente se es destina para la venta para sufragar los costos de producción y de esta forma el problema de contaminación también se expande.

La Universidad Doctor Andrés Bello comprometida con la investigación en vista de la carencia de información del estado actual de esta problemática realizó un tamizado a nivel nacional que pretendió la determinación de niveles de contaminación por Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz, en localidades agrícolas de los departamentos de La Libertad (cantón Atiocoyo), San Miguel (municipio de Villa San Antonio), Chalatenango (municipio de Nueva Concepción) y Sonsonate (cantón Metalío).

Los resultados obtenidos del presente estudio servirán no solo de referente respecto al conocimiento de la prevalencia de niveles de contaminación que sobre pasan los límites de tolerancia establecidos por la normativa europea, sino que va más allá, debido a que se ha abordado desde el lugar de origen conociendo, además de las mediciones de laboratorio, las formas tradicionales agrícolas de cultivo, cosecha y almacenamiento del maíz, por lo cual aporta una línea base a la mejora de prácticas agrícolas de los productores que ponen en riesgo de contaminación por hongos y sus toxinas a este producto en alguna etapa de su cadena de productiva.

Aún queda mucho que abordar con el estudio de estas micotoxinas, falta por profundizar en los factores promotores de contaminación de granos, las medidas de control, el comportamiento según la época de cosecha, además de sensibilizar sobre la necesidad de generar más conocimiento en esta área, con el propósito de contribuir a la seguridad e inocuidad alimentaria de los salvadoreños.

Lic. Marco Tulio Magaña Escalante, DHC.
Rector

RESUMEN

Las Aflatoxinas y Ocratoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos, llamados generalmente micotoxinas, son contaminantes naturales que al ser ingeridos por humanos o animales a través de alimentos contaminados afectan la salud por sus efectos mutagénicos y teratogénicos, sus órganos diana son hígado y riñones.

El presente estudio fue originado por la carencia de información e incertidumbre sobre contaminación producida por los hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium* en granos de maíz (*Zea mays* L.) destinado para autoconsumo, con el propósito de la detección y cuantificación de niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz almacenado, determinación de la prevalencia de contaminación y caracterización de las prácticas y condiciones post cosecha del maíz, incluyendo el almacenamiento asociadas a la contaminación por estas toxinas.

La investigación se llevó a cabo en localidades agrícolas de cuatro departamentos de El Salvador, tomando como criterios de selección estudios realizados por la Universidad Doctor Andrés Bello que establecieron la prevalencia de marcadores de lesiones hepáticas y renales en personas mayores de 30 años de estos sitios. Se obtuvo de cada agricultor una muestra de granos de maíz y se realizó una entrevista personal con dos ítems: a) Información agrícola y b) Toma de puntos de georreferencia y datos de la muestra. Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Investigación de la Universidad Doctor Andrés Bello, mediante Inmunoensayo Enzimático Competitivo Directo, utilizando Kits Veratox® para Aflatoxinas y Ocratoxinas totales.

Se encontró positividad en las cuatro localidades para Aflatoxinas totales según límite establecido por normativa de la Unión Europea de 4 milmillonésimas de gramo (ppb), con valores medianos de 6.3 para Villa San Antonio, 60.15 para Nueva Concepción, 4.75 para Atiocoyo y 6.5 para Metalío. En Atiocoyo se obtuvo el único valor que supera el límite máximo permitido Ocratoxinas totales (17.2). Las prevalencias de límites que superan los valores máximos permitidos para Aflatoxinas totales en las muestras tomadas en La Libertad, San Miguel y en Sonsonate, superaron el 20%; mientras que en Chalatenango solo alcanzó menos del 7% de las alícuotas analizadas, lo que indica que la contaminación probable oscila de una frecuencia baja a muy baja.

Se determinó que la práctica de dejar transcurrir dos o más meses desde la dobla hasta la tapisca para el secado de la mazorca en la planta, reduce a un tercio el riesgo de que el maíz almacenado presente niveles de Aflatoxinas totales por encima del límite máximo permitido; por consiguiente, esta variable es un predictor significativo de los contenidos esperados de Aflatoxinas totales en los granos de maíz almacenados.

Se demostró que la forma, la duración y la superficie de secado del maíz, así como el desgranado mecanizado, la aplicación no exhaustiva de limpieza del grano y del depósito de acopio y la estimación de la humedad, previo al almacenamiento, están significativamente asociados y podrían influir sobre los contenidos de Aflatoxinas totales que superen el límite máximo según la norma europea.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Micotoxinas

Son una variedad de compuestos altamente tóxicos resultantes del metabolismo secundario fúngico, producidos en diferentes sustratos bajo ciertas condiciones climatológicas. Estos hongos pueden ser saprofitos, reciclando los nutrientes procedentes de la descomposición de las materias que hay en el suelo, en la vegetación y el agua, o parasitando plantas y animales. La mayoría de las micotoxinas conocidas, hasta ahora, han sido identificadas como metabolitos secundarios de los *Fungi imperfecti*, entre los que cabe destacar principalmente los del genero *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps*, *Alternaria*, *Neotyphodium*, *Stachybotrys*, *Myrothecium*, *Phoma* y *Diploidia* [1].

El termino metabolito secundario designa a aquellos compuestos que no son indispensables para el desarrollo o crecimiento de los hongos, en contraste con los metabolitos primarios, tales como aminoácidos, ácidos grasos, sacáridos, ácidos nucleicos, y proteínas. Aunque no se considera la producción de micotoxinas como un hecho biológicamente beneficioso, las micotoxinas han sido propuestas como compuestos que proveen a los hongos de las siguientes funciones: (a) papel ecológico en la naturaleza, ya que compite con la bacteria por el sustrato y (b) papel regulador en el metabolismo [1].

El termino micotoxina, deriva del griego *mikes* y *toxina*, que significan hongo y veneno respectivamente, su producción tiene lugar cuando la etapa de crecimiento llega a su etapa final y durante la fase estacionaria (Figura 1). Son moléculas relativamente pequeñas ($P_m < 700$ g/mol). La mayor parte de estos metabolitos se originan en la ruta policetónica, con una cadena general del tipo $R-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-SCoA$, de la cual se derivan la mayoría de micotoxinas. Existen otras rutas biosintéticas pero son más complejas y esa complejidad se relaciona con un menor número de especies fúngicas capaces de producirlas [2].

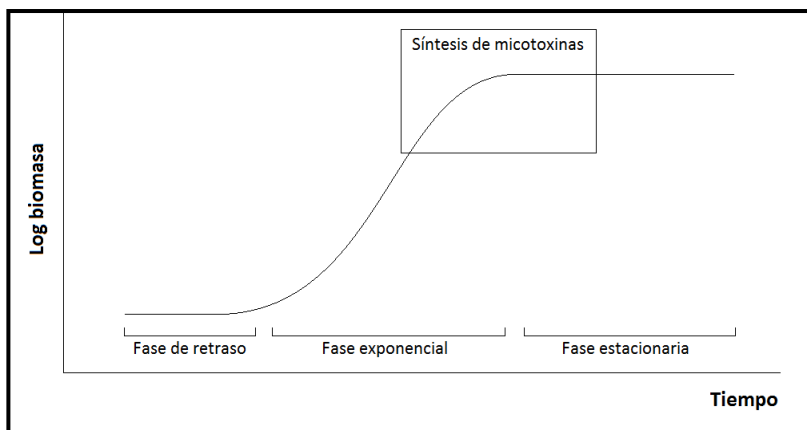


Figura 1. Fases de crecimiento fúngico y localización de la síntesis de micotoxinas [1].

Los hongos toxicogénicos son cosmopolitas, y por lo tanto las micotoxinas son contaminantes ambientales presentes virtualmente en todas las partes del mundo e inducen efectos tóxicos tras inhalación o ingestión. La historia de las intoxicaciones por micotoxinas o micotoxicosis, data de la Edad Media cuando fueron frecuentes las epidemias de alucinaciones, delirio y gangrena; en el año de 1850 se identificaron a los alcaloides del cornezuelo de centeno (productos secundarios del hongo *Claviceps purpurea*) como agentes causales de enfermedad [1].

Se volvió a tener interés por las micotoxinas cuando a principios del año de 1960 en el Reino Unido se produjo la muerte de miles de pavos y patos por contaminación de la harina de cacahuete utilizada como alimento por micotoxinas, en concreto por Aflatoxinas [1].

1.1.1 Micotoxicosis

Las micotoxicosis en el hombre y los animales están caracterizadas como enfermedades relacionadas con alimentos contaminados, no son contagiosas ni infecciosas, pero si transferibles. Teniendo en cuenta la concentración y el tiempo de exposición a una determinada micotoxina y considerando factores individuales como edad, sexo, dieta o cualquier otra condición general. Las micotoxicosis pueden inducir una de las siguientes formas de intoxicación: (a) *aguda*: se producen cuando se consumen concentraciones de moderadas a altas de micotoxinas, produciendo manifestaciones específicas, síndrome de enfermedad aguda y muerte; (b) *crónica*: provocadas por la ingesta de niveles de toxinas de moderados a bajos, causando enfermedades crónicas específicas; y (c) *indirecta*: producidas por la ingesta de muy bajas concentraciones de toxinas causando un aumento de la susceptibilidad a otras infecciones o enfermedades oportunistas [1].

El modo de acción de las micotoxinas está determinado por su estructura química, y sus efectos bioquímicos a nivel celular incluyen: interacciones con membranas celulares, interferencia con el metabolismo energético, interacciones con el ADN, inhibición de la transcripción, interferencia con el metabolismo de las purinas e interacción con receptores hormonales [1].

Dependiendo del modo de acción celular, las micotoxinas pueden originar en los organismos diana una serie de efectos biológicos que pueden variar mucho entre las especies fúngicas implicadas. En general, en el hombre y en los animales, los efectos biológicos de la mayoría de las micotoxinas comprenden: hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, actividad inmunosupresora, teratogenicidad, mutagenicidad, carcinogenicidad, estrogenicidad y acción diabetogénica [1].

En 1993, la Organización Mundial de la Salud y la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (WHO-IARC por sus siglas en inglés), evaluaron el potencial carcinógeno de diferentes micotoxinas incluyendo Aflatoxinas, Ocratoxinas, Tricotecenos, Zearalenona y Fumonisin. En esta evaluación, las Aflatoxinas se clasificaron como compuestos carcinógenos para el hombre (Grupo I) mientras que las Ocratoxinas y las

Fumonisin se clasificaron como posibles carcinógenos (Grupo 2B); mientras que los Tricotecenos y la Zearalenona no tienen ese efecto (Grupo 3) [1].

1.1.2 Micotoxinas en los alimentos

La mayoría de alimentos que se consumen no son estériles, por lo general contienen asociaciones microbianas cuya composición depende de los organismos que llegan a ellos y cómo se multiplican, sobreviven e interaccionan en el alimento con el transcurso del tiempo. Por su propia naturaleza, los alimentos son nutritivos y aprovechables, por eso son sustratos óptimos para el crecimiento y metabolismo de hongos toxicogénicos [1].

En general, los hongos pueden crecer y producir toxinas en un amplio rango de sustratos. Las especies fúngicas toxicogénicas que se encuentran más frecuentemente en los alimentos pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*. El contenido en humedad, pH, temperatura y tiempo, son los factores ambientales más críticos que determinan la producción de micotoxinas en un sustrato y su prevalencia [1].

El desarrollo de hongos y la producción de micotoxinas pueden producirse antes, durante y después de la cosecha de cereales, nueces, judías y aceite de semillas. Muchas especies de hongos (particularmente del género *Fusarium*) son parásitos de plantas, que junto con una disminución de la producción en la cosecha, pueden producir micotoxinas en las plantas vivas. En el período de la recolección, los productos agrícolas en ciertas condiciones comunes de almacenamiento y transporte, pueden verse dañados e infectados fácilmente por esporas fúngicas toxigénicas (particularmente *Aspergillus*, *Penicillium spp.*) adaptadas al crecimiento de la planta y producir micotoxinas [1].

1.2 Aflatoxinas

Las Aflatoxinas B y G, letras que se refieren a la fluorescencia azul y verde respectivamente que emiten estas micotoxinas a la luz UV, son cumarinas sustituidas, conteniendo anillos de bifurano y configuración tipo lactona, comunes a todas ellas (Figura 2). Las Aflatoxinas purificadas en forma cristalizada son bastante termo-resistentes, estables en un rango de pH entre 3 y 10 y sus puntos de fusión son superiores a los 250 °C [3]. Estas son producidas fundamentalmente por tres especies del género *Aspergillus*: *A. flavus* (productores de Aflatoxinas B₁ y B₂), *A. parasiticus* y *A. nomius*. *A. flavus* (productores de Aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂). 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 [1].

La presencia de un hongo toxicogénico en un alimento no implica necesariamente que llegue a producir micotoxinas y éstas pueden persistir en el sustrato aunque un determinado hongo ya no se encuentre, por cuanto una especie puede generar más de una toxina y el mismo compuesto puede ser producido por más de un género fúngico [1].

El porcentaje de cepas capaces de producir Aflatoxinas no solo dependerá del genotipo de la cepa sino también de toda una serie de factores ambientales que van a ejercer su influencia sobre el crecimiento y metabolismo de la misma, en el caso de *A. flavus*, algunos autores indican que el 40% de los aislamientos son aflatoxígenos, dependiendo de variaciones geográficas y estacionales. En el caso de las especies *A. parasiticus* y *A. nomius* el porcentaje es mucho más elevado, alcanzando hasta el 100 % [1].

La presencia y magnitud de la contaminación por Aflatoxinas varía en función de factores geográficos, estacionales, también de la manera en que se cultiva, recolecta y se almacena un producto agrícola. Los hongos aflatoxígenos pueden infectar los cultivos en crecimiento y producir toxinas antes de la cosecha o bien durante la recolección y posterior almacenamiento. *A. flavus* es ubicua y es la especie más citada sobre los estudios de micobiota de los alimentos. *A. parasiticus* parece tener una distribución geográfica más limitada; ambas especies se aíslan frecuentemente en zonas tropicales y sub tropicales y presentan una afinidad especial por nueces y semillas oleaginosas. Los cultivos de maíz y cacahuates se encuentran habitualmente contaminados por estas especies y también se aíslan en otros cereales y especias. Parece que la incidencia de *A. nomius* y de las restantes especies descritas como productoras de micotoxinas es prácticamente nula [1].

En general, parece que una actividad de agua alta favorece la producción de toxinas, así pues, el valor óptimo para la proliferación de *A. flavus* es de 0,99 el valor máximo es de 0,998 y el mínimo se estima aproximadamente en 0,82 [3].

Se ha notificado que *A. flavus* puede proliferar a temperaturas de 10 a 43°C. La tasa de crecimiento óptima, se produce a una temperatura ligeramente superior a 30°C. *A. flavus* produce Aflatoxinas en el intervalo de temperaturas de 15 a 37°C. No es posible especificar una temperatura óptima para la producción de toxinas pero entre 20 y 30°C, la producción es considerablemente mayor respecto a rangos más altos o más bajos. Los efectos de la actividad del agua y la temperatura sobre el comportamiento de *A. parasiticus* son similares a los previamente descritos para *A. flavus* [3].

La Aflatoxina B₁ es cancerígeno para el hombre (IARC, 1993) y es uno de los agentes causantes de cáncer de hígado más potentes que se conocen, y es la que se presenta en mayor proporción en el contenido de Aflatoxinas totales respecto al resto. En 1974, hubo fallecimientos reportados de personas a causa de intoxicación aguda por Aflatoxinas en la India, coincidiendo con el exceso de humedad por lluvia y con la escasez de alimentos que impulsó el consumo de maíz muy contaminado por hongos [3].

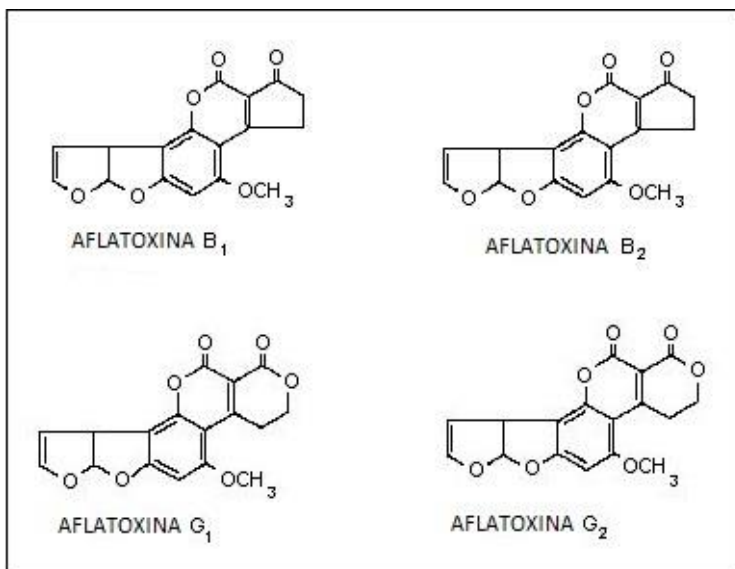


Figura 2. Estructuras químicas de las Aflatoxinas de los grupos B y G [1].

1.3 Ocratoxinas

Las cepas de *Aspergillus Ochraceus* junto con otras especies de *Aspergillus* y *Penicillium* son productoras de Ocratoxinas, siendo el tipo A (Figura 3) la de mayor importancia por sus efectos sobre la salud en humanos y animales, en vista que es un contaminante de los alimentos, en especial los cereales (avena, trigo, sorgo, maíz, trigo, cebada, arroz), la soya y el café verde [4]. Inicialmente se identificó en Sudáfrica en 1965, a partir de cultivos de *Aspergillus ochraceus* aislados de cereales y legumbres, derivando de esta especie el nombre de la micotoxina [4].

A. ochraceus crece más despacio que *A. flavus* y que *A. parasiticus*, pero puede desarrollarse con una actividad de agua de sólo 0,79. Se ha comunicado también el crecimiento a temperaturas de 8 a 37°C, y diversas fuentes han señalado valores óptimos de 25 a 31°C. La producción de Ocratoxina A ocurre a temperaturas entre 15 y 37°C, pero el rango óptimo es entre 25 y 28°C [3].

Se ha relacionado la Ocratoxina A con la Nefropatía Endémica de los Balcanes, una enfermedad renal crónica de alta mortalidad que afecta a los habitantes de algunas regiones de Bulgaria, la ex Yugoslavia y Rumania. La Ocratoxina A ocasiona toxicidad renal (implicada como un agente causal de tumores epiteliales del tracto urinario superior), nefropatía e inmunodepresión en varias especies de animales y es cancerígena en especímenes de experimentación (IARC, 1993) [4,5].

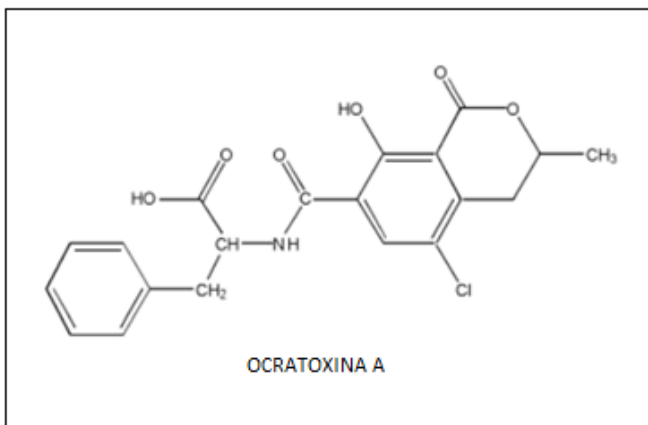


Figura 3. Estructura química de la Ocratoxina A [1].

1.4 Análisis de micotoxinas en alimentos

La importancia del análisis de micotoxinas en alimentos reside en el cumplimiento de las reglamentaciones y en la verificación de los sistemas de control de seguridad alimentaria con el fin de preservar la salud de la población [1].

1.5 Aspectos legislativos de las micotoxinas y normativa vigente

Desde el descubrimiento de las Aflatoxinas, los gobiernos de la mayoría de los países del mundo han fijado los límites máximos aceptables para distintas micotoxinas en los alimentos para humanos y animales de crianza, mediante la promulgación de una reglamentación específica y, por consiguiente, la aparición de una amplia legislación en el ámbito internacional para los niveles máximos permitidos de una misma micotoxina [1,6].

1.5.1 Aflatoxinas totales en los alimentos

En el año de 2003 muchos países reglamentaron a las Aflatoxinas con límites para la suma de Aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂, a veces de manera combinada con un límite específico para la Aflatoxina B₁. El límite que aparece con mayor frecuencia es de 4 µg/kg, aplicado por 29 países (Figura 4). Ese límite se encuentra en los reglamentos armonizados de la Unión Europea (UE), Asociación Europea de Libre Comercio (AELC) y en los países candidatos a incorporarse a la UE, donde están vigentes límites tanto para Aflatoxina B₁ (2 µg/kg) como para las Aflatoxinas totales (4 µg/kg). El otro valor máximo permitido es 20 µg/kg, aplicado por 17 países, nueve de América Latina y ocho de África; también Estados Unidos se rige por el valor de 20 µg/kg [6].

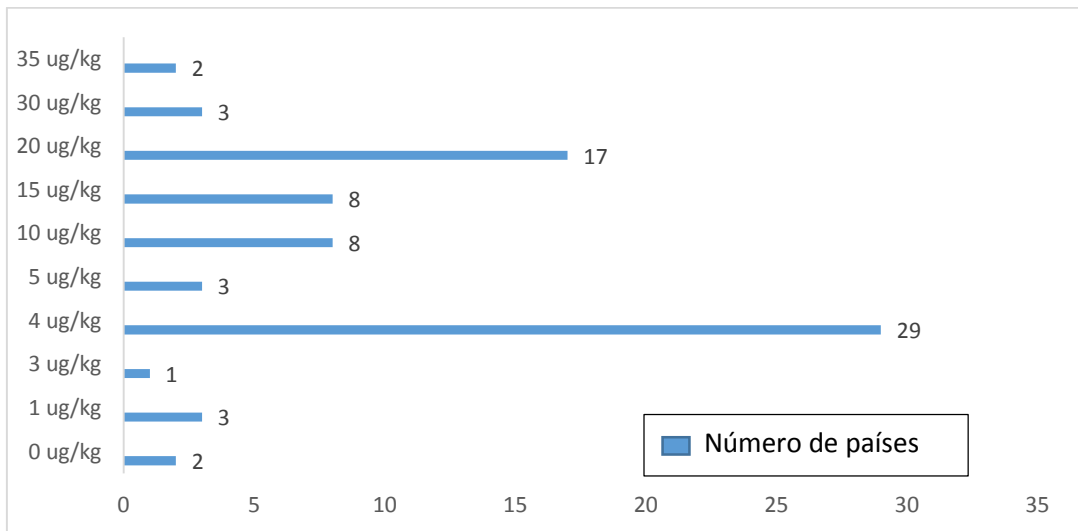


Figura 4. Límites a nivel mundial para Aflatoxinas totales en los alimentos [3].

1.5.2 Ocratoxina A en los alimentos

Actualmente hay 37 países que imponen límites a los alimentos, especialmente a los cereales y sus derivados (Figura 5). Estos productos áridos son considerados como la fuente de exposición principal para los seres humanos a la Ocratoxina A, por eso la UE ha fijado el límite de 5 µg/kg, vigente para los cereales sin procesar [6].

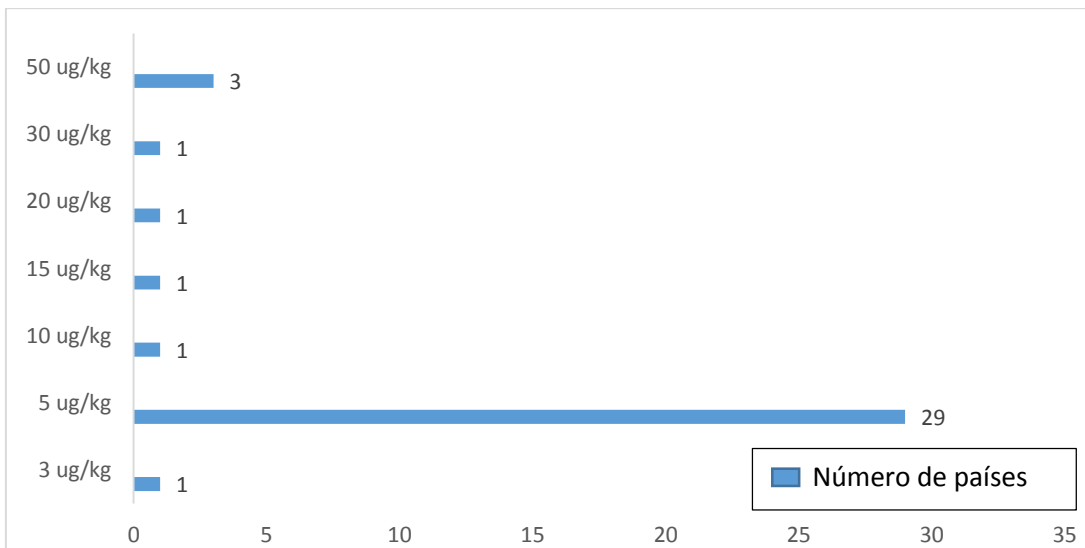


Figura 5. Límites a nivel mundial para Ocratoxina A en los alimentos [3].

1.6 Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, estudios en El Salvador

El tema de micotoxinas no es un tema nuevo en el país, aunque exiguamente estudiado. De los estudios sobre Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz para consumo humano, son relevantes tres, una investigación a nivel nacional que determinó la presencia Aflatoxinas en muestras de maíz, publicada en 1986 [7] y dos más recientes [8, 9]. El principal hallazgo del primer trabajo fue la presencia de Aflatoxina B₁ en el 50% de las muestras de maíz, con niveles desde 0.01 hasta 22 ppb [7]. El segundo otro evidenció una prevalencia del 42.85% de muestras con niveles de Aflatoxinas totales arriba de la norma europea [8]; mientras que en el tercero, se afirma haber encontrado en el maíz analizado Aflatoxinas totales con valores desde no detectables con la técnica empleada hasta las 62.95 ppb; en ese mismo estudio, se hallaron Ocratoxinas totales con niveles que oscilaron desde no detectables hasta las 0.25 ppb [9].

Por consiguiente y considerando que: 1) Hay escasa información disponible en El Salvador sobre eventos y niveles de contaminación por Aflatoxinas y Ocratoxinas en granos de maíz (*Zea mays L.*) destinado mayoritariamente para autoconsumo, 2) La probabilidad que esa contaminación se extienda territorialmente, por cuanto el número de posibles afectados no se limita a quienes cultivan y cosechan el maíz en las localidades de origen, sino a todas las personas que consumen productos alimenticios elaborados con ese cereal, 3) Los efectos hepatotóxicos y nefrotóxicos sobre humanos expuestos a estas micotoxinas, por medio de la ingesta de alimento contaminado durante periodos prolongados, constituyendo así un problema latente de salud pública para el país.

Por consiguiente, la Universidad Doctor Andrés Bello ejecutó esta investigación que pretendió: 1) Cuantificar los niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz almacenado para autoconsumo, 2) Determinar la prevalencia de niveles sobre norma europea de estas micotoxinas, 3) Caracterizar las prácticas y condiciones post cosecha del maíz, asociadas a la aparición de niveles sobre norma europea tanto de Aflatoxinas como de Ocratoxinas totales.

2. MÉTODOS

2.1 Diseño del estudio y muestreo

El presente fue un estudio observacional analítico con un diseño transversal, ajustándose a las características de un tamizado que pretende la detección de casos de contaminación por Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en granos de maíz, utilizando como criterio de selección que fueran agricultores que destinan su producción de maíz mayoritariamente para autoconsumo, indistintamente del género, y la participación voluntaria evidenciada a través de un documento de consentimiento informado en el que constaba el nombre completo, el documento único de identidad y la firma o huella dactilar (Apéndice I).

La fase de muestreo se realizó en el período de julio a octubre de 2014. La muestra se tomó por conveniencia en cuatro localidades agrícolas y su tamaño fue de 128. La composición de la muestra por territorio quedó constituida por el 26.6% para el departamento de San Miguel, el 23.4% para Chalatenango, el 17.2% para La Libertad y el 32.8% para Sonsonate (Tabla 1, Apéndices II, III, IV, V).

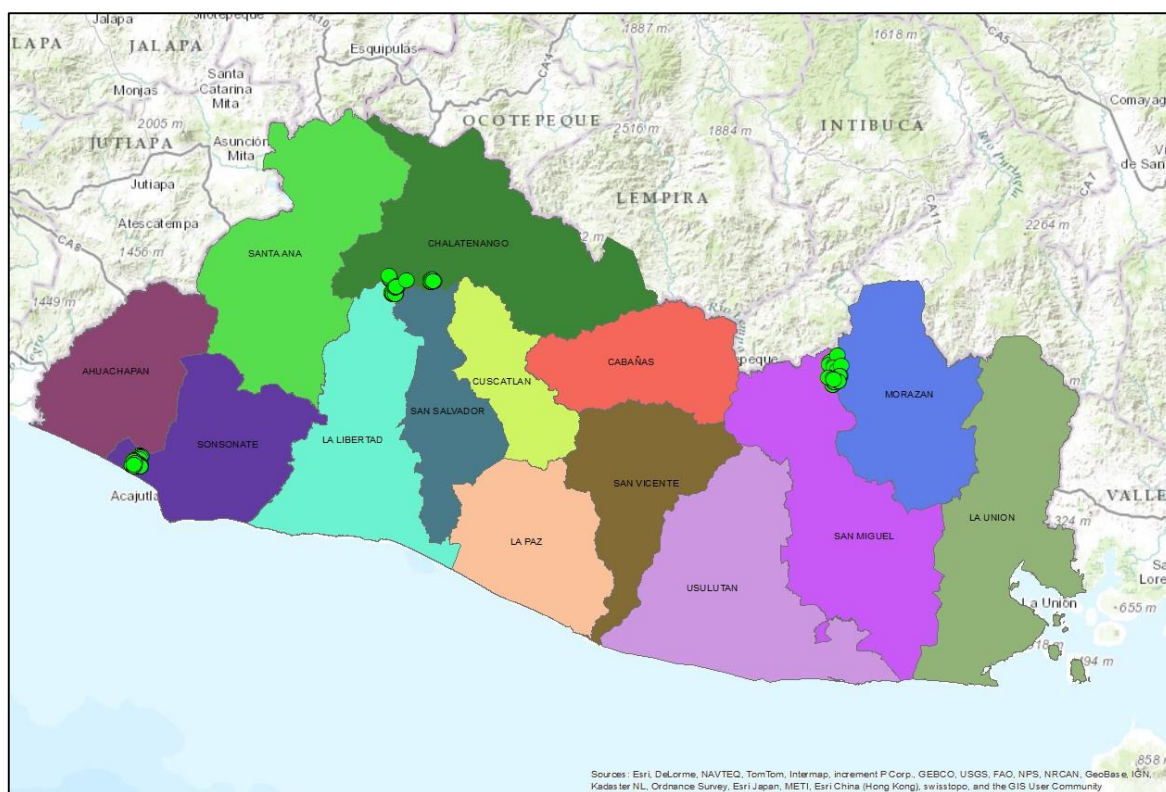


Figura 6. Ubicación geográfica de las localidades agrícolas muestreadas en los municipios de Villa San Antonio (San Miguel), Nueva Concepción (Chalatenango), San Pablo Tacachico (La Libertad) y Acajutla (Sonsonate).

Tabla 1. Composición y origen de las muestras de maíz, obtenidas por conveniencia para la detección de niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales. Julio a octubre de 2014.

Departamento	Municipio	Cantones	Caseríos	No. de muestras
San Miguel	Villa San Antonio	San Diego	San Dieguito	34
		San Marcos	Las Fraguas	
			La Honda	
			Santa Rosa	
			El Talpetate	
			Agua Caliente	
			El Chilamo	
			Las Joyas	
			La Chorrera	
			Cerro Miracapa	
			El Jícaro	
			Zona Urbana	
Chalatenango	Nueva Concepción	Los Chilamates	Las Brisas	30
		Santa Rosa	Las Trancas	
			Tepeagua	
La Libertad	San Pablo Tacachico	Atiocoyo	Colonia Manuel José Arce	22
Sonsonate	Acajutla	Metalío	Buenos Aires	42
			Los Méndez	
			El Jocotal	
			Corozal	
			El Manguito	
			Supervisión	

Los lugares de muestreo fueron elegidos por criterios basados en los resultados de estudios anteriores sobre enfermedad renal, ejecutados en 2009 [10] y 2010 [11], en los cuales se demostró la prevalencia de marcadores de lesiones hepáticas y disfunción renal en personas de ambos sexos, mayores de 30 años, dedicados a actividades agrícolas o domésticas. La probable vinculación se sustenta en las evidencias obtenidas que clasifican a las Aflatoxinas como cancerígeno de origen natural del grupo 1, siendo su órgano diana el hígado en el que incrementa el riesgo de aparición de carcinoma hepatocelular [12]; mientras que la exposición excesiva a la Ocratoxina A, parece promover el desarrollo de la Nefropatía Endémica de los Balcanes [4].

2.2 Colecta de datos e instrumentos

La información se recabó a través de entrevista a los productores de granos básicos realizada por personal del equipo de investigación, previa y debidamente capacitado. Cada entrevistador participó en varias sesiones prácticas evaluadas que permitieron confirmar la exactitud en la transcripción de las respuestas, así como la comparación y ajuste para asegurar la concordancia entre los entrevistadores.

Se utilizó una guía de entrevista para coleccionar información, estructurada en seis secciones (Apéndice VI) y que fue validada por medio de una prueba piloto realizada en 12 personas mayores de 18 años, de ambos géneros y que vivían en zonas rurales al momento de la prueba.

La sección primera contempló los datos generales del agricultor, la sección segunda registró datos agrícolas respecto al acceso a asistencia técnica post cosecha, variedad de maíz cultivada, la superficie de siembra, tipos de suelo [13], el rendimiento obtenido y la localización del lugar de cultivo. La sección tercera indagó sobre los usos del maíz cosechado, cantidad y porcentaje destinado para consumo humano, animal y venta. La sección cuarta reveló datos de interés respecto a la cosecha; tiempo para la recolección de las mazorcas después de la dobla, método para el desgranado (manual o mecanizado). La sección quinta exploró el manejo post cosecha del grano destinado para autoconsumo: preparación de los granos previo al almacenaje (tipo y tiempo de secado), método para la estimación de la temperatura (sonido, adición de sal seca o molido), limpieza pre almacenaje de granos y de silo, selección de granos con eliminación de aquellos que presentan síntomas de ataques por insectos o de microorganismos o que se encuentren fracturados, medios de almacenamiento (sacos, barriles plásticos o metálicos, silo metálico, cajones de madera) y si esos medios se encontraban sobre tarimas alejadas del sol o si se almacenan las mazorcas directamente sobre el piso [14]. La sección sexta es de uso exclusivo para datos de laboratorio, donde se detalla la Sede Regional más próxima a la localidad muestreada, código de identificación de la muestra, temperatura de almacenamiento, porcentaje de humedad relativa, fecha de recolección, de análisis y del reporte, resultados de análisis de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, observaciones relevantes del análisis y, finalmente, el sello de los analistas.

2.3 Recolección de muestras

La recolección de muestras se llevó a cabo en el mes de julio en fechas diferentes en cada localidad según programación y estuvo a cargo del personal del Laboratorio de investigación.

2.3.1 Programa de trabajo

2.3.1.1 Tipos de muestras

Se recolectaron muestras de un kilogramo de granos de maíz (*Zea mays L.*), almacenado y destinado para autoconsumo de los productores y su núcleo familiar. Las muestras fueron tomadas con un calador sonda o con un cucharón metálico del contenedor donde se almacenaba el maíz, según procedimiento para toma de muestra [15,16].

2.3.1.2 Fechas de muestreo

Se realizaron reuniones con representantes y agricultores de las localidades, acordando que las muestras a recolectar serían producto de la cosecha postrera, debido a que esta es la más importante en El Salvador debido a que es la de mayor rendimiento en la producción de granos, respecto a la Primera y a la denominada como Tunalmil. Se especificó también que el propietario del maíz almacenado debía estar presente para la firma del consentimiento informado, ser entrevistado durante la toma de muestra y brindar toda la información adicional requerida por el equipo de investigadores.

2.3.1.3 Diagrama de flujo del proceso de muestreo

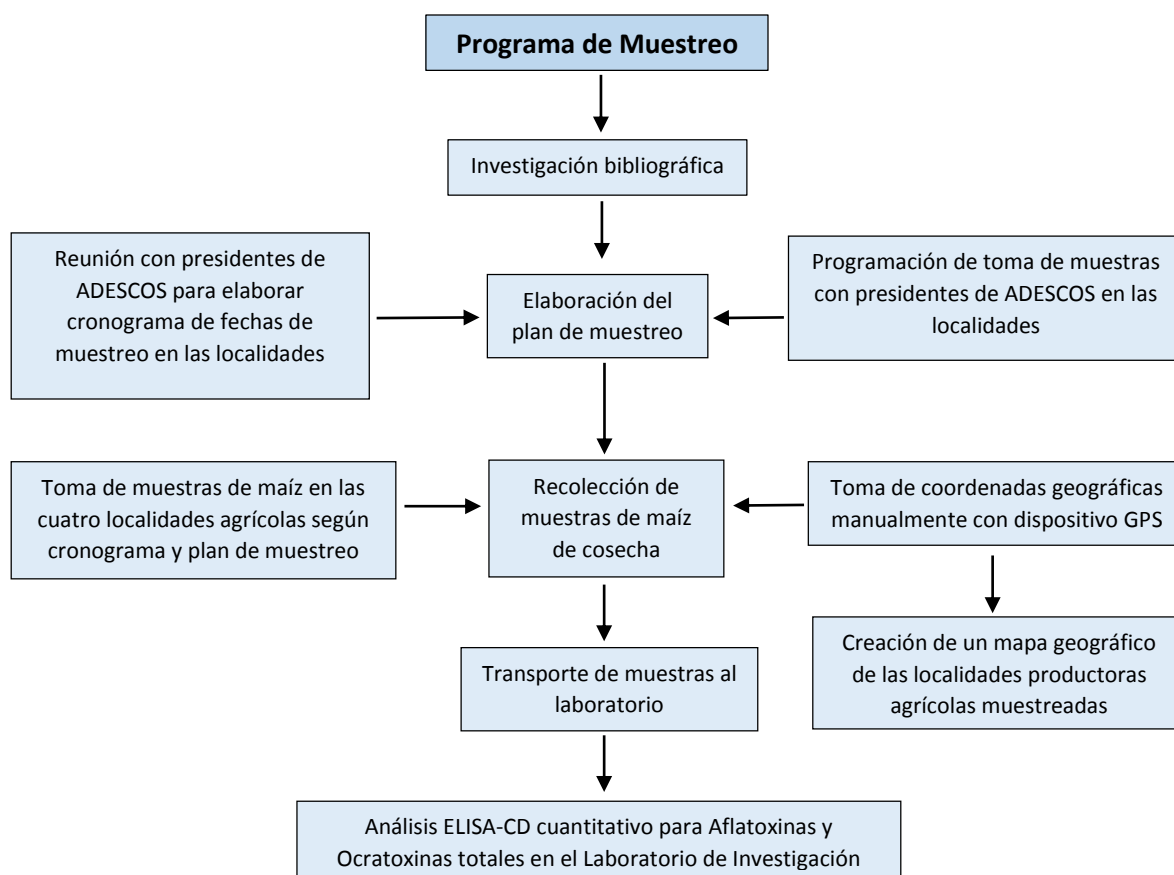


Figura 7. Flujo de actividades del proceso de muestreo incluyendo análisis ELISA-CD para Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en muestras de maíz, ejecutado entre julio y octubre de 2014.

2.3.1.4 Descripción del sitio y la muestra

Cada muestra recolectada contó con la siguiente información: fecha y hora de colección de la muestra, coordenadas del sitio (latitud, longitud, altura), descripción de la localización referente a las señales visuales, fotografías de las muestras y de los puntos de muestreo,

descripción física de la muestra, dispositivo de muestreo utilizado, indicación de colección de duplicado, nombre del responsable de toma de la muestra y código (Apéndice VII) [15].

2.3.1.5 Toma de muestras

Las muestras de maíz se recolectaron de: silos metálicos, barriles plásticos o metálicos, así como de sacos conforme a la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002 para el Control de Micotoxinas en Cereales para Consumo Humano, utilizando equipos especializados para la toma de muestras, mediciones de condiciones ambientales, materiales de embalaje y etiquetado [15,16].

Para la toma de cada una de las muestras se siguieron estos pasos: observación del contenedor y anotación de las características en el instrumento, entrevista al agricultor propietario del maíz según la guía respectiva (Apéndice VI), apertura del contenedor y extracción de un kilogramo de granos de maíz con el calador sonda o cucharón metálico, vaciado de la muestra en una bolsa de papel kraft y pesaje en una báscula análoga, toma de punto de georreferencia con dispositivo GPS y su registro en formulario del Apéndice VII [15].

2.4 Análisis de laboratorio

2.4.1 Recepción de muestras

Tras su recepción, las muestras se almacenaron por lugar de procedencia, en cuatro secciones, ingresándose a la base de datos respectiva.

2.4.2 Análisis de composición esencial y factores de calidad según Norma Técnica Salvadoreña NTS CODEX STAN 153:1985

Previo a la preparación de las muestras para los análisis de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, se realizó un análisis de los granos que consideró los siguientes aspectos: presencia de olores extraños, insectos vivos, suciedad, materias orgánicas extrañas, materias inorgánicas extrañas y granos defectuosos (Apéndice VIII) [17].

2.4.3 Preparación de la muestra y obtención de extractos

Cada muestra fue sometida a operaciones técnicas unitarias para la obtención de los extractos de cada una de las muestras, previo a la marcha analítica de Inmunoensayo Enzimático Competitivo Directo (ELISA-CD) para Aflatoxinas y Ocratoxinas totales:

- a) Molienda, se trituro completamente la muestra (1 kg), primeramente en un molino de discos manual y luego en uno de cuchillas para la obtención del tamaño de partícula deseado (similar al de café instantáneo), almacenándose en una bolsa de papel Kraft.

- b) Cuarteo, con el objetivo de reducir el tamaño de muestra hasta la cantidad requerida por el método de análisis ELISA-CD, especificada en 5 g para Aflatoxinas totales y en 10 g para Ocratoxinas totales, primero se colocó el contenido de la bolsa (muestra) sobre papel glaseado o una superficie lisa con asepsia previa, luego se forma un cono para después dividirlo en cuatro porciones iguales con una espátula de acero inoxidable de 30 centímetros, descartándose dos de las porciones diagonales, y formar nuevamente el cono; el paso anterior se repite hasta obtener una muestra de aproximadamente de 50 g.
- c) Pesado, la cuantificación de la masa se hizo con una balanza semi analítica digital, separando las cantidades de muestra, dependiendo de lo requerido por el análisis de cada micotoxina.
- d) Extracción, en un frasco de polietileno terftalato color ámbar, con tapa de rosca, se colocó la muestra de maíz agregándose la mezcla de metanol-agua en proporciones 70:30 para Aflatoxinas totales y 50:50 para Ocratoxinas totales, agitándose vigorosamente por tiempos de 3 y 5 minutos, respectivamente.
- e) Filtrado, cada extracto se filtró por gravedad, utilizando papel Whatman No. 1.

2.4.4 Técnica de Inmunoensayo Enzimático Competitivo Directo (ELISA-CD)

Las muestras fueron analizadas cuantitativamente con kits Veratox® para Aflatoxinas y Ocratoxinas totales de NEOGEN Corporation, distribuidos por AgroBiotek El Salvador, en el Laboratorio de Investigación de la Universidad Doctor Andrés Bello.

2.4.4.1 Aflatoxinas totales, principios analíticos

Veratox® es un kit para Aflatoxinas, basado en enzimo-inmuno-análisis por adsorción (ELISA) de tipo directo competitivo, que permite obtener concentraciones exactas expresadas en millonésimas de gramo o partes por billón (ppb). En el análisis, se permite que la Aflatoxina libre presente en muestras y controles, compita con la Aflatoxina enzimomarcada o conjugado por los sitios de adsorción de los anticuerpos en los pocillos del kit. Tras un lavado con el equipo Mindray MW-12A, se agrega un sustrato que reacciona con el conjugado adsorbido para producir una coloración azul; entre más intenso sea el color azul, menor será el contenido de Aflatoxinas. Las muestras se leen con un equipo lector de micropozos Mindray MR-96A a 650 nm para obtener densidades ópticas, que son procesadas mediante el Neogen Veratox Software v 3.0.1, para la obtención de la concentración de Aflatoxinas totales en ppb; estos valores se almacenan electrónicamente y se reproducen como impresiones (Apéndice IX) [18].

2.4.4.2 Ocratoxinas totales, principios analíticos

Veratox® es un kit para Ocratoxinas, que opera mediante ensayo inmunoenzimático competitivo directo (CD-ELISA) y que permite obtener concentraciones exactas en milmillonésimas de gramo o ppb. En el análisis, se permite que la Ocratoxina libre presente en las muestras y controles, compita con la Ocratoxina etiquetada con enzimas (conjugado) por los puntos de unión de anticuerpos que se encuentran en los pocillos del kit. Después del lavado con el equipo Mindray MW-12A, se agrega el sustrato que reacciona con el conjugado de unión para producir una coloración azul; entre más acentuado es el color azul, menor será el contenido de Ocratoxinas totales. Las muestras se leen con un equipo lector de micropozos Mindray MR-96A a 650 nm para producir densidades ópticas. Esos valores se procesan mediante el Neogen Veratox Software v 3.0.1, para la obtención de resultados en ppb, que también son almacenados electrónicamente y reproducidos de forma impresa (Apéndice IX) [18].

2.5 Clasificación de casos y controles

Para efectos de comparación se consideraron como casos tanto a las muestras detectadas con niveles de Aflatoxinas totales mayores de 4 ppb, o con contenidos de Ocratoxinas totales mayores a 5 ppb. Las muestras que presentaron valores iguales o inferiores a los límites máximos permitidos para Aflatoxinas (≤ 4 ppb) y Ocratoxinas totales (≤ 5 ppb), según la normativa europea, se clasificaron como controles [6].

Quince indicadores fueron contrastados estadísticamente para determinar si cualquiera de estas variables está asociadas significativamente a niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales que supera los límites máximos permitidos por la normativa europea. Los indicadores previamente mencionados son: el tiempo de recolección de mazorcas después de la dobla, el modo, superficie y tiempo de secado, la estimación de la humedad de los granos, el desgranado, la limpieza previa, el medio y la temperatura de almacenamiento, la altitud del sitio de muestreo, la presencia de insectos vivos en las muestras, granos defectuosos y porcentaje de granos infestados, la suciedad y olores extraños en las muestras.

2.6 Análisis de datos

Los niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, así como la producción de grano destinada para autoconsumo, alimentación animal y venta, son valores medianos. La superficie cultivada y el rendimiento total, se expresan como promedios con sus respectivos errores estándar. El resto de variables demográficas y aquellas relacionadas con las prácticas de preparación y almacenamiento del grano de maíz, se presentan como porcentajes.

La razón de ventajas o de productos cruzados (RV) fue utilizada para determinar la asociación y nivel de significancia entre determinadas prácticas de cosecha, manejo post cosecha, composición esencial y factores de calidad de los granos de maíz, con los niveles

detectados de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales arriba de la norma europea, pues son considerados como factores potenciales de riesgo a contaminación. Los análisis estadísticos para determinar esa asociación se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics versión 22.

Para la estimación del valor predictivo de cada una de las variables anteriormente mencionadas y consideradas como posibles promotoras de niveles de Aflatoxinas totales sobre el límite establecido por la normativa europea, se generó un modelo basado en ecuaciones estructurales, empleando el programa IBM SPSS AMOS versión 22. La modelación está basada en el análisis multivariante de datos, que tiene mayor precisión que la regresión múltiple [19]. En todos los análisis se tomó a $p < 0.05$ como nivel de significación estadística.

3. RESULTADOS

3.1 Características de la población participante del tamizado por localidad agrícola

3.1.1 San Miguel

La totalidad de los agricultores participantes en el tamizado del municipio de San Antonio (San Miguel) son hombres, la edad mediana del grupo es de 49 años y menos del 50% tiene algún nivel educativo (Tabla 3).

Estos productores cultivan el maíz en una superficie promedio de una manzana, con una producción promedio de 20 quintales por cosecha, destinada mayoritariamente al consumo humano (90%) y una fracción minoritaria para alimentación animal (5%). La mayor parte de estos cultivadores son receptores del paquete agrícola (>75%), aunque menos del 10% son beneficiarios del Programa de Agricultura Familiar (PAF) y por debajo del 3% recibe asistencia técnica para manejo post cosecha del maíz (Tabla 3).

Consistente con la dependencia del paquete agrícola, poco más del 70% de productores utilizan semilla certificada de maíz Pioneer DuPont® o CENTA H59 y menos del 6% recurre a la variedad resistente a la sequía CENTA Pasaquina. Es destacable que poco más del 20% utilice semilla de variedades criollas de maíz (Tabla 3).

3.1.2 Chalatenango

La mayoría de los informantes de Nueva Concepción (Chalatenango) son hombres (86.7%), con una mediana de 52 años de edad y que han alcanzado algún nivel educativo (73.4%, Tabla 3).

La superficie media destinada al cultivo de maíz es de dos manzanas, logrando una producción promedio de 109 quintales por cosecha; ésta se destina principalmente para consumo humano (60%) y el resto para venta (30%). La mayoría de productores es beneficiado con el paquete agrícola (80%) y el 20% es receptor de asistencia técnica para manejo post cosecha del maíz (Tabla 3).

Considerando la dependencia del paquete agrícola por los agricultores entrevistados, la totalidad recurre a la semilla certificada de maíz CENTA H59 o Pioneer DuPont® (Tabla 3).

3.1.3 La Libertad

La totalidad de los agricultores entrevistados en el municipio de San Pablo Tacachico (La Libertad) son hombres, la edad mediana del grupo es de 49 años y solo el 54.5% de informantes tiene algún nivel educativo (Tabla 3).

Estos productores cultivan el maíz en una superficie promedio de una manzana, logrando una producción promedio de 36 quintales por cosecha, que destinan principalmente para la venta (72.5%) y, en menor medida, al consumo humano (27.5%). Similar a los productores

de las localidades anteriores, la mayoría reciben el paquete agrícola (>68%) y menos del 5% se beneficia con asistencia técnica para el manejo post cosecha del maíz (Tabla 3).

Todos los agricultores entrevistados de Atiocoyo, utilizan semilla certificada de maíz CENTA H59 o DEKALB Monsanto®, coincidiendo con la dependencia del paquete agrícola (Tabla 3).

3.1.4 Sonsonate

La mayoría de los informantes de Metalío (Sonsonate) son hombres (85.7%), con una mediana de 47 años de edad pero mayor educación formal que el resto de agricultores participantes, puesto que el 78.6% tienen los niveles Básico y Medio (Tabla 3).

La superficie media destinada al cultivo de maíz es de una manzana, logrando una producción promedio de 38 quintales por cosecha; ésta se destina principalmente para consumo humano (90%) y solo el 5% para venta. La mayoría de productores es beneficiado con el paquete agrícola (71%) y ninguno de éstos recibe de asistencia técnica para manejo post cosecha del maíz (Tabla 3).

La mayor parte de los agricultores entrevistados de Metalío (>95%), recurre al uso de semilla certificada de maíz CENTA H59 o Pioneer DuPont ® y menos del 5% utiliza semilla de variedades criollas de maíz (Tabla 3).

Tabla 2. Características demográficas y agrícolas de la muestra por conveniencia de cada localidad agrícola.

Características	Villa San Antonio (cantones San Diego y San Marcos) n = 34	Nueva Concepción (cantón Santa Rosa y ACPA ¹ Los Chilamates) n = 30	San Pablo Tacachico (cantón Atiococho) n = 22	Acajutla (cantón Metalío) n = 42
Informante masculino (%)	34 (100.0)	26 (86.7)	22 (100.0)	36 (85.7)
Informante femenino (%)	0 (0.0)	4 (13.3)	0 (0.0)	6 (14.3)
Edad mediana (percentil 75)	49 (60)	52 (60)	49 (57.75)	47.5 (60.75)
Escolaridad (%)				
Ninguna	18 (52.9)	8 (26.7)	10 (45.5)	9 (21.4)
Básica 1° Ciclo	12 (35.3)	8 (26.7)	6 (27.3)	7 (16.7)
Básica 2° Ciclo	2 (5.9)	8 (26.7)	3 (13.6)	15 (35.7)
Básica 3° Ciclo	2 (5.9)	4 (13.3)	2 (9.1)	10 (23.8)
Media	0 (0.0)	2 (6.7)	1 (4.5)	1 (2.4)
Datos agrícolas generales				
Superficie cultivada promedio mz. ² (Error Estándar de la Media:EEM).	1.074 (0.0672)	2.557 (1.2321)	1.080 (0.1797)	1.110 (0.1396)
Producción promedio (qq) ³ (EEM).	20.15 (2.434)	109.80 (37.367)	36.36 (6.589)	38.00 (3.872)
Producción mediana para autoconsumo humano	90%	60%	27.5%	90%
Producción mediana para animales	5%	0%	0%	0%
Producción mediana para venta.	0%	30%	72.5%	5%
Beneficiario paquete agrícola (%)	27 (79.4)	24 (80.0)	15 (68.2)	30 (71.4)
Beneficiario del PAF (%)	3 (8.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Beneficiario asistencia técnica post cosecha (%)	1 (2.9)	6 (20.0)	1 (4.5)	0 (0.0)
Datos agrícolas: variedad del cultivar				
CENTA H-59 (%)	9 (26.5)	27 (90.0)	18 (81.8)	34 (80.9)
PIONEER DuPont® (%)	15 (44.1)	3 (10.0)	0 (0.0)	6 (14.3)
DEKALB Monsanto® (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (18.2)	0 (0.0)
CENTA Pasaquina (%)	2 (5.9)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Criollo (%)	7 (20.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (4.8)

¹ ACPA: Asociación Cooperativa de producción Agropecuaria "Hacienda Los Chilamates".

² mz: Manzana (6,989 m²)

³ qq: Quintal (100 libras o 45.37 kg)

Tabla 3. Prácticas de preparación y almacenamiento del grano de maíz, por cada localidad agrícola muestreada.

Características	Villa San Antonio (cantones San Diego y San Marcos) n = 34	Nueva Concepción (cantón Santa Rosa y ACPA Los Chilamates) n = 30	San Pablo Tacachico (cantón Atiococho) n = 22	Acajutla (cantón Metalío) n = 42
Recolección mazorcas < 2 meses post dobla (%)	8 (23.5)	2 (6.7)	2 (9.1)	20 (47.6)
Recolección mazorcas ≥ 2 meses post dobla (%)	26 (76.5)	28 (93.3)	20 (90.9)	22 (52.4)
Desgranado a máquina (%)	3 (8.8)	30 (100.0)	21 (95.5)	38 (90.5)
Desgranado manual (%)	31 (91.2)	0 (0.0)	1 (4.5)	4 (9.5)
Secado en troje (%)	3 (8.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Secado directo al sol (%)	31 (91.2)	18 (100.0)	21 (100.0)	40 (100.0)
Secado sobre piso de cemento (%)	7 (20.0)	16 (53.3)	3 (15.0)	23 (53.5)
Secado sobre plástico laminar (%)	18 (51.4)	2 (6.7)	9 (45.0)	18 (41.9)
Secado en la planta doblada (%)	10 (28.6)	12 (40.0)	8 (40.0)	2 (4.6)
Tiempo de secado: 1 día (%)	0 (0.0)	12 (70.6)	6 (37.5)	13 (32.5)
3 días (%)	13 (50.0)	5 (29.4)	7 (43.8)	27 (67.5)
≥1 semana (%)	13 (50.0)	0 (0.0)	3 (18.2)	0 (0.0)
Estimación humedad grano: sonido (%)	33 (97.1)	22 (56.4)	19 (86.4)	40 (93.0)
Sal seca y molido (%)	0 (0.0)	9 (23.1)	1 (4.5)	2 (4.7)
Ninguna (%)	1 (2.9)	8 (20.5)	2 (9.1)	1 (2.3)
Limpieza pre almacenaje completa (%)	30 (93.8)	18 (60.0)	12 (75.0)	40 (95.2)
Limpieza pre almacenaje incompleta (%)	2 (6.2)	12 (40.0)	4 (25.0)	2 (4.8)
Medio almacenaje: sacos (%)	4 (11.4)	3 (9.1)	1 (4.2)	3 (6.2)
Barriles (%)	4 (11.4)	1 (3.0)	8 (33.3)	6 (12.5)
Silos o graneros (%)	25 (71.4)	29 (87.9)	15 (62.5)	39 (81.3)
Trojes o depósitos de madera (%)	2 (5.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Composición esencial y factores de calidad en los granos				
Olores extraños en la muestra (%)	4 (11.8)	2 (6.7)	1 (4.5)	2 (4.8)
Insectos vivos en la muestra (%)	10 (29.4)	10 (33.3)	11 (50.0)	18 (42.9)
Suciedad en la muestra (%)	0 (0.0)	2 (6.7)	0 (0.0)	2 (4.8)
Materia orgánica extraña en muestra (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Materia inorgánica extraña en muestra (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
Granos defectuosos (%)	3 (8.8)	2 (6.7)	3 (13.6)	1 (2.4)

3.2 Características de las prácticas de preparación y almacenamiento del grano de maíz, por cada localidad agrícola muestreada

3.2.1 San Miguel

En el municipio de Villa San Antonio, la mayoría de agricultores (>75%) deja doblado el maíz dos meses o más y el resto (<24%) lo deja por un tiempo menor previo a la tapisca (Tabla 4).

Entre los agricultores de esta localidad, el desgranado se hace mayoritariamente de forma manual (>90%) y una minoría lo realiza a máquina (8.8 %); también es predominante hacer el secado directamente al sol (>90%), realizándolo principalmente sobre plásticos laminares negros o toldos (>50%) o en patios con piso de cemento (20%). No hay un período predominante de secado del grano, la mitad de los productores lo deja durante una semana o más, mientras que la otra utiliza tres días o menos. La mayor parte de agricultores estima la humedad del grano previo a su almacenamiento a través de sonido (>95%, Tabla 4).

Se considera como limpieza completa pre almacenaje a la que incluye el grano y el contenedor, y como incompleta a la aplicada a uno u otro pero no a ambos. La mayor proporción de los agricultores entrevistados realiza limpieza completa pre almacenaje (>93%), en tanto que menos del 7% lo hace de forma incompleta (Tabla 4).

Para el almacenaje del grano, la mayoría de productores utiliza silos metálicos o graneros (>70%), barriles plásticos o metálicos (11%) y sacos (11%). En San Antonio fue la única localidad muestreada en la que todavía se almacena en trojes (<6%, Tabla 4).

De todas las muestras sometidas al análisis de granos, menos del 12% presentaron olores extraños y cerca del 30% contenían insectos vivos. Una fracción inferior al 9% de los granos se consideraron defectuosos sea por daños mecánicos o causados por insectos o sus larvas, por estar descoloridos, manchados o germinados (Tabla 4).

3.2.2 Chalatenango

En el municipio de Nueva Concepción, la mayoría de agricultores (>93%) deja doblado el maíz dos meses o más y el resto (<7%) lo deja por un tiempo menor previo a la recolección (Tabla 4).

La totalidad de agricultores de esta localidad hace el desgranado con máquina y seca directamente al sol, sobre patios con piso de cemento (53.3%) o sobre plásticos laminares negros (6.7%). El período predominante de secado del grano es de un día (70.6%) y menos recurrente el de tres días (29.4%). La mayor parte de agricultores estima la humedad del grano, previo almacenamiento, por medio del sonido (56.4%), aunque lo hacen también por adición de sal seca y molido (23.1%, Tabla 4).

La mayoría de los agricultores entrevistados hace limpieza completa pre almacenaje (60%), mientras que el resto la realizan de forma incompleta. El principal medio de almacenamiento

utilizado es el silo metálico (87.9%), aunque se utilizan también sacos (9.1%) y barriles plásticos o metálicos (3%, Tabla 4).

Del total de muestras sometidas al análisis de granos, menos del 7% presentaron olores extraños y el 33% contenía insectos vivos. Aproximadamente el 7% de las muestras de granos presentaron suciedad y otra proporción similar se clasificó como defectuosa (Tabla 4).

3.2.3 La Libertad

Similar a las localidades anteriores, la mayoría de agricultores informantes del cantón Atiocoyo (>90%) deja doblado el maíz dos meses o más antes de la recolecta, en tanto el resto (9%) lo deja por un tiempo menor (Tabla 4).

El desgranado mecanizado es predominante entre los agricultores de este cantón (95.5%) y una minoría lo realiza de forma manual (4.5%), al igual que el secado directo al sol (100%). Este último procedimiento se hace sobre plásticos negros (45%) o en patios con piso de cemento (15%). Predominan tanto el periodo de tres o menos días para el secado del grano (81.3%), como las prácticas de estimar la humedad del grano a través del sonido (86.4%) y realizar la limpieza completa del grano y del depósito de almacenamiento (75%, Tabla 4). Por otra parte, prevalece en productores la utilización de silos metálicos (62.5%) y de barriles (33.3%) como depósitos del grano (Tabla 4).

Resultante del análisis de muestras recolectadas en Atiocoyo, la mitad presentó insectos vivos, cerca del 14% de las alícuotas tenían granos defectuosos y en menos del 5% se percibieron olores extraños (Tabla 4).

3.2.4 Sonsonate

En el cantón Metalío del municipio de Acajutla, no hay un período entre la dobla del maíz y la tapisca que predomine claramente, puesto que una mitad de los productores recolecta después de dos meses y la otra lo hace antes de ese límite de tiempo (Tabla 4).

Prevalecen las prácticas de desgranar a máquina (90.5%), de secar directamente al sol (100%) y de hacerlo en patios con piso de cemento (53.5%) o sobre plásticos laminares negros (41.9%). Otras prácticas predominantes son el secado del grano durante tres días o menos (100%), la estimación de su humedad por medio del sonido (93%) y de realizar una limpieza completa previa al almacenamiento (95.2%). Los silos metálicos (81.3%) y los barriles (12.5%) son los depósitos para guardar el grano de mayor uso (Tabla 4).

De todas las muestras sometidas al análisis de granos, aproximadamente el 43% presentaron insectos vivos y casi en el 5% se percibieron olores extraños. Una fracción inferior al 2.5% de los granos se clasificaron como defectuosos (Tabla 4).

3.3 Niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, determinados en cada localidad agrícola muestreada

En los dos cantones de Villa San Antonio, San Miguel, nueve de 34 muestras de maíz presentan cantidades que sobrepasan el límite de 4 ppb para Aflatoxinas totales. El valor mediano para esas muestras es de 6.3 ppb, alcanzando un máximo de 66.9 ppb. Las 25 muestras restantes presentan un valor mediano de 0.3 ppb. Para 7 Ocratoxinas totales, los niveles de todas las muestras se encuentran bajo el límite de 5 ppb, con un nivel mediano de 0.35 ppb (Figura 8).

Dos de las 30 muestras recolectadas en Nueva Concepción (Chalatenango) y que sobrepasan el límite permitido para Aflatoxinas totales, tienen un contenido mediano de 60.15 ppb, con un valor máximo de 114 ppb. Las 28 muestras con niveles inferiores al valor límite, presentan un contenido mediano de 1.05 ppb (Figura 9).

Los niveles de Ocratoxinas totales en las 34 muestras de Nueva Concepción, se encuentran bajo los límites permitidos respecto a la normativa europea, con un valor mediano de 0.5 ppb (Figura 9).

En el cantón Atiocoyo, La Libertad, las seis muestras que resultaron con niveles iguales o superiores al límite máximo permitido, tienen una mediana de 4.75 ppb; mientras que las 16 alícuotas restantes, con contenidos por debajo del valor límite, presentan una mediana de 0.7 ppb (Figura 10).

Atiocoyo es la localidad que presentó el único caso de contaminación probable por Ocratoxinas totales, con un nivel de 17.2 ppb, superando el límite máximo permitido de la normativa europea. Las 21 muestras restantes están por debajo de ese límite y tienen un nivel mediano de 1.2 ppb (Figura 10).

Nueve muestras de las 42 recolectadas en el cantón Metalío presentan niveles que superan el límite máximo permitido de la norma europea y tienen un contenido mediano de 6.5 ppb (Figura 11); las concentraciones de las 33 alícuotas remanentes están por debajo del valor límite, con una mediana de 0.5 ppb.

Los contenidos de Ocratoxinas totales en las 42 muestras obtenidas en la misma localidad, se encuentran bajo los límites permitidos respecto a la normativa europea, con un valor máximo de 3.9 ppb y una mediana de 0.0 ppb (Figura 11).

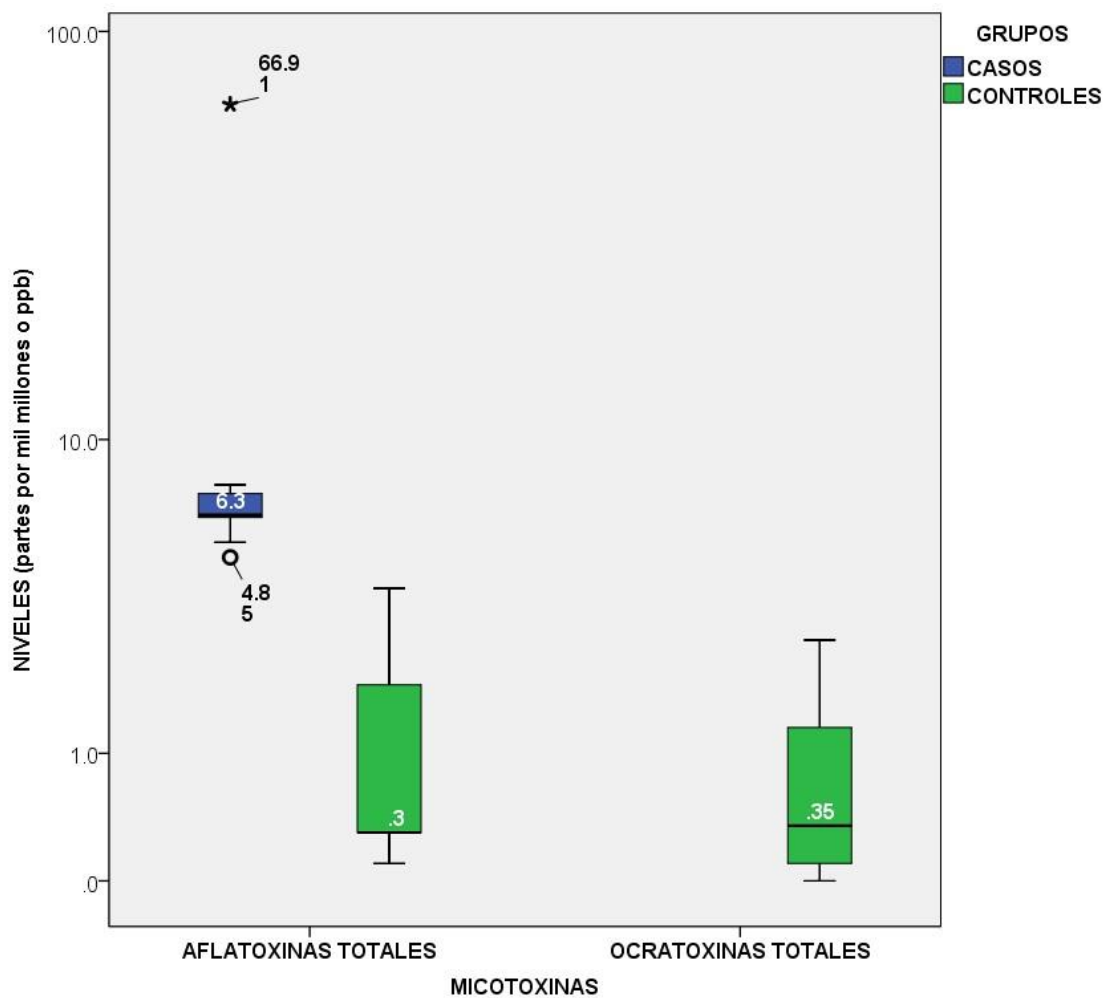


Figura 8. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ochratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en los cantones San Marcos y San Diego, Villa San Antonio, San Miguel. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ochratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.

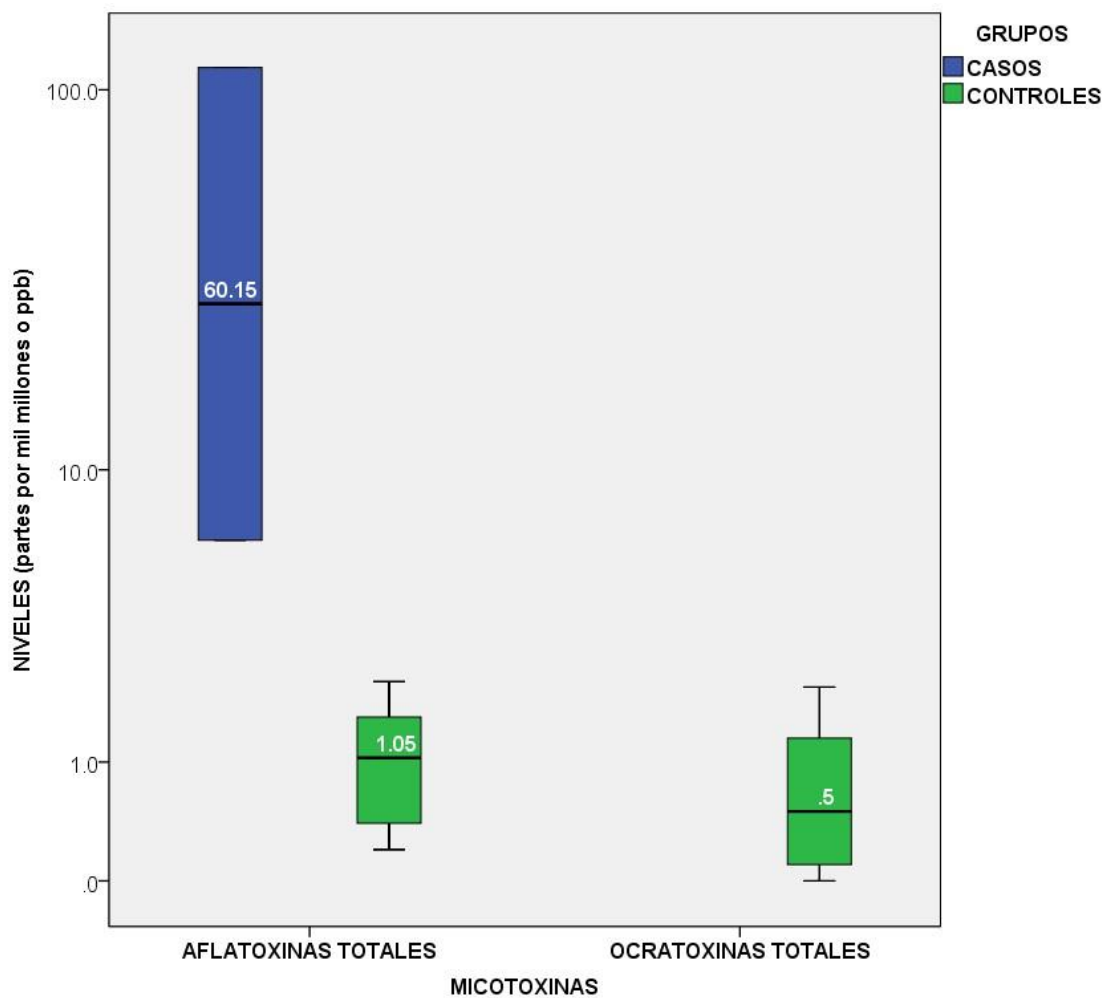


Figura 9. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ochratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en los cantones Santa Rosa y Los Chilamates, Nueva Concepción, Chalatenango. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ochratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.

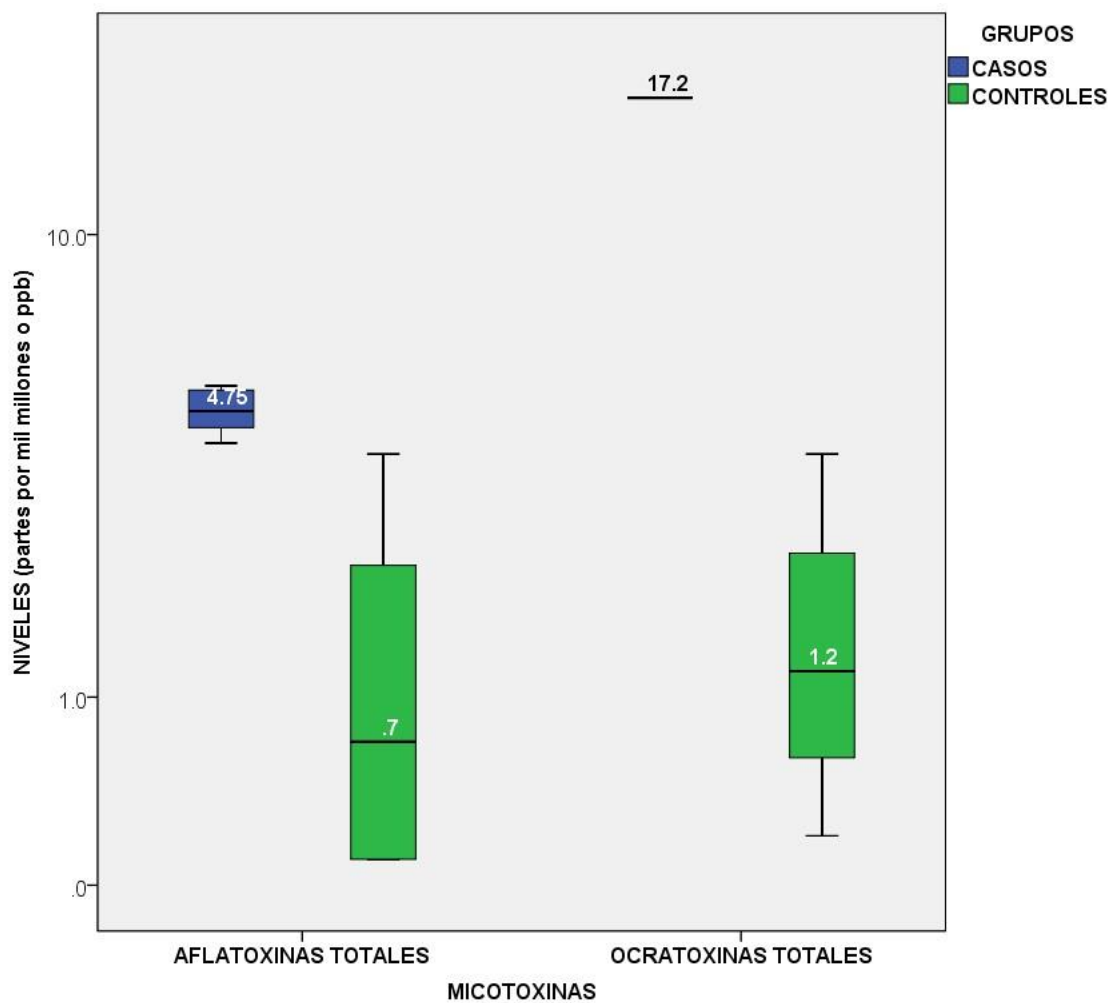


Figura 10. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ochratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en el cantón Atiocoyo, San Pablo Tacachico, La Libertad. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ochratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.

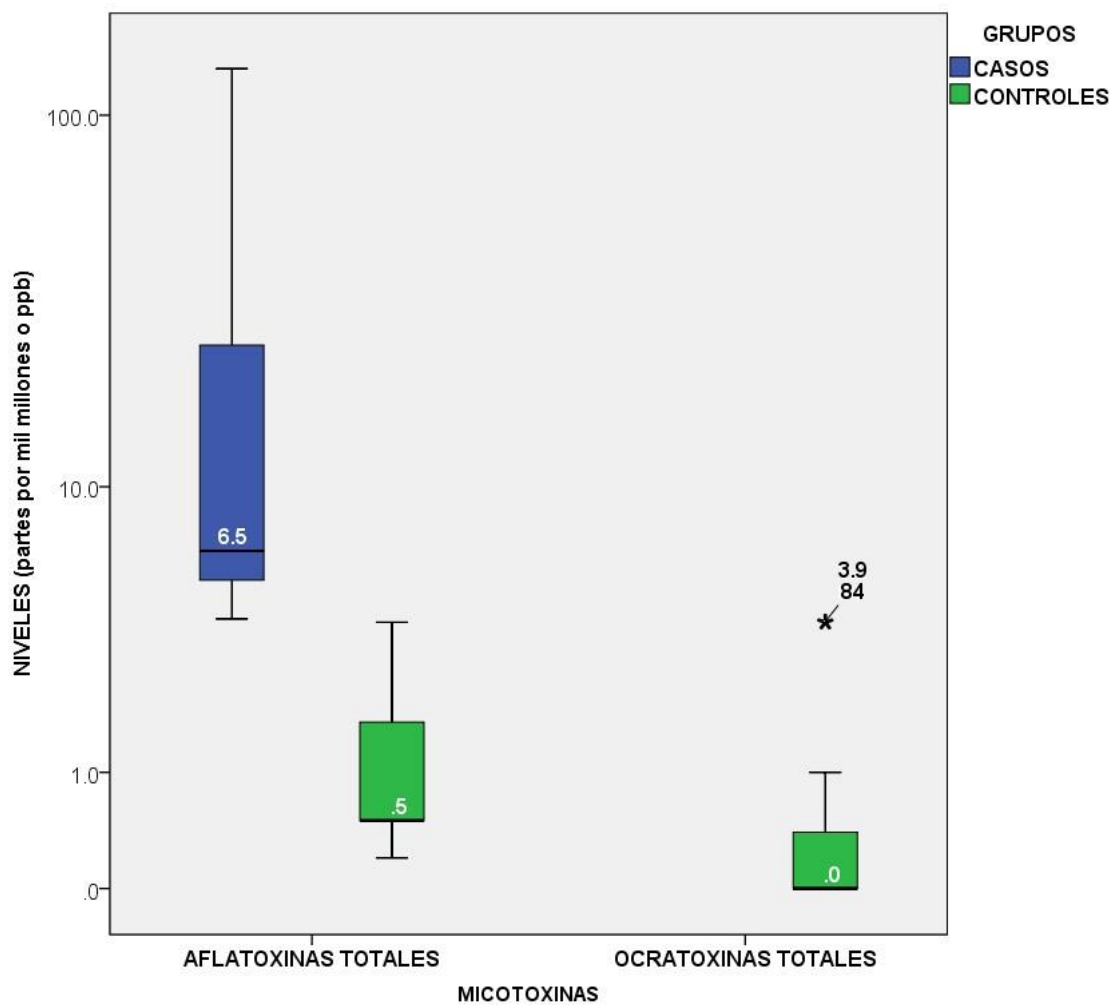


Figura 11. Niveles medianos de Aflatoxinas totales y de Ochratoxinas totales detectados en muestras de granos de maíz, colectadas en el cantón Metalío, Acajutla, Sonsonate. Las cajas azules representan la agrupación de niveles arriba de la norma europea para Aflatoxinas totales (≥ 4 milmillonésimas de gramo) y para Ochratoxinas totales (≥ 5 milmillonésimas de gramo); en las cajas verdes se visualizan los valores de niveles debajo de la misma norma (< 4 y < 5 milmillonésimas de gramo, respectivamente). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.

3.4 Prevalencia de casos de contaminación por Aflatoxinas y Ocratoxinas totales determinados en cada localidad agrícola muestreada

Las prevalencias de contaminación probable de granos de maíz, tanto para Aflatoxinas totales como para Ocratoxinas totales por localidad muestreada, se presentan en la Figura 12. En todos los lugares, la ocurrencia de mediciones arriba de la norma europea fue mayor para la Aflatoxinas que para la Ocratoxinas.

Las prevalencias de contaminación probable por Aflatoxinas totales en las muestras tomadas en Atiocoyo (La Libertad), Villa San Antonio (San Miguel) y en Metalío (Sonsonate), superaron ligeramente el 20% (27.3, 26.5 y 21.4%, respectivamente); mientras que en Nueva Concepción (Chalatenango) solo alcanzó el 6.7% de las alícuotas analizadas (Figura 12).

Los casos de contaminación probable por Ocratoxinas totales se detectaron en Atiocoyo con una prevalencia del 4.5% (Figura 12); coincidentemente, esa localidad es la única que presentó positividad para ambas micotoxinas, además de tener los valores de prevalencia más alta para la Aflatoxinas totales. En el resto de localidades no se encontraron niveles arriba de la norma europea para Ocratoxinas totales.

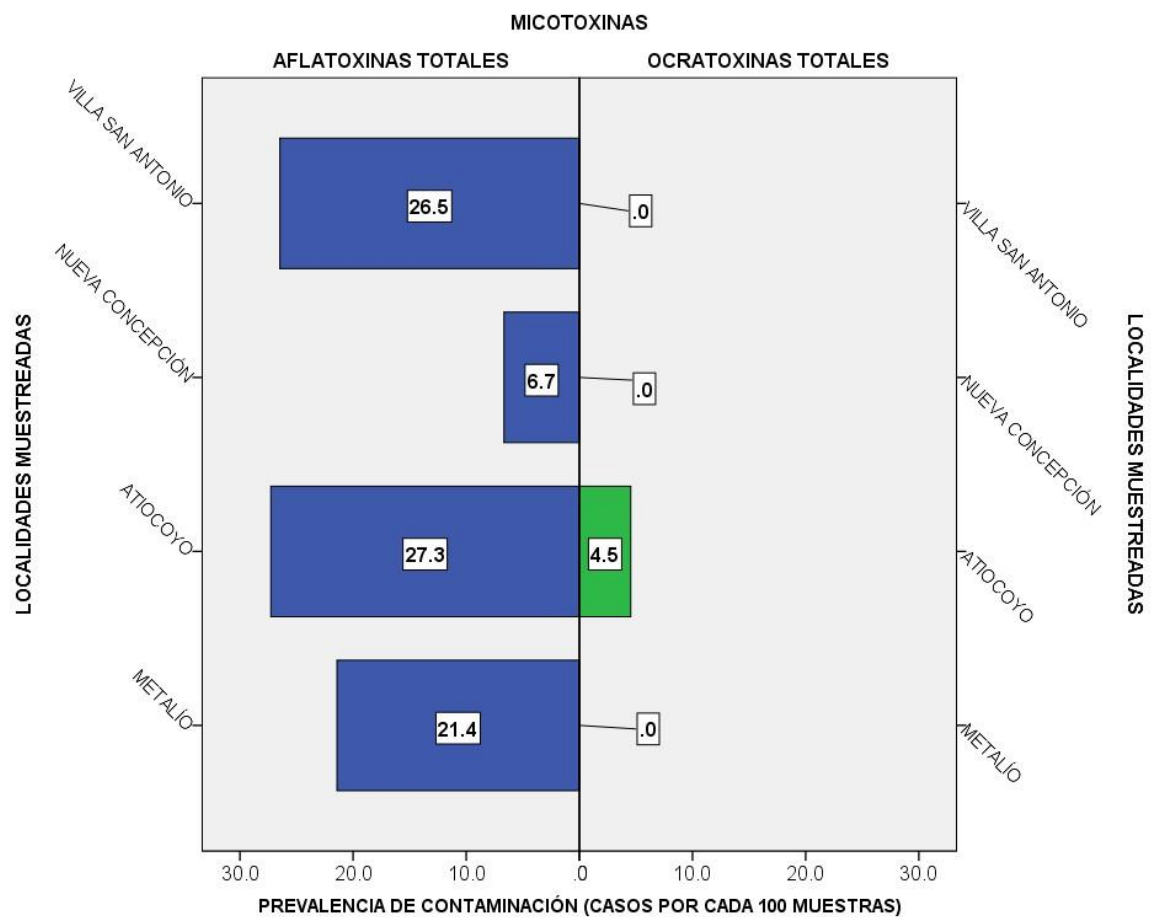


Figura 12. Prevalencias de contaminación probable de granos de maíz, tanto para Aflatoxinas totales como para Ochratoxinas totales en las localidades de Villa San Antonio, Nueva Concepción, Atiococho y Metalío expresadas como porcentajes. Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.

3.5 Prácticas de preparación y almacenamiento del grano de maíz, asociados a niveles de Aflatoxinas y Ocratoxinas totales arriba de la norma europea

De las ocho prácticas y dos condiciones de preparación y almacenamiento del maíz, así como de los factores de composición esencial del grano que podrían influir sobre los niveles de Aflatoxinas totales, el análisis en conjunto demostró que el tiempo que transcurre desde la dobla a la tapisca, previo al engranado, es un predictor significativo de los contenidos esperados de esa micotoxina ($\beta = 0.18$, $p = 0.040$, Figura 13). Se determinó también que dejar transcurrir dos o más meses después de la dobla para hacer la tapisca reduce a un tercio la probabilidad de presentar valores de Aflatoxinas totales arriba del límite máximo permitido por la norma europea (Razón de Predominio = 0.309, $p = 0.009$; IC 95% [0.125, 0.762]).

Otras prácticas identificadas como probablemente incidentes sobre los contenidos que sobrepasan la norma de Aflatoxinas totales, son: la forma de secado (asoleo vs. troje vs. ninguno) y la superficie de secado (piso de cemento vs. plástico laminar vs. planta doblada), aunque ninguna demostró ser significativamente significativa.

No obstante, con el análisis multivariante se determinó que la forma de secado está significativamente correlacionada tanto con el tiempo de secado (1, 3 o ≥ 7 días [$r = 0.55$, $p < 0.001$]), como con la superficie de secado (piso de cemento, plástico laminar o planta doblada [$r = 0.51$, $p < 0.001$]). Las últimas dos prácticas también están asociadas de forma significativa ($r = 0.42$, $p < 0.001$, Figura 13).

La magnitud y signo de esos coeficientes parecen sugerir que la práctica de dejar la mazorca en la planta doblada se asocia con un tiempo mayor a dos meses previos a la corta, también con el secado durante tres días o menos antes de desgranar y con la no exposición directa al sol para la desecación (secado en troje), previo al almacenamiento y fumigación o “curado” definitivo del grano.

Se identificaron otras prácticas potenciales de riesgo como el desgranado a máquina en lugar de la forma manual, la aplicación no exhaustiva de limpieza del grano y del depósito, así como en la forma de estimar la humedad de la semilla antes de almacenar. Aunque no pudo demostrarse significación en el efecto de estos factores sobre los niveles fuera de norma de las Aflatoxinas totales, si fue posible comprobarla en la correlación que existe entre esas prácticas (Figura 13).

Las cotas de altitud de la zona de almacenamiento (≤ 100 , 101 a 300, 301 a 500, 501 a 850 m.s.n.m.) están significativamente asociadas a la temperatura del depósito de acopio ($r = 0.37$, $p < 0.001$, Figura 13), independientemente del tipo (troje, saco, barril o silo); de manera que cuanto mayor sea la altitud del sitio de almacenamiento, menor será la temperatura dentro del dispositivo.

Respecto a lo anterior, se comprobó que la temperatura del medio de almacenamiento disminuye a medida que aumenta la altitud del sitio de acopio del grano ($y = 42.90 - 0.023x$,

$R^2 = 0.690$, $p < 0.001$], Figura 14). Por otra parte, se demostró también linealidad significativa e inversamente proporcional entre la temperatura del depósito y la humedad relativa porcentual del mismo ($y = 133.84 - 2.488x$, $R^2 = 0.721$, $p < 0.001$), indicando que en cuanto la primera variable se reduce, la segunda tiende a aumentar y viceversa (Figura 15).

La presencia de granos defectuosos en la muestra podría ser otro predictor de niveles de Aflatoxinas totales sobre la norma europea, aunque no pudo demostrarse significación en el efecto ejercido. No obstante, hallar semillas dañadas en la muestra está relacionada también con la proporción de granos infestados por insectos ($r = 0.48$, $p < 0.001$, Figura 13), indicando que a más cantidad de granos con daños, el porcentaje de infestación será mayor.

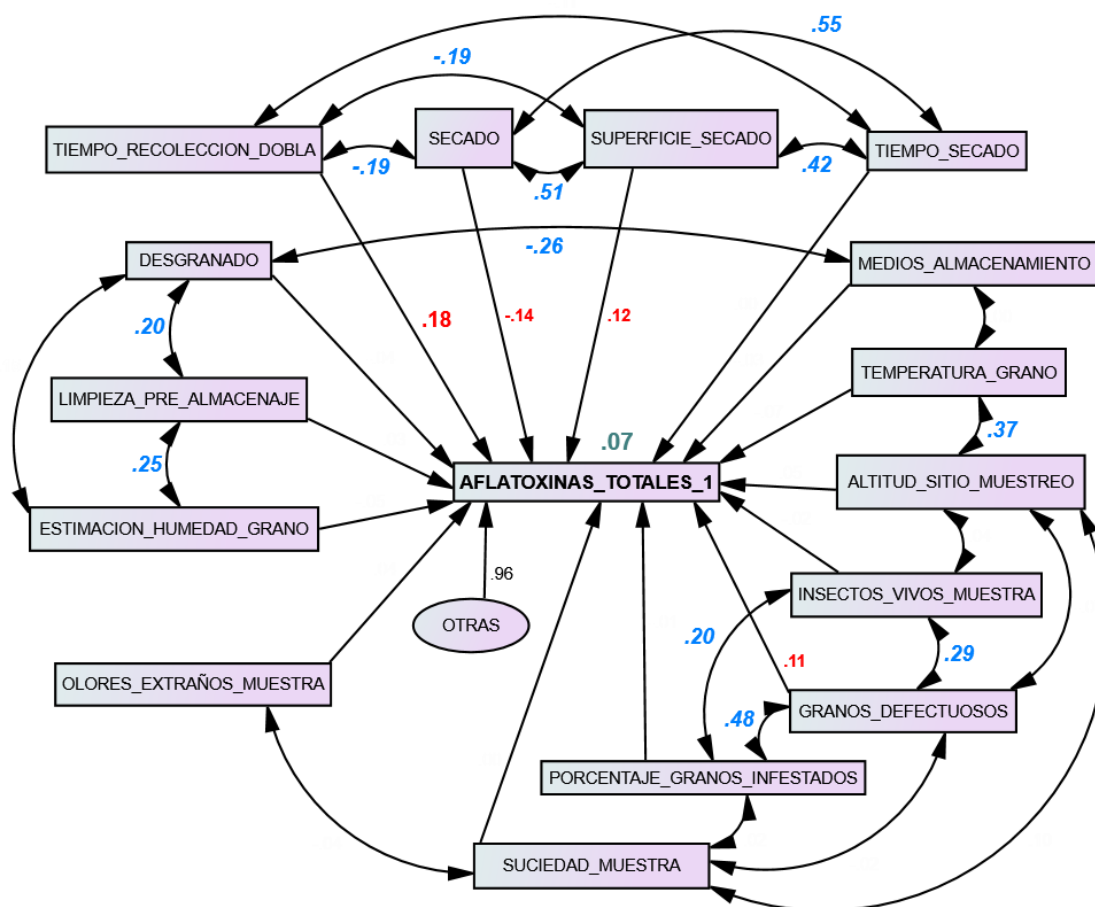


Figura 13. Modelo predictivo de los niveles de Aflatoxinas totales en los granos de maíz, según el efecto de ocho prácticas y dos condiciones de preparación y almacenamiento de la semilla ($R^2 = 0.071$, $\chi^2 = 252.888$, 84 gl., $p < 0.001$, $n = 128$). Los números sobre las flechas unidireccionales son coeficientes β estandarizados y aquellos sobre las bidireccionales son coeficientes de correlación (r). Datos obtenidos durante muestreo realizado de julio a octubre de 2014.

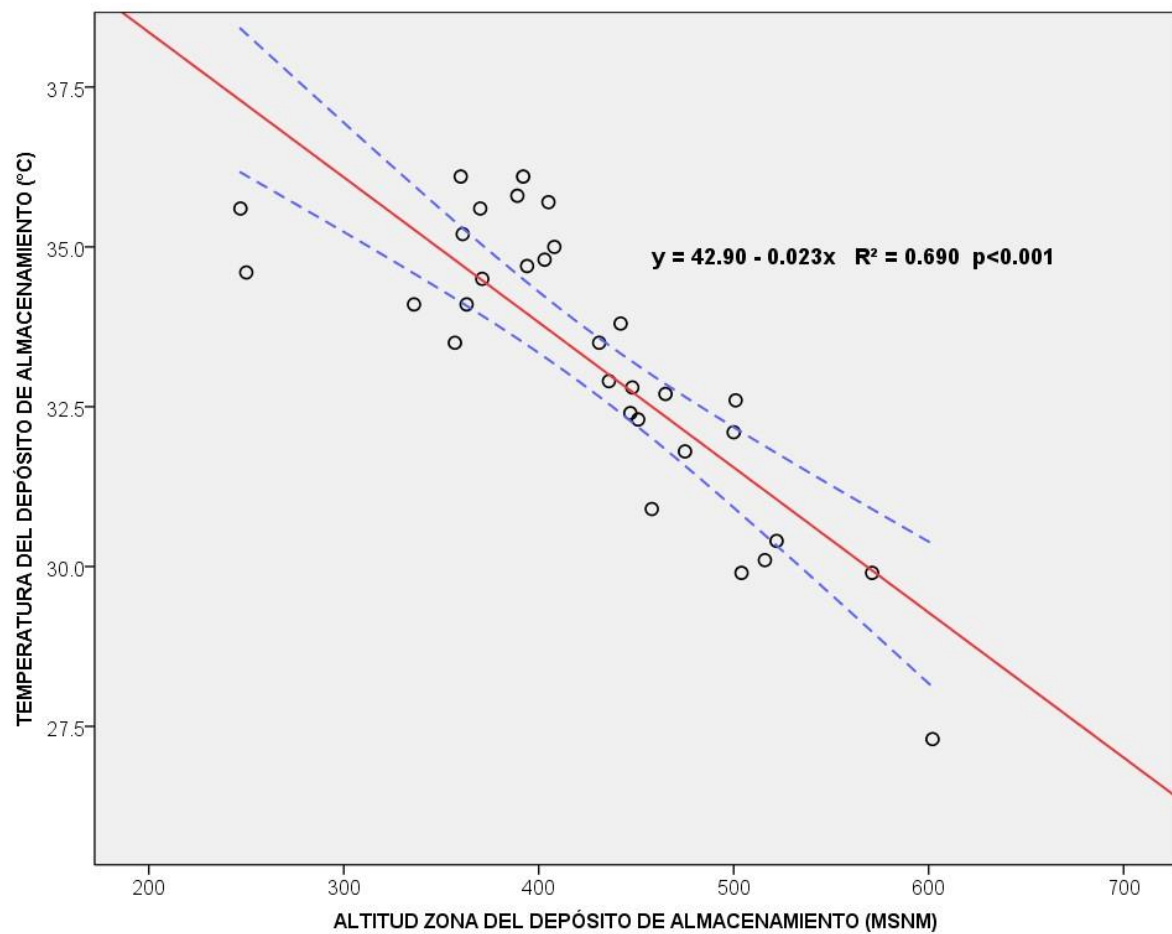


Figura 14. Relación inversamente proporcional entre la altitud de la zona de ubicación y la temperatura del depósito de almacenamiento de granos de maíz analizados. Las variaciones de ambos factores se ajustan a una curva definida por $y = 42.90 - 0.023x$, delineada en rojo, con un $R^2 = 0.690$, $p < 0.001$. Las curvas en color azul representan al intervalo de confianza al 95%, respecto a la media de la muestra.

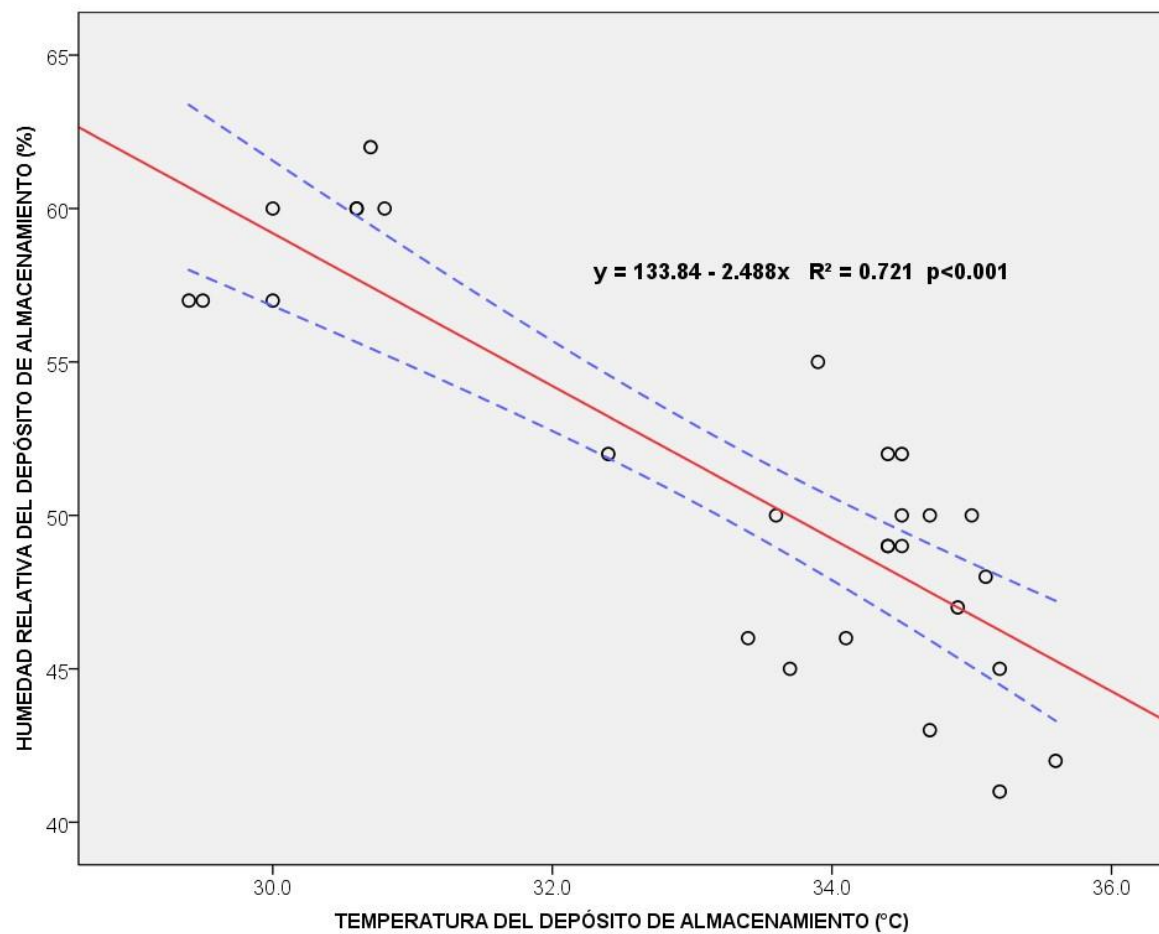


Figura 15. Relación inversamente proporcional entre la temperatura y la humedad relativa porcentual del depósito de almacenamiento de granos de maíz analizados. Las variaciones de ambos factores se ajustan a una curva definida por $y = 133.84 - 2.488x$, delineada en rojo, con un $R^2 = 0.721$, $p < 0.001$. Las curvas en color azul representan al intervalo de confianza al 95%, respecto a la media de la muestra.

4. DISCUSIÓN

4.1 Factores promotores del crecimiento de hongos toxicogénicos y la producción de micotoxinas en granos de maíz

El secado del maíz es una actividad agrícola que los agricultores de las localidades muestreadas realizan de forma tradicional (secado natural). No existe una forma única de realizar esta actividad, pero mayoritariamente lo hacen en la planta doblada en el lugar de cultivo; de hecho, en este trabajo se demostró que dejar transcurrir dos o más meses entre la dobla de la planta y la recolección de las mazorcas puede reducir a un tercio la probabilidad de que los granos presenten valores de Aflatoxinas totales arriba del límite máximo permitido. Este hallazgo coincide parcialmente con lo expuesto por la FAO que afirma que la falta de un secado adecuado es una de las principales fuentes de pérdidas de granos aptos para consumo [20], aunque atribuye también la falencia en el secado a la práctica recurrente de la mayoría de pequeños los agricultores a dejar sus frutos en la planta, exponiéndolos a la intemperie y potencialmente al ataque de insectos e infestación por hongos. No obstante las posibles pérdidas, los pequeños productores continúan empleando este método por su practicidad y bajo costo de mano de obra.

Luego del secado en la planta, los productores proceden a desgranar de forma manual o a máquina, y la mayoría los expone al sol sobre superficies como toldos plásticos o en piso de cemento para asegurar la reducción del nivel de humedad del grano deseada; además, el tiempo que lo exponen al sol en esta fase puede variar desde un día hasta más de una semana, dependiendo de los resultados obtenidos en experiencias previas. El tiempo de secado es crucial ya que la reducción de la humedad del grano a valores menores al 14% favorece grandemente la conservación de los granos durante el almacenamiento [20]. Estas afirmaciones confirman otras prácticas potenciales de riesgo para contaminación por Aflatoxinas totales identificadas en este estudio, como el desgranado a máquina en lugar hacerlo de forma manual, también el secado durante tres días o menos antes de desgranar y la no exposición directa al sol para la desecación del grano, previo al almacenamiento. Adicionalmente se identificó que los productores entrevistados, manifestaron la falta de asistencia técnica para el manejo post cosecha de los granos y su conservación, condición fundamental para disminuir las probabilidades de contaminación por Aflatoxinas totales.

Otras prácticas importantes son la limpieza del grano y del depósito pre almacenaje, así como la forma de estimar la humedad de la semilla antes de almacenar. En el presente estudio se encontró que la mayoría de agricultores entrevistados hace limpieza completa previa al almacenamiento y recurre también a identificar el sonido característico que hacen los granos de maíz cuando están en su punto para ser almacenados; este último método es sencillo además de eficaz y ha sido utilizado previamente en Nicaragua [21]. La efectividad de estas prácticas y de otras mencionadas anteriormente se manifiesta en la baja (≥ 20 y $< 40\%$) o muy baja frecuencia ($< 20\%$) de contaminación probable por Aflatoxinas y Ocratoxinas totales, encontrada en las cuatro localidades muestreadas en este trabajo.

Otro resultado relevante es que la presencia de granos defectuosos en la muestra podría ser un predictor de niveles esperados de Aflatoxinas totales que superen los límites máximos permitidos, además que está significativamente asociado tanto con el hallazgo de insectos vivos en la muestra como con el porcentaje de granos con indicios de infestación por hongos. La frecuencia de insectos vivos encontrados en las muestras varía desde baja (≥ 20 y $< 40\%$) en Villa San Antonio y Nueva Concepción, hasta media (≥ 40 y $< 60\%$) en Metalío y Atiocoyo. Al respecto, se ha informado que los granos deteriorados por insectos son susceptibles a ser invadidos rápidamente por una especie de hongo toxicogénico (*A. flavus*) y los gorgojos son los principales agentes causantes del daño [9,22].

4.2 Prevalencia de contaminación por Aflatoxinas totales en maíz destinado para autoconsumo de productores de granos básicos

Considerando las cuatro localidades muestreadas, la prevalencia de casos de contaminación por Aflatoxinas totales es de 20.3%, con valores máximos de 132.3 (Metalío), 114 (Nueva Concepción) y 66.9 ppb (Villa San Antonio). La prevalencia y los niveles máximos encontrados en este trabajo, aproximadamente duplican los valores detectados en una investigación previa en 2011, con una prevalencia de 12.5% y un contenido máximo de 62.95 ppb [9]; las diferencias pueden deberse a que las muestras recolectadas en el estudio de 2011, procedieron de ventas de cereales ubicadas en tres mercados municipales del departamento de San Salvador, es decir lugares de arribo de maíz procedente de múltiples sitios de origen; mientras que las muestras del presente trabajo fueron recolectadas directamente de los productores y no de comercializadores; además se analizó maíz para autoconsumo de los agricultores y no para comercialización. Otro estudio en 1991 presentó hasta el 42.85% de casos de contaminación en cereales, incluyendo el maíz, destinados a la venta para consumo humano en mercados del área metropolitana de San Salvador [8]. En 1979, un estudio de mayor cobertura territorial realizó pruebas en 98 almacenes gubernamentales de granos básicos, encontrando que el 50% de las muestras de granos de maíz blanco presentaron niveles entre los 0.01 hasta las 22 ppb, aunque no se especificó la proporción de aquellas que sobrepasaron el límite máximo permitido para Aflatoxina B₁ [7].

4.3 Prevalencia de contaminación por Ocratoxinas totales en maíz destinado para autoconsumo

Para las Ocratoxinas totales la prevalencia se determinó solo en la localidad agrícola de Atiocoyo obteniéndose un 4.5% de casos con niveles de contaminación que sobrepasan el límite de la normativa europea. Una investigación anterior realizada en maíz blanco adquirido en mercados del área metropolitana de San Salvador, presentó valores máximos de 0.25 ppb, por lo que no se determinó contaminación probable por Ocratoxinas totales [9]. Las diferencias entre los resultados de ambos trabajos parecen indicar que la prevalencia de niveles de Ocratoxinas totales que superen el máximo permitido es muy baja ($< 20\%$) y que, probablemente, no esté extendida territorialmente como parece estarlo la contaminación por Aflatoxinas totales.

5. CONCLUSIONES

Se encontraron niveles de Aflatoxinas totales que sobrepasan el límite máximo permitido en las cuatro localidades muestreadas, indicando una contaminación probable extendida territorialmente.

La prevalencia de los niveles de Aflatoxinas totales arriba del límite máximo permitido, sobrepasa ligeramente el 20% de las muestras de Villa San Antonio, Atiocoyo y Metalío y es menor al 7% en Nueva Concepción, lo que indica que la contaminación probable oscila de una frecuencia baja a muy baja.

El tiempo transcurrido desde la dobla de la planta a la tapisca de la mazorca es un predictor significativo de los contenidos esperados de Aflatoxinas totales en los granos de maíz almacenados.

La práctica de dejar transcurrir dos o más meses desde la dobla hasta la tapisca para el secado de la mazorca en la planta, reduce a un tercio el riesgo de que el maíz almacenado presente niveles de Aflatoxinas totales por encima del límite máximo permitido.

Se demostró que la forma, la duración y la superficie de secado del maíz están significativamente asociados y podrían incidir sobre los contenidos de Aflatoxinas totales que superen el límite máximo establecido.

La práctica predominante del desgranado mecanizado, la aplicación no exhaustiva de limpieza del grano y del depósito de acopio y la estimación de la humedad, previo al almacenamiento, son variables relacionadas significativamente, que también podrían influir sobre el apareamiento de niveles de Aflatoxinas totales arriba de la norma europea.

Solo se detectó una muestra con nivel de Ocratoxinas totales sobre la norma europea en Atiocoyo, determinándose también una prevalencia inferior al 5%, evidencias que indican que la contaminación probable por esta micotoxina no está extendida territorialmente y, donde se encuentre, se presenta en muy baja frecuencia.

6. REFERENCIAS

1. Soriano J. M. Micotoxinas en alimentos. [Libro electrónico].1a ed. España: Díaz de Santos; 2007 [Consultado 2014 Dic 16]. Disponible en:
<https://books.google.com.sv/books?id=wgRVcFvk--IC&printsec=frontcover&dq=micotoxinas&hl=es&sa=X&ei=-O2SVOL1ILiCsQSVzoCYCg&ved=0CB0Q6AEwAA#v=onepage&q=micotoxinas&f=false>
2. Cameán A., Repetto M. Toxicología alimentaria. [Libro electrónico]. 1ª ed. España: Díaz de Santos; 2012[Consultado 2014 Dic 18]. Disponible en:
<https://books.google.com.sv/books?id=SbUticcNWoMC&printsec=frontcover&dq=Toxicolog%C3%ADa+alimentaria&hl=es-419&sa=X&ei=XwqTVKDwGOOCsQTY2YKYDg&ved=0CEkQ6AEwBw#v=onepage&q=Toxicolog%C3%ADa%20alimentaria&f=false>
3. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Manual sobre la aplicación del sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas. Estudio FAO Alimentación y Nutrición No. 76. p. 8-13. [Internet]. [Consultado 2015 Ene 03]. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y1390S/y1390S00.pdf>
4. World Health Organization International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. Volume 56. [Consultado 2015 Ene 28]. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol56/mono56.pdf>
5. World Health Organization. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants. WHO Technical Report Series 947, Sixty-eighth report of the Joint FAO /WHO Expert Committee on Food Additives.p.173-174. [Internet]. [Consultado 2015 Ene 02]. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/publications/2007/9789241209472_eng.pdf
6. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y las raciones en el año 2003. Estudio FAO Alimentación y Nutrición. [Consultado 2014 Dic 02]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-y5499s.pdf>
7. Calderón G.R. Aflatoxins in El Salvador. In: Zuber M, Lillehoj E, Renfro B, Editors. Proceedings of the Workshop: Aflatoxin in Maize. México; April 7-11, 1986. Mexico D.F.: The International Maize and Wheat Improvement Center; 1986. p.293-297

8. Posada Jiménez A, Escobar Contreras M. Determinación de Aflatoxinas en Productos Alimenticios Colectados en Establecimientos Comerciales a nivel de la Zona Metropolitana, San Salvador 1989 – 90. [Tesis pre grado]. San Salvador. Universidad Alberto Masferrer. 1991
9. Vega Jiménez C. Cuantificación de Micotoxinas más Frecuentes en Granos de Maíz Comercializados para el Consumo Humano en los Mercados: Central de San Salvador, Mejicanos y San Miguelito. [Tesis pre grado]. San Salvador. Universidad de El Salvador. 2011
10. Hernández Rauda J. R., López Rosales C. E., Ávila J.E. Prevalencia, Factores y Agentes de Riesgo de la Enfermedad Renal Crónica en Cuatro Localidades de El Salvador. San Salvador. Universidad Doctor Andrés Bello. 2009
11. Hernández Rauda J. R., Ávila J. E., Hernández Escobar K. E. Enfermedad Renal en Cuatro Zonas de Uso Agrícola de El Salvador: Prevalencia, Factores de Riesgo e Indicadores Asociados de Disfunción Hepática. San Salvador. Universidad Doctor Andrés Bello. 2010
12. World Health Organization International Agency for Research on Cancer. Aflatoxins. [Internet]. [Consultado 2015 Ene 28]. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100F/mono100F-23.pdf>
13. Ministerio de Agricultura y Ganadería. “Clasificación de suelos por división política de El Salvador, C.A.” [Internet]. [Consultado 2014 Abr 23]. Disponible en: <https://www.google.com.sv/#q=clasificaci%C3%B3n+de+los+suelos+por+divisi%C3%B3n+politica>
14. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova” (CENTA). Guía Técnica, El Cultivo del Maíz. p. 1-40. [Internet]. [Consultado 2014 Sep 17]. Disponible en: <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/granos%20basicos/GuiaTecnica%20Maiz%202014.pdf>
15. INECC-CCA, (2010). Guía para Elaborar Planes de Muestreo Representativos. México. [Internet]. [Consultado 2014 Abr 22]. Disponible en: http://www2.inecc.gob.mx/dgcnica/proname/informes/guia_para__planes_de__muestreo_inecc_2013.pdf
16. Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. “Control de Aflatoxinas en Cereales para Consumo Humano y Animal. Especificaciones Sanitarias” [Internet]. [Consultado 2014 May 09]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/188ssa12.html>

17. Organismo Salvadoreño de Normalización (OSN). Norma para el Maíz NTS CODEX STAN 153:1985. San Salvador 2014. p. 1-4.
18. Neogen Corporation. Micotoxin Handbook: Aflatoxin, Deoxynivalenol (DON), Fumonisin, Ochratoxin, T-2/HT-2 Toxins, Zearalenone. Third edition. EE.UU.2012. p. 1-15
19. Budz-Jorgensen E. Structural Equation Models for Statistical Analysis of Multiple dimension Data. En: Wesseling C, Riihimäki H, Mergler D, Editors. 20th International Conference on Epidemiology in Occupational Health; Costa Rica June 9-13-2008. Costa Rica: Universidad Nacional; 2008.p.57-59
20. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Manual de manejo pos cosecha de los granos a nivel rural. Santiago de Chile 1993. [en línea]. Departamento de Agricultura. [Consultado 2015 Mar 03]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/x5027s/x5027s00.HTM>
21. Valencia Lorente R. Guía post cosecha para granos básicos. A4N Agricultura para necesidades básicas. Catholic Relief Service. Nicaragua 2011. p. 3-4. [Internet]. [Consultado 2015 Mar 03]. Disponible en: http://www.a4n.com.sv/uploaded/mod_documentos/ALMACENAMIENTO%20DE%20GRANOS%20BASICOS.pdf
22. Bolívar Blancas M. Manejo de granos en almacenamiento, causas de deterioro y prevención. En: XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú.Vol. 15. Perú: Producciones Latinoamericana; 2007.

APÉNDICES

APÉNDICE I. CONSENTIMIENTO INFORMADO



Universidad
Dr. Andrés Bello

DIRECCIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN SOCIAL
DEPARTAMENTO DE INTERCAMBIO CIENTÍFICO Y CULTURAL – UNIDAD DE INVESTIGACIÓN
LABORATORIO DE MICOTOXINAS Y RESIDUOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO.

La Investigación en la que se solicita que participe voluntariamente tiene como objetivo:
Cuantificar los niveles de contaminación de Aflatoxinas y Ocratoxinas, en granos de maíz (*Zea mays* L.) Almacenado y destinado para autoconsumo entre productores de granos básicos.

Las micotoxinas, son sustancias producida por los hongos de colores naranja y negro que crecen sobre los granos de maíz cuando se secan al sol, cuando se desgranar a mano o a máquina o, durante el almacenamiento en silos, recipientes o trojas y son tóxicas para la salud humana provocando daños a los riñones y al hígado principalmente.

Señor o señora agricultor si usted esta interesado en formar parte del estudio, consienta lo siguiente:

- 1) Firmar el consentimiento informado.
- 2) Brindar información para llenado de ficha agrícola y clínica.
- 3) Permitir que el investigador(a): recolecte una muestra equivalente a 2 libras de maíz en dos temporadas del lugar de almacenamiento sin que se tenga que pagar por las muestras.

El estudio estará realizándose ente los meses de junio a noviembre del presente año con muestreo y análisis. Finalizando con la presentación de resultados de los exámenes realizados a las muestras de maíz, que serán entregados personalmente por un profesional de salud y éstos son confidenciales de acuerdo a lo establecido en la ley, entre los meses de diciembre de 2014 a enero de 2015.

Por lo tanto,

YO _____ DUI _____

Con fecha ____/____/2014, en el Cantón/Caserío _____,

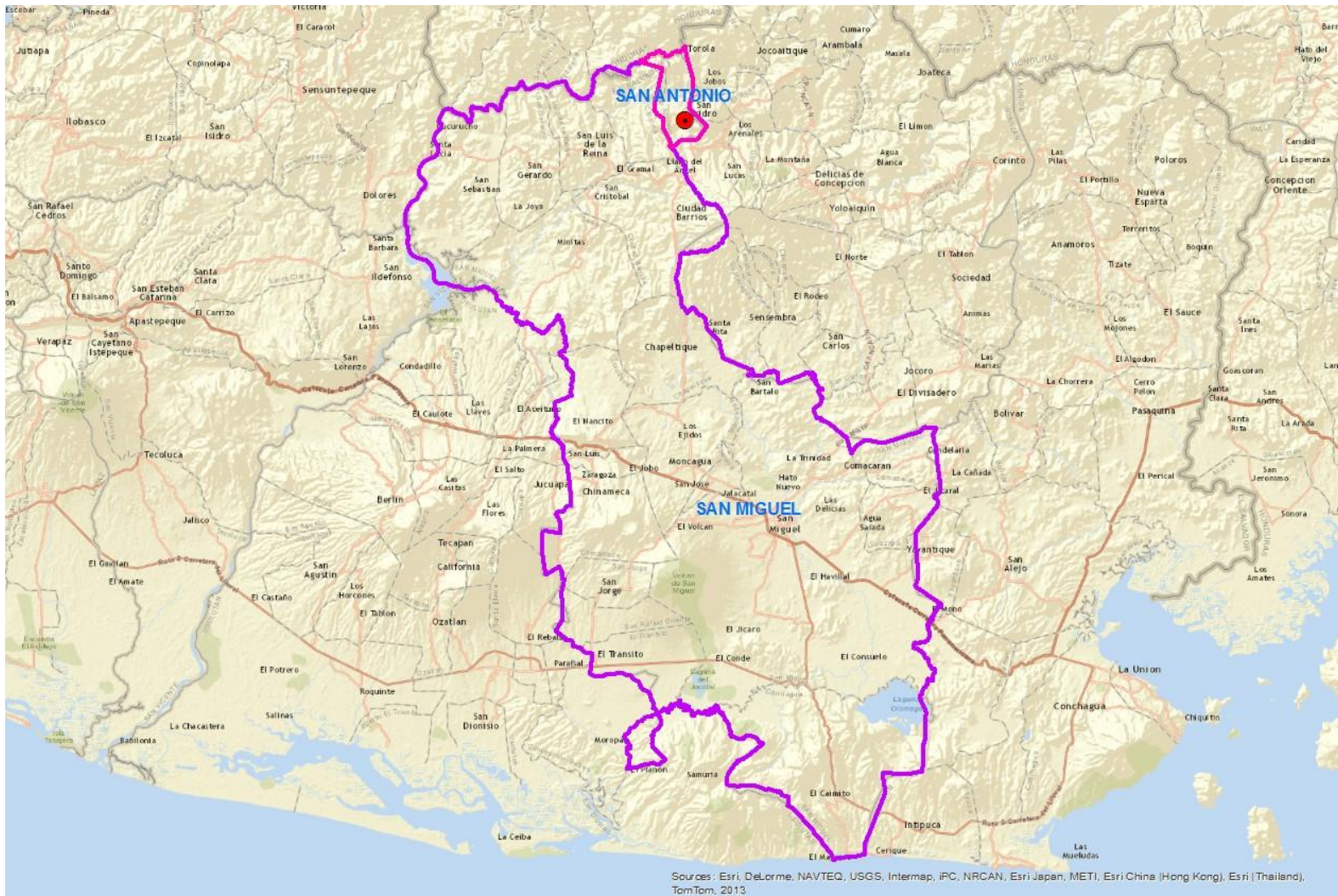
Municipio de _____, Departamento de _____.

☐ Acepto participar en el estudio arriba indicado, brindar la información necesaria, en forma fidedigna, permitir la recolección de la muestra significativa de maíz a antes de la Universidad Dr. Andrés Bello.

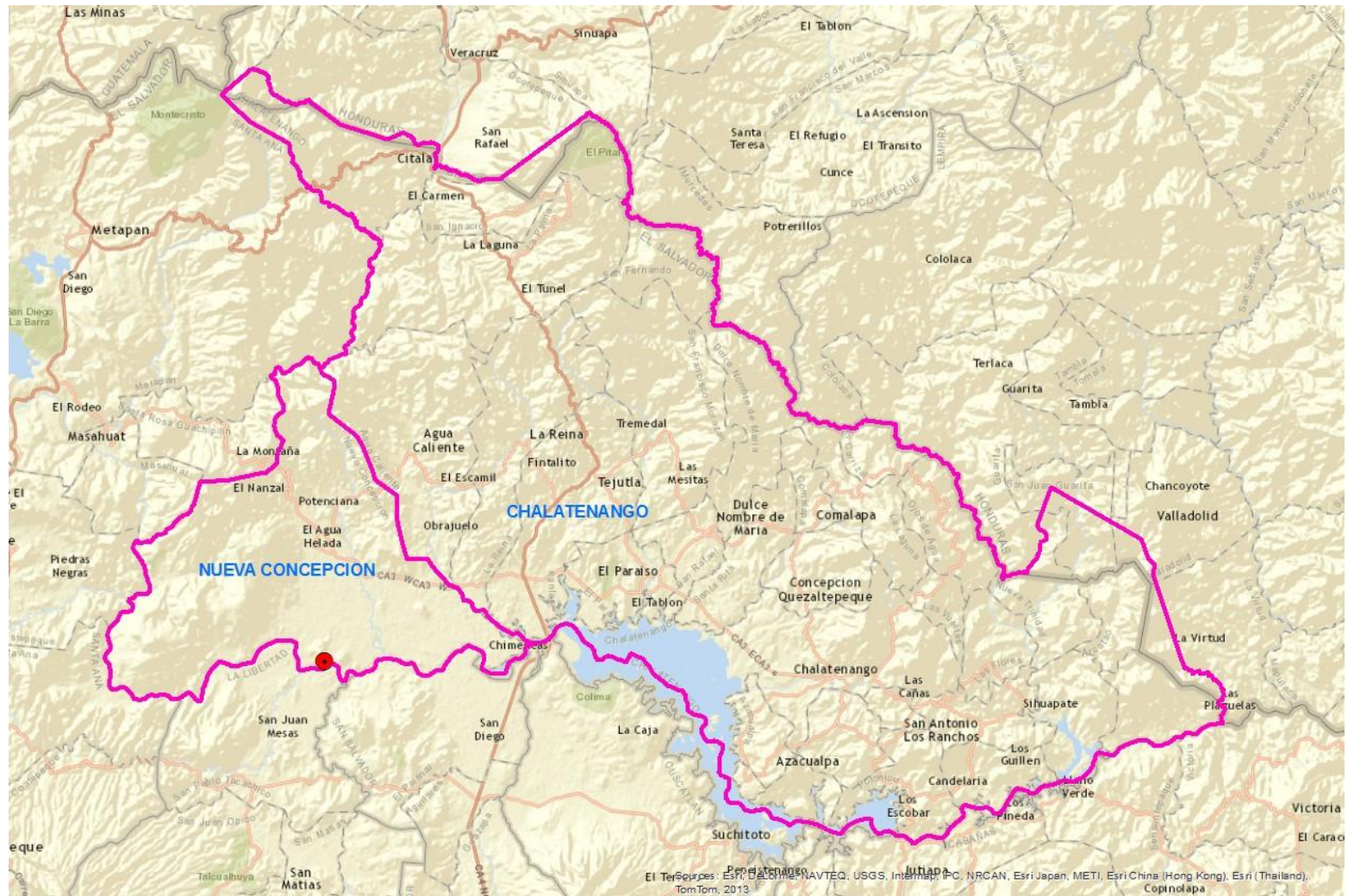
☐ Entiendo y acepto también que los resultados de laboratorio así como la entrevista pueden ser usados para fines de Investigación, sin que aparezcan asociados a mi identidad.

FIRMA O HUELLA DACTILAR

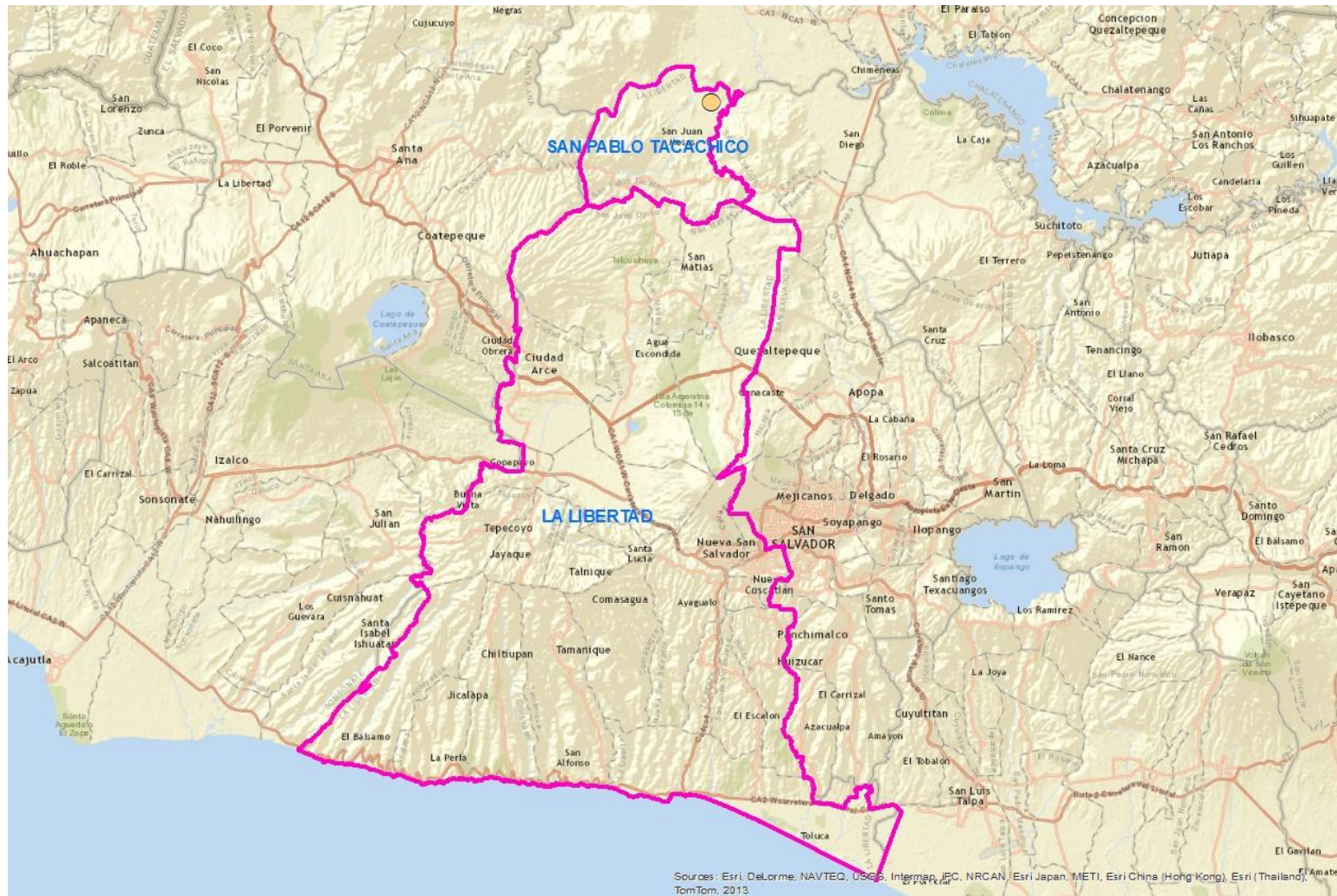
APÉNDICE II. MAPA CARTOGRÁFICO, DEPARTAMENTO DE SAN MIGUEL, MUNICIPIO DE VILLA SAN ANTONIO



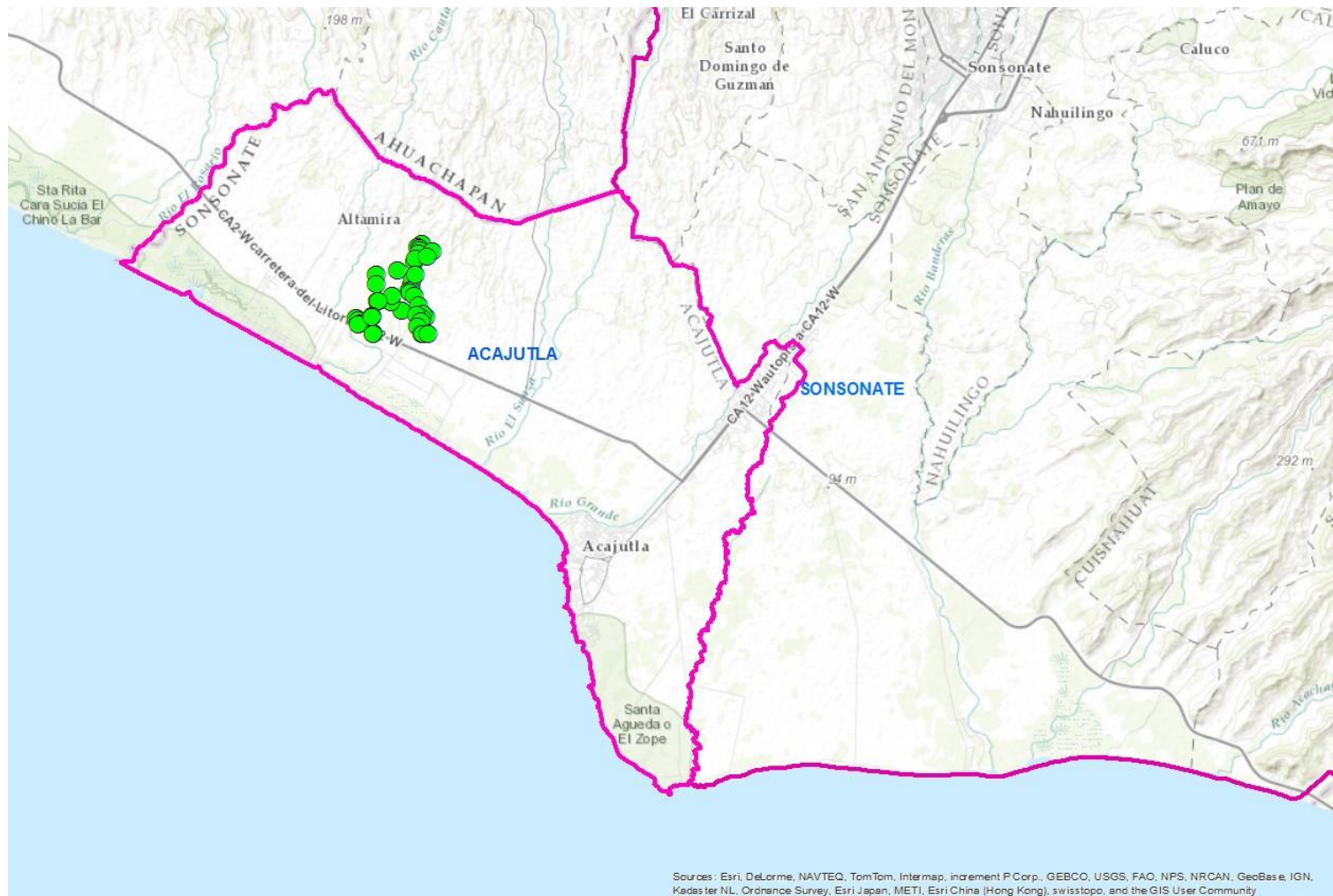
APÉNDICE III. MAPA CARTOGRÁFICO, DEPARTAMENTO DE CHALATENANGO, MUNICIPIO DE NUEVA CONCEPCIÓN



APÉNCICE IV. MAPA CARTOGRÁFICO, DEPARTAMENTO DE LA LIBERTAD, MUNICIPIO DE SAN PABLO TACACHICO



APÉNDICE V. MAPA CARTOGRÁFICO DEPARTAMENTO DE SONSONATE, MUNICIPIO DE ACAJUTLA



APÉNDICE VI. INSTRUMENTO DE ENTREVISTA



Universidad Dr. Andrés Bello
Dirección de Investigación y Proyección Social

POSITIVO
NEGATIVO

INFORMACIÓN AGRÍCOLA

CÓDIGO:

I. DATOS GENERALES

NOMBRE: _____ FECHA: ____/____/2014

SEXO: M ☐ F ☐ ; Edad: ____ años; Escolaridad: ____ (grado); Domicilio: _____
Municipio: _____; Departamento: _____

II. DATOS AGRÍCOLAS

Recibe paquete agrícola: SI ☐ NO ☐; Beneficiario PAF: SI ☐ NO ☐

Recibe asistencia técnica para el manejo post cosecha (OG u ONG): SI ☐ NO ☐

Si quiere puede especificar al CENTA, CESTA, MAG, PAF u otras similares: _____ Variedad de maíz

cultivada: _____; Superficie de siembra: _____ (Mz); Tipo de suelo: _____
rendimiento: _____ (qq).

Referencia del lugar de cultivo del maíz: _____

III. USOS DEL MAÍZ COSECHADO

Alimento humano ☐ , Cantidad para consumo humano: _____ (%); Alimento animal ☐ , Cantidad para alimento animal: _____ (%); Venta ☐ , Cantidad para venta: _____ (%).

IV. COSECHA

Tiempo para la recolección de las mazorcas después de la dobla: _____; Tiempo necesario: _____

Secado de mazorcas en planta: SI ☐ NO ☐; Secado de mazorcas en caseta de secado (Troje): SI ☐ NO ☐

Desgranado: Máquina ☐ Manual ☐

V. MANEJO POST COSECHA DEL GRANO PARA AUTOCONSUMO

Preparación de los granos previo al almacenaje:

Secado del grano al sol: SI ☐ NO ☐; sobre: Piso ☐ , Nylon ☐ , Lámina ☐

Tiempo de secado después de tapisca 1 día ☐ 3 días ☐ 1 semana ☐ más de una semana ☐

Estimación de la humedad del grano

Sonido ☐ , Adición de sal seca ☐ , Molido ☐ , Ninguno ☐

Antes de almacenar limpia hojas, ramas, polvo, tierra y rastrojos en maíz SI ☐ NO ☐; En el silo SI ☐ NO ☐

Antes de almacenar el grano, retira aquellos que presenten muestras o síntomas de ataque de insectos o de microorganismos, o que se encuentren partidos SI ☐ NO ☐

Condiciones regulares de almacenamiento

Sacos al aire libre alejados del sol y sobre tarima SI ☐ NO ☐ , alejados del sol en el piso SI ☐ NO ☐

Sacos al aire libre expuestos al sol y sobre el piso SI ☐ NO ☐ , expuestos al sol y sobre tarima SI ☐ NO ☐

☐
☐

Mazorcas al aire libre y sobre el piso

SI ☐ NO ☐

Barriles plásticos

SI ☐ NO ☐

Barriles metálicos sobre tarima

SI ☐ NO ☐

Silo metálico sobre tarima

SI ☐ NO ☐

Trojes o depósitos de madera

SI ☐ NO ☐

VIII. DATOS DE LABORATORIO

REGIONAL UNAB PARA REPORTE DE ANÁLISIS

SONSONATE (03) ☐ CHALATENANGO (04) ☐ LA LIBERTAD (05) ☐ SAN MIGUEL (12) ☐

Tº de almacenamiento: _____ % Humedad Relativa: _____

CÓDIGO DE MX:			DISPOSITIVO DE TOMA DE MUESTRA		RESULTADOS DE ANÁLISIS	
FECHA DE RECOLECCIÓN	FECHA DE ANÁLISIS	FECHA DE REPORTE	CALADOR SONTA	HUACAL O CUCHARON	Aflatoxinas (ppb):	Ocratoxinas (ppb):

OBSERVACIÓN RELEVANTE EN ANÁLISIS:

SELLO ANALISTA

APÉNDICE VII. HOJA DE LEVANTAMIENTO DE PUNTOS DE GEORREFERENCIA



Universidad Dr. Andrés Bello
Dirección de Investigación y Proyección Social

INFORMACIÓN DEL SITIO Y LA MUESTRA LEVANTAMIENTO DE PUNTOS DE GEORREFERENCIA

I. DATOS DEL SITIO

Departamento: _____

Municipio: _____

Nombre del sitio: _____

Modelo de GPS: _____

COORDENADAS DEL SITIO

CÓDIGO WP	LATITUD	LONGITUD	ALTURA

Fecha y hora: _____

Descripción de la localización referente a las señales visuales:

– Fotografías del punto de muestreo: de _____ al _____

II. DATOS DE LA MUESTRA

Código de la muestra: _____

Fecha y hora de colección de la muestra: _____

Descripción física de la muestra: _____

Dispositivo de muestreo utilizado: _____

Colección de duplicados de muestras: SI ☐ NO ☐

Fotografías de las muestras: de _____ al _____

Nombre del responsable de la toma de la muestra: _____

[illegible]

GENERALES

Especificación	Límites	Resultados
Olores extraños	Exento	
Insectos vivos	Exento	

Especificación	Límites	Resultados
Suciedad (Impurezas de origen animal incluidos insectos muertos)	0.1 % m/m máximo	
Materias Orgánicas Extrañas (Componentes orgánicos que no sean semillas de cereales comestibles, semillas extrañas, tallos etc.)	1.5 % m/m máximo	
Materias Inorgánicas Extrañas (Componentes inorgánicos como piedras, polvo, etc.)	0.5 % m/m máximo	
Granos defectuosos (Granos dañados por insectos o gusanos, descoloridos, manchados, germinados o dañados materialmente de otra manera)	7.0 % máximo y los infectados no exceden 0.5%	

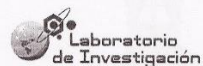
Micotoxinas		
Especificación	Límites	Resultados
Aflatoxinas	Hasta 20 ppb	
Ocratoxinas	Hasta 20 ppb	

51

APÉNDICE IX. RESULTADOS DE ANALISIS DE AFLATOXINAS Y OCRATOXINAS TOTALES



Universidad Dr. Andrés Bello
Dirección de Investigación y Proyección Social
Laboratorio de Investigación



RESULTADOS DE ANALISIS DE MICOTOXINAS

No. correlativo: _____

Fecha: _____

Micotoxina analizada: _____ Método de análisis: _____

Lugar de procedencia de muestras: _____

Condiciones de extracción

Cantidad de muestra	Solvente	Tiempo de extracción

Condiciones ambientales

	Temperatura	Humedad Relativa
Inicio		
Final		

Cantidad de controles (E), muestras (S) y su ubicación en el porta pozos

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
TIRA A												
TIRA B												

Densidades ópticas obtenidas

2014



Inocuidad alimentaria: determinando el potencial de contaminación de granos básicos por Aflatoxinas y Ocratoxinas en prevención de riesgos para la salud humana.



Universidad Doctor Andrés Bello

Dirección Nacional de
Investigación y Proyección Social

Área: Salud

