

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“Determinación de la presencia de Aflatoxina B₁ en masa de maíz (*Zea mays L*) de molinos artesanales del municipio de Suchitoto, departamento de Cuscatlán, El Salvador”.

Trabajo de graduación presentado por:
Rodrigo Alfredo Leiva Rivas

Para optar al grado de:
Licenciado en Biología

Ciudad Universitaria, San Salvador, octubre de 2023

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“Determinación de la presencia de Aflatoxina B₁ en masa de maíz (*Zea mays L*) de molinos artesanales del municipio de Suchitoto, departamento de Cuscatlán, El Salvador”.

Trabajo de graduación presentado por:
Rodrigo Alfredo Leiva Rivas

Para optar al grado de:
Licenciado en Biología

Docente Asesora interna:

M.Sc. Zoila Virginia Guerrero Mendoza

Asesor externo:

Ing. Gonzalo Alberto Nerio Vides

Ciudad Universitaria, San Salvador, octubre de 2023

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



“Determinación de la presencia de Aflatoxina B₁ en masa de maíz (*Zea mays L*) de molinos artesanales del municipio de Suchitoto, departamento de Cuscatlán, El Salvador”.

Trabajo de graduación presentado por:
Rodrigo Alfredo Leiva Rivas

Para optar al grado de:
Licenciado en Biología

Tribunal Calificador:

M.Sc. Zoila Virginia Guerrero Mendoza
Asesora interna

Ms D. María Herminia Merino Escobar

Lic. Roberto Amado Vásquez Díaz

Ciudad Universitaria, San Salvador, octubre de 2023

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR

M.Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

VICERRECTOR ACADÉMICO

PhD. RAÚL ERNESTO AZCÚNAGA LÓPEZ

SECRETARIO GENERAL

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCÓN SANDOVAL

FISCAL GENERAL

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA.

DECANO

LIC. ERNESTO AMÉRICO HIDALGO CASTELLANOS

VICE DECANA

M.Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

DIRECTORA ESCUELA DE BIOLOGÍA

LICDA. MILAGRO ELIZABETH SALINAS DELGADO

DEDICATORIA

*A Dios creador del Universo por darme sabiduría en todo este
proceso transformador y significativo para mi vida,
y permitir finalizarlo con éxito*

*A mis amados padres Beatriz y Fredy, que su sueño siempre fue verme como todo un
profesional y hermano quienes a pesar de todo siempre,
me han apoyado e impulsado a salir adelante en este proceso*

*A la ciencia por despertar mi curiosidad
y deseo de aprender día a día*

A mi novia, Amanda, por estar conmigo en mis mejores y peores momentos.

*Por presionarme que, a pesar de todas mis ocupaciones y funciones, siempre le dedique
tiempo a mi tesis.*

Y sobre todo por apoyarme hasta el final del trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A mi asesora interna M.Sc. Virginia Guerrero por la orientación, paciencia y dedicación en cada paso que se dio en este trabajo.

A mi asesor externo Ing. Gonzalo Nerio por su generosidad, paciencia, predisposición, orientación y facilitar los medios necesarios para desarrollar esta investigación.

A la empresa Agrobiotek Internacional por darme la oportunidad de realizar la investigación en sus instalaciones, por el acceso a sus productos biológicos y otros materiales para los ensayos y apoyo en general.

Al personal del Laboratorio de Agrobiotek Internacional por abrirme las puertas, compartir su experiencia y apoyo en algunas actividades; en especial al Técnico Carlos por compartir sus conocimientos, tiempo e incondicional colaboración.

A mis amigos de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, María Elena por siempre darme ánimos en finalizar el trabajo, El Sr Majano con sus consejos, Niña Paty de Marroquín por impulsarme a seguir adelante.

A la M. Sc. Iris Pérez una buena amiga y compañera de Distancia CIMAT quién desde el principio estuvo ayudándome y aconsejándome.

A la excelentísima Ministra de Cultura Mariemm Pleitez, por su incondicional apoyo en este proceso profesional en mi vida y al personal del MUHNES por su apoyo.

A mi amiga Doña Mayra Lara, quién a pesar de estar en el exterior su apoyo fue valioso y significativo.

A cada una de las personas y amigos que a pesar que no los menciono, pero están en mi mente y han sido un pilar significativo en mi formación profesional y de calidad humana.

CONTENIDO

RESUMEN	i
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVOS	3
Objetivo General:	3
Objetivos Específicos:	3
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
JUSTIFICACIÓN	6
MARCO TEÓRICO.....	8
Antecedentes	8
Generalidades de hongos productores de micotoxinas	9
Estructura de los hongos.	12
Hongos productores de micotoxinas.....	13
Generalidades de <i>Aspergillus</i>	14
Ciclo Biológico	16
Condiciones de crecimiento de los hongos en relación a la producción de micotoxinas	18
Micotoxinas.....	19
Condiciones de Contaminación	21
Toxicidad de las micotoxinas.....	22
Toxicología	23
Efectos de micotoxinas en la salud	24
Efectos de las Micotoxinas en el Hombre.....	24
Efectos de las Micotoxinas en los Animales.....	26
Aflatoxinas	28

Clasificación de las aflatoxinas.....	29
Nomenclatura.....	29
Mecanismo de Acción.....	30
Toxicidad	32
Metabolismo de las aflatoxinas.....	33
Condiciones favorables para la contaminación de aflatoxinas	35
Aflatoxinas en alimentos.....	35
Origen y cultura del maíz.....	38
Descripción botánica del maíz	38
Estrategias de prevención y control para minimizar la contaminación por micotoxinas en maíz	40
Método de Análisis para la detección de micotoxinas (ELISA) en alimentos	45
Reglamentación.....	49
Especificaciones Técnicas de Referencia FAO/OMS.....	51
Especificaciones técnicas del de maíz nixtamalizado en El Salvador (REGLAMENTO TÉCNICO SALVADOREÑO RTS 67.06.01:13)	52
Estrategias para reducir contaminación de micotoxinas en los alimentos	54
Impacto de las aflatoxinas en carcinoma hepatocelular.....	55
HIPOTESIS.....	57
Hipótesis alternativa (Ha):	57
Hipótesis nula (Ho):	57
METODOLOGÍA.....	58
Tipo de estudio.....	58
Descripción de la zona de estudio.....	58
Características físicas del Municipio de Suchitoto	59
Topografía.....	59

Climatología.....	60
Suelo	60
Ubicación del laboratorio Agrobiotek.	61
Fase de campo.....	61
Fase de Laboratorio.....	63
Descripción del Kit de Extracción: AgraQuant® Aflatoxin B1 ELISA test (Mycotoxins SH-AQ-Aflatoxin-B1).....	63
Propiedades	63
Diseño experimental (Romer Labs, 2021).....	66
Variables medidas	66
RESULTADOS.....	67
Muestreo No. 1. Prueba realizada el 27 de octubre de 2022. Laboratorio de AgroBiotek.....	68
Muestreo No. 2. Prueba realizada el 11 de noviembre de 2022. Laboratorio de AgroBiotek.....	73
Muestreo No. 3. Prueba realizada el 18 de noviembre de 2022. Laboratorio de AgroBiotek.....	78
DISCUSIÓN	83
CONCLUSIONES	86
RECOMENDACIONES.....	88
BIBLIOGRAFÍA	89
ANEXOS	
APÉNDICES	

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Estructura general de un microhongo.....	9
Figura 2	Hongos productores de micotoxinas.....	11
Figura 3	Estructura anatómica de una hifa.....	12
Figura 4	Carpóforo de <i>Aspergillus flavus</i>	13
Figura 5	Conidióforo de (<i>A. flavus</i>).....	15
Figura 6	Ciclo de vida de (<i>Aspergillus flavus</i>).	17
Figura 7	Fases de crecimiento fúngico.....	21
Figura 8	Estructura molecular de AFB ₁	28
Figura 9	Estructura química de AFB ₁	29
Figura 10	Mecanismo de acción de la Aflatoxina B ₁	32
Figura 11	Metabolismo de la Aflatoxina B ₁	34
Figura 12	Mapa global de ocurrencia de Micotoxinas y regiones en peligro toxicológico	37
Figura 13	Planta de maíz.....	38
Figura 14	Infección de maíz con AFB ₁	42
Figura 15	Proceso de Nixtamalización	45
Figura 16	Reactivos ELISA	47
Figura 17	Geografía del municipio de Suchitoto.....	59
Figura 18	Mapa de ubicación de Agrobiotek	61
Figura 19	Gráfico de la curva estándar de R ² para las muestras del primer muestreo.	72
Figura 20	Gráfico de la curva estándar de R ² para las muestras del segundo muestreo.....	77
Figura 21	Gráfico de la curva estándar de R ² para las muestras del tercer muestreo... ..	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	14
<i>Géneros de hongos productores de micotoxinas.</i>	14
Tabla 2	15
<i>Taxonomía de Aspergillus flavus causante de AFB₁.</i>	15
Tabla 3	30
<i>Características físicas de la AFB₁.</i>	30
Tabla 4	39
<i>Taxonomía de Zea mays.</i>	39
Tabla 5	48
<i>Comparación de métodos, ventajas y desventajas de determinación de aflatoxinas.</i>	48
Tabla 6	49
<i>Niveles máximos de aflatoxinas permitidos en países con legislación de acuerdo a la FDA.</i> 49	
Tabla 7	50
<i>Niveles máximos tolerados para las micotoxinas en los alimentos, en los productos lácteos y en las raciones animales (encuesta 2002/2003).</i>	50
Tabla 8	67
<i>Puntos de muestreo de colectas de muestras durante los tres muestreos del estudio</i>	67
Tabla 10. <i>Resultados del primer muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 630 nm, donde se procesaron 12 muestras.</i>	68
Tabla 11. <i>DELTA de resultados del primer muestreo de la cuantificación de absorbancia de AFB₁, se procesaron 12 muestras.</i>	69
Tabla 12. <i>Resultados de la concentración de Aflatoxina B₁ contenida en las muestras de masa de maíz. Primer muestreo.</i>	69
Tabla 13. <i>Tabla resumen para interpretación de los resultados con respecto a la cuantificación de absorbancia y concentración de las muestras analizadas del primer muestreo.</i>	70
Tabla 14. <i>Análisis estadístico aplicando R² para verificar la confiabilidad de los datos del primer muestreo</i>	71
Tabla 15. <i>Resultados del segundo muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 450 nm, donde se procesaron 10 muestras.</i>	73
Tabla 16. <i>Resultados del segundo muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 630 nm, donde se procesaron 10 muestras.</i>	73

Tabla 17. <i>DELTA de resultados del segundo muestreo de la cuantificación de absorbancia de AFB₁, se procesaron 10 muestras.</i>	74
Tabla 18. <i>Resultados de la concentración de Aflatoxina B₁ contenida en las muestras de masa de maíz. Segundo muestreo.</i>	74
Tabla 19. <i>Tabla resumen para interpretación de los resultados con respecto a la cuantificación de absorbancia y concentración de las muestras analizadas del segundo muestreo.</i>	75
Tabla 20. <i>Análisis estadístico aplicando R² para verificar la confiabilidad de los datos del segundo muestreo.</i>	76
Tabla 22. <i>Resultados del tercer muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 450 nm, donde se procesaron once muestras.</i>	78
Tabla 23. <i>Resultados del tercer muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 630 nm, donde se procesaron once muestras.</i>	78
Tabla 24. <i>DELTA de resultados del tercer muestreo de la cuantificación de absorbancia de AFB₁, se procesaron 11 muestras.</i>	79
Tabla 25. <i>Resultados de la concentración de Aflatoxina B₁ contenida en las muestras de masa de maíz. Tercer muestreo.</i>	79
Tabla 26. <i>Tabla Resumen de los resultados con respecto a la cuantificación de absorbancia y concentración de las muestras analizadas del tercer muestreo.</i>	80
Tabla 27. <i>Análisis estadístico aplicando R² para verificar la confiabilidad de los datos del tercer muestreo.</i>	81

RESUMEN

Las Aflatoxinas son tóxicos de efectos carcinogénicos y mutagénicos, producidas por diferentes especies de *Aspergillus*. La Aflatoxina B₁ (AFB₁) es la más frecuente de encontrar en tejidos vegetales. El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la presencia de Aflatoxina B₁ en masa de maíz de molinos artesanales del municipio de Suchitoto. El estudio se realizó aplicando la técnica ELISA. Para contribuir al estudio de la AFB₁, se realizó la investigación orientada a analizar y cuantificar los niveles de toxina presentes en la masa de maíz procedentes de molinos artesanales de once puntos del municipio de Suchitoto.

Cabe destacar que el estudio se realizó en 3 muestreos desarrollados en época lluviosa con una humedad relativa media de 65.5, el pH de las muestras tuvo un promedio de 6.8 a 7.2. En los puntos analizados los niveles de la toxina oscilaron de 0.096 a 1.91 de concentración de AFB₁, esas concentraciones se asociaron a los lugares donde los niveles de limpieza e inocuidad eran mínimos. La particularidad es que los niveles se encuentran dentro de los límites establecidos por la FAO/OMS y también de acuerdo a los niveles que el Reglamento Técnico Salvadoreño permite el cual es de 20 ug/kg, esto significa que la toxina, aunque son mínimas cantidades, pero son acumulativas en tejidos por tanto se debe priorizar la disminución de esta toxina.

INTRODUCCIÓN

En Latinoamérica el maíz (*Zea mays L.*) es un componente esencial en la dieta de las poblaciones, en especial las de menos recursos, ya que es utilizado como materia prima para la elaboración de cereales, harinas precocidas, aceites y alimentos para animales, por su bajo costo y por su valor nutritivo (Gimeno y Martins, 2011). Este grano básico se caracteriza por que las industrias lo almacenan por un tiempo indeterminado en silos y galpones, hasta que se acumule en suficiente cantidad para ser procesado o colocado en el mercado, este almacenamiento suele ser inadecuado (especialmente en términos de ventilación, temperatura, exposición a la luz, etc.) y provoca cambios físicos y químicos en el grano, lo que lleva a que diversas especies entren en el grano quebrado y se depositen en el exterior, favoreciendo la aparición de microorganismos (Soriano del Castillo *et al*, 2015). Pero también estos microhongos son capaces de colonizar los alimentos desde su producción en el campo o en la cosecha (Almudena & Lizaso, 2011).

La invasión, desarrollo y proliferación de estos hongos en los granos de maíz es de gran importancia ya que pueden conducir a la síntesis de metabolitos fúngicos, las llamadas micotoxinas, que son tóxicas para los animales y los humanos (Soriano del Castillo *et al*, 2015). De todas las micotoxinas conocidas en la actualidad, cinco adquieren gran importancia debido a que son contaminantes naturales de los alimentos, por ejemplo, de los cereales: Aflatoxinas, Ocratoxinas, Tricotecenos, Zearalenona y Fumonisininas (FAO/OMS, 2017). Las Aflatoxinas o AF, producidas por las especies *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, son las que contaminan con mayor frecuencia a los cereales, afectando principalmente al maíz, trigo y al arroz (FAO/OMS, 2018); la

más común y más toxica de todas es la AFB1, ya que en humanos se le atribuye cáncer hepático y en animales puede ocasionar mutagénesis, hepatotoxicosis y cáncer (Acuña *et al*, 2005).

La aflatoxina una de las micotoxinas más abundantes y contaminantes de alimentos, se la asocia comúnmente a granos de maíz, esta toxina se descubrió en la década de los 60's por la muerte de aves domésticas y se la llamó inicialmente la enfermedad X, por desconocerse en primera instancia su origen (Vargas y Velásquez, 2013). Actualmente, el 100% de los países desarrollados cuentan con normativas que regulan la AFB1. Al mismo tiempo, gracias a biotecnologías como las pruebas ELISA, el control, la detección y las pruebas cuantitativas son cada vez más fáciles, lo que permite en cierta medida controlar las aflatoxinas en el campo. Rápido, confiable y fácil (Abyntek, 2016).

En El Salvador, las mediciones de aflatoxinas en el maíz, uno de los granos básicos, se han registrado sólo a nivel de grano, y no se ha informado la presencia de aflatoxinas en niveles inferiores a los establecidos por la FAO/OMS. Sin embargo, también es importante evaluar si las aflatoxinas presentes en el maíz se conservan o destruyen luego del proceso tradicional llamado nixtamalización, por el que pasa el maíz para obtener la masa.

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar la presencia de Aflatoxinas B₁ en masa del maíz obtenida de molinos artesanales del municipio de Suchitoto, departamento de Cuscatlán, El Salvador.

Objetivos Específicos:

- Recolectar y analizar muestras de masa de maíz de molinos artesanales del municipio de Suchitoto, departamento de Cuscatlán, El Salvador.
- Cuantificar los niveles de Aflatoxinas B₁ totales mediante una prueba de anticuerpos (ELISA) en las muestras de masa de maíz recolectadas.
- Comparar los resultados obtenidos en cuanto al contenido de Aflatoxinas B₁ con los límites establecidos por la FAO/OMS.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por microhongos de varias especies del género *Aspergillus*, y son consideradas las micotoxinas con mayor riesgo potencial para la salud humana, cuyos efectos fisiopatológicos incluyen: daño hepático agudo, cirrosis, inducción de tumores, disminución de la eficacia del sistema inmunológico, teratogénesis, excreción por la leche y acumulación en tejidos (Vallejo López, 2012).

De acuerdo con Serrano-Coll y Cardona Castro (2015) la Aflatoxina B₁ (AFB₁) es un contaminante común en climas tropicales y subtropicales en alimentos almacenados (maní, pistachos, maíz, arroz); Esta micotoxina ha sido descrita como un potente carcinógeno alimentario y ha sido implicada en la etiología del carcinoma hepatocelular. Además, se ha relacionado con la inmunosupresión y deficiencias nutricionales graves.

Para Combata Prieto & Mildenberg Ortiz (2009), desde una perspectiva de salud, podría decirse que la aflatoxina es la micotoxina que plantea el mayor riesgo para la salud humana. El contacto humano con las aflatoxinas puede ocurrir tanto por ingestión directa de productos agrícolas contaminados (maíz y otras semillas) como por ingestión de productos animales que contienen residuos de aflatoxinas. En este caso, los alimentos susceptibles de contaminarse van desde el maíz y sus derivados hasta diversas carnes y alimentos.

En los productos agrícolas hay muchos factores que pueden influir en la contaminación con hongos productores de micotoxinas. Estos incluyen la resistencia genética del cultivo, las condiciones climáticas caracterizadas por altas temperaturas y humedad relativa, condiciones inadecuadas de transporte y almacenamiento y un secado insuficiente. En el maíz, de acuerdo a estudios se ha comprobado que la contaminación con aflatoxinas generalmente ocurre durante el cultivo y el almacenamiento; sin embargo, también es posible su contaminación desde el campo (Anguiano *et al.* 2005). Por lo tanto, la contaminación del producto puede ocurrir en cualquier punto de la cadena alimentaria, desde la cosecha, recolección, almacenamiento, transporte, procesamiento y conservación. (Combata Prieto & Mildenberg Ortíz, 2009) La contaminación del grano puede ocurrir antes o después de la cosecha. Esto ocurre debido a condiciones de estrés de las plantas o daño de insectos, permitiendo la invasión de esporas de hongos y provocando la producción de aflatoxinas (Acuña *et al.* 2005).

En el hombre, las Aflatoxinas B1 han sido responsables de casos como: hepatitis aguda, síndrome de Reye y cirrosis en niños mal nutridos (Combata Prieto & Mildenberg Ortíz, 2009). La mayoría de estas enfermedades afectan principalmente a los niños. Los niños son más susceptibles a las aflatoxinas que los adultos debido a su menor peso corporal, menor capacidad de desintoxicación, metabolismo más rápido y desarrollo incompleto de diversos tejidos y órganos. La ingestión de altas concentraciones de aflatoxina B1 puede ser mortal.

JUSTIFICACIÓN

Las aflatoxinas son sustancias extremadamente tóxicas causantes de cáncer en humanos y animales (FAO/OMS, 2017), Por ello, la investigación pretende identificar sus causas, efectos, rutas metabólicas y los límites permisibles de las condiciones ambientales, sociales y geográficas, tanto para la producción y el consumo local, como para la importación y exportación de materias primas, o para los medios de transporte. esencial para la asignación. Los productos serán regulados y estandarizados. Elaborado a base de masa de maíz y masa artesanal (Vallejo López, 2012).

La Aflatoxina B1 tiene actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. El principal síndrome que provocan es la hepatotoxicidad, que también puede provocar problemas renales. Los principales órganos afectados son el hígado, los riñones y el cerebro. Tienen un efecto inmunosupresor porque inhiben la fagocitosis y la síntesis de proteínas (los anticuerpos son proteínas) al alterar la síntesis de ADN, ARN y proteínas dentro de los ribosomas (Gimeno & Martins, 2011).

Hoy en día, la investigación de las aflatoxinas se realiza en todo el mundo, sin embargo, El Salvador no posee ningún registro de los niveles de contaminación presente en la masa de maíz nacional o alguna normativa de regulación propia (Vallejo López, 2012). Excepto la que propone la FAO/OMS (2004). Los reglamentos para las aflatoxinas son con frecuencia detallados y específicos para los alimentos cereales y semillas, para los productos lácteos y para las raciones animales.

Por este motivo la presente investigación es pionera en la determinación de Aflatoxina B1 en masa de maíz de consumo local, estableciendo una línea base de regulación para la producción

y comercialización de maíz ya que el subproducto de esta es utilizado en la dieta alimentaria de los salvadoreños.

Cereales como el maíz, muy utilizados para la alimentación humana y animal, suelen estar contaminados por varios hongos que sintetizan micotoxinas como las aflatoxinas. Estas micotoxinas se encuentran en derivados del maíz como la masa y pueden tener graves implicaciones para la salud de los consumidores (Villarreal, 2015).

Si el maíz y sus derivados se contaminan con este tipo de toxina, puede dañar tanto a humanos como a animales. Aproximadamente el 86% de la población consume maíz de diversas fuentes que, si se contaminan con aflatoxinas, pueden causar efectos en la salud a corto o largo plazo (Salazar, 2008). Por esto es fundamental su estudio para determinar causas, efectos, rutas metabólicas y así normar y estandarizar los límites permisibles.

Actualmente se están realizando investigaciones en todo el mundo para evaluar los efectos de las aflatoxinas en la salud de las mascotas. Se ha comprobado que: bajo aumento de peso, crecimiento lento, problemas reproductivos, enfermedades respiratorias, cambios en el sistema inmunológico e incluso la muerte del animal (Vega, 2011). Esto tiene implicaciones significativas para la industria agrícola de El Salvador, los pequeños y medianos empresarios y los distribuidores de materias primas para productos de maíz y sus derivados.

Como se mencionó anteriormente, la masa de maíz es un producto susceptible a la presencia de aflatoxinas, por lo que el presente estudio se realizó sobre masa de maíz proveniente de molinos artesanales (Vallejo López, 2012). Esto se debe al potencial contaminación que puede ocurrir en los productos de consumo y cómo esto puede afectar la salud a corto o largo plazo.

MARCO TEÓRICO

Antecedentes

Los primeros datos documentados de estas intoxicaciones datan de finales del primer milenio, y corresponden a la enfermedad conocida como Fuego de San Antonio, también conocido como ergotismo, enfermedad que afectó a un gran número de personas en Europa en la Edad Media. Esta intoxicación es causada por el consumo de centeno contaminado con alcaloides producidos por *Claviceps purpurea*. En épocas más recientes destaca la muerte de más de 100.000 pavos ocurrida en el Reino Unido en 1960 cuando estos fueron alimentados con un pienso a base de harina de cacahuete procedente de Brasil que contenía metabolitos secundarios producidos por *Aspergillus flavus*, y que, posteriormente, fueron denominados aflatoxinas por estar producidos por esta especie fúngica. Estas micotoxinas fueron los primeros compuestos identificados como tales (Marín *et al*, 2018). Posteriormente, se han ido identificando otras toxinas producidas por diferentes especies fúngicas, y en la actualidad se conocen más de 300 micotoxinas, entre las que se destacan las Aflatoxinas (AFs), la ocratoxina A (OTA), la patulina (PAT), la citrinina (CIT), los tricotecenos (TCTs) del tipo A como la toxina T-2 (T2) y la toxina HT-2 (HT2), los tricotecenos del tipo B como el deoxinivalenol (DON), el 3-acetildeoxinivalenol (3Ac-DON) y el 15-acetildeoxinivalenol (15Ac-DON), las fumonisinas (FBs), la zearalenona (ZEN), y los alcaloides ergóticos del cornezuelo de centeno (Ramos *et al*, 2020).

La clasificación de las diferentes micotoxinas ha sido realizada de acuerdo a múltiples criterios, entre los que se destacan, entre otros, el género fúngico que la produce (micotoxinas de *Aspergillus*, de *Penicillium*, de *Fusarium*, de *Alternaria*...), la fase de formación en el alimento

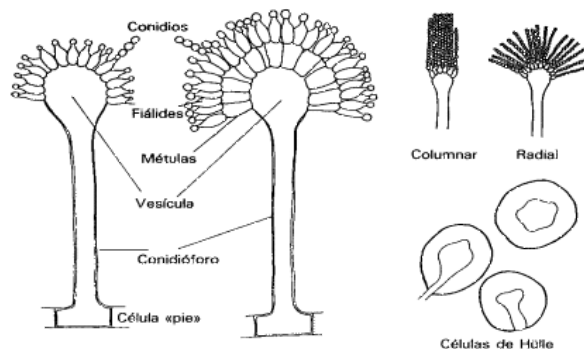
(micotoxinas de campo o precosecha, y de almacén o poscosecha), sus estructuras químicas (lactonas, cumarinas, sesquiterpenos...), el principal órgano o sistema al que afectan (hepatotoxinas, neurotoxinas, nefrotoxinas, inmunotoxinas...), los efectos que provocan (teratogénicas, mutagénicas, cancerígenas, alergénicas...) o sus orígenes biosintéticos (poli-cétidos, derivados de aminoácidos...) (Ramos *et al*, 2020).

Generalidades de hongos productores de micotoxinas

Cuando se habla del Reino de los Hongos, se hace referencia a un grupo de organismos que pueden clasificarse en levaduras, hongos filamentosos (mohos) y setas (Ver figura 1). Estos son organismos Eucariotas, multicelulares y filamentosos, constituidos por micelios verdaderos. Carecen de clorofila y están formadas por una serie de células alineadas, llamadas hifas, el micelio es el conjunto de hifas ramificadas y resulta visible sobre el alimento ya sea en la superficie o en el interior mediante un aspecto y color característico (OMS, 2018).

Figura 1

Estructura general de un microhongo.



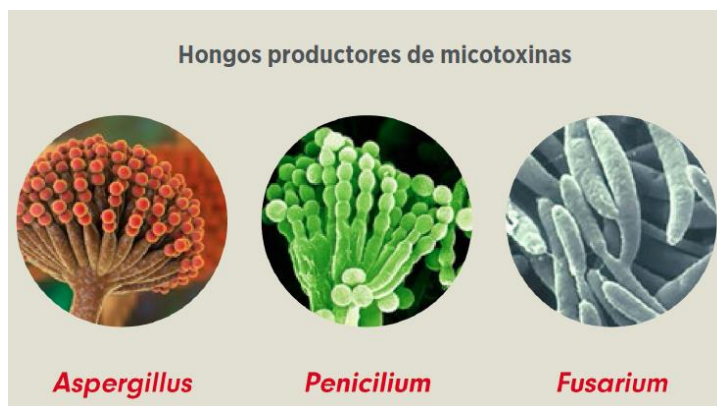
Nota: La figura presenta la estructura de un *Aspergillus* con cada una de las estructuras que identifican al microorganismo. Tomado de: (Ramos M. , 2014)

Los hongos constituyen un gran problema como contaminantes en los alimentos tanto a nivel económico como a nivel de salud. Son prácticamente omnipresentes y la variedad es enorme. Todos los hongos son aeróbicos y requieren oxígeno para vivir y reproducirse. Se reproduce por esporas y es altamente resistente a condiciones adversas como frío, calor, sequía y deficiencias de nutrientes (Vega, 2011). Las esporas pueden sobrevivir en el mismo lugar durante meses o años (inactivas) o ser transportadas a otros lugares por el aire u otros vectores. Una vez que encuentran condiciones favorables, comienzan a reproducirse nuevamente (Almudena & Lizaso, 2011).

IVAMI (2016) afirma que muchos hongos se encuentran en los alimentos y producen metabolitos tóxicos como las llamadas micotoxinas. Estas sustancias pueden provocar problemas como la intoxicación por hongos, una enfermedad que afecta a animales y humanos. Los principales hongos que se presentan en la micototoxicosis pertenecen a los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*. y *Penicillium* spp. (Ver Figura 2), otros géneros también tienen especies que producen micotoxinas. Se han identificado cientos de micotoxinas, pero no todas tienen efectos sobre la salud. Según los conocimientos actuales, hay pruebas de exposición humana a aflatoxinas, ocratoxinas, zearalenona y tricoteceno (T-2), pero tampoco se tiene en cuenta el estado de las micotoxinas presentes en el medio ambiente que pueden suponer riesgos para la salud de seres humanos y animales. poder.

Figura 2

Hongos productores de micotoxinas.



Nota: *Micrografías electrónicas a color de diferentes especies fúngicas que producen micotoxinas.* Tomado de: (Nutrinews, 2022).

Un mismo hongo puede producir simultáneamente diferentes tipos de micotoxinas, así que es muy posible que la dieta esté contaminada con varias micotoxinas (Almudena & Lizaso, 2011). Esto es importante ya que pueden presentarse efectos sinérgicos como son el caso de la Aflatoxina B1 (FAO, 2004). Cuando varios invaden un mismo alimento, existe competencia entre ellos en cuanto a crecimiento y producción de micotoxinas (Vega, 2011).

Todos los hongos son heterótrofos. Es decir, los hongos deben alimentarse de materia orgánica preformada, que utilizan como fuente de energía y carbono. Son células eucariotas y tienen un núcleo diferenciado con una membrana bien organizada. Tienen paredes celulares que son demasiado rígidas para absorber alimentos, pero en cambio absorben nutrientes simples y solubles obtenidos al descomponer polímeros utilizando enzimas extracelulares llamadas polimerasas. (Morales, 2008).

Estructura de los hongos.

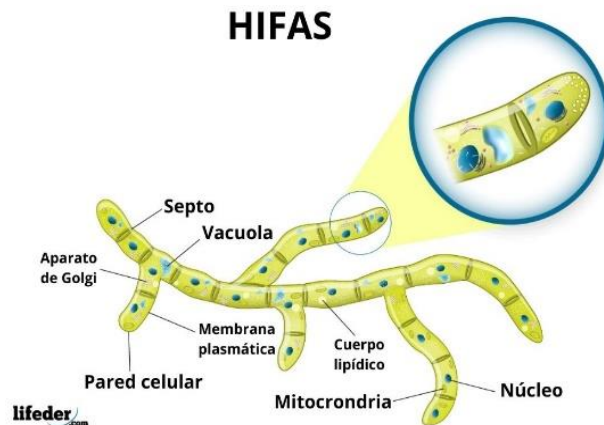
De acuerdo a CK-12 (2021), las partes más importantes de un hongo incluyen:

Pared celular: Capa alrededor de la membrana celular de las células fúngicas, que consiste principalmente en quitina y otros polisacáridos. Esto es similar a lo que se encuentra en las células vegetales, pero las paredes celulares de las plantas contienen polisacáridos de celulosa.

Hifas: Estos son haces de hilos que se conectan entre sí y se apilan para formar micelio (Figura 3). Las hifas y el micelio ayudan a los hongos a absorber nutrientes de otros organismos. La mayor parte del micelio se esconde en lo profundo de las fuentes de alimento de los hongos, como el material podrido del suelo, las hojas caídas, la madera podrida y los animales muertos.

Figura 3

Estructura anatómica de una hifa



Nota: que es la unidad estructural y funcional de un hongo y que a su vez constituye el micelio.

Fuente: (Parada, 2020).

Estructuras especializadas para la reproducción: Un ejemplo es un cuerpo fructífero. Los hongos son cuerpos fructíferos y forman parte de hongos que producen esporas (ver Figura 4). La espora es la unidad reproductiva básica de los hongos. El micelio permanece oculto hasta que se desarrollan uno o más cuerpos fructíferos.

Figura 4

Carpóforo de Aspergillus flavus



Nota: Se muestra la estructura reproductiva del *A. flavus*. Tomado de: (Parada, 2020)

Los cuerpos fructíferos generalmente se encuentran en la superficie de la fuente de alimento y no se esconden dentro de ella. Esto significa que las esporas reproductivas pueden desprenderse fácilmente y ser arrastradas por el viento, el agua o los animales. Los cuerpos fructíferos suelen ser el único signo de la presencia de un hongo. Como un iceberg, el cuerpo fructífero es sólo una pequeña parte de todo el hongo y la mayoría del hongo es invisible.

Hongos productores de micotoxinas

Las micotoxinas son producidas principalmente por 5 tipos de hongos: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Claviceps* y *Alternaria*. En la tabla siguiente (Ver tabla 1), se muestran las toxinas producidas por estos géneros:

Tabla 1

Géneros de hongos productores de micotoxinas.

Hongo	Toxina
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxinas Sterigmatocistina Ocratoxina A
<i>Fusarium</i>	Tricotocenos (DON, NIV, Toxina T2, DAS) Zearalenonas Fumonisinias Fusarina Moniliformina
<i>Penicillium</i>	Patulina Citrinina Ocratoxina A
<i>Alternaria</i>	Alternariol Ácido tennazónico
<i>Claviceps</i>	Alcaloides

Nota: Se muestra a los hongos productores de micotoxinas y cada una de sus toxinas. Tomado de: (Almudena & Lizaso, 2011).

Generalidades de *Aspergillus*

Aspergillus flavus (Ver tabla 2) es un hongo Ascomycota que se suele asociar con aspergilosis pulmonar y se cree que causa con frecuencia infecciones de córnea y nasoorbitales, además de ser alergénico y productor de micotoxinas (Abarca, 2010).

Tabla 2

Taxonomía de Aspergillus flavus causante de AFB₁.

Dominio	Eukarya
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Eurotiomycetes
Orden	Eurotiales
Familia	Aspergillaceae
Género	<i>Aspergillus</i>
Especie	<i>A. flavus</i>

Nota: Taxonomía de la especie *A. flavus*. Tomado de: (Index Fungorum, 2023)

Figura 5

Conidióforo de (A. flavus)



Nota: Se observa una micrografía con microscopio compuesto de campo claro de *Aspergillus flavus*.

Ciclo Biológico

Aspergillus tiene un ciclo biológico simple, y una de sus principales características es su alta capacidad de esporulación, dando como resultado la formación de altas concentraciones de esporas en el aire (Torres, 2011).

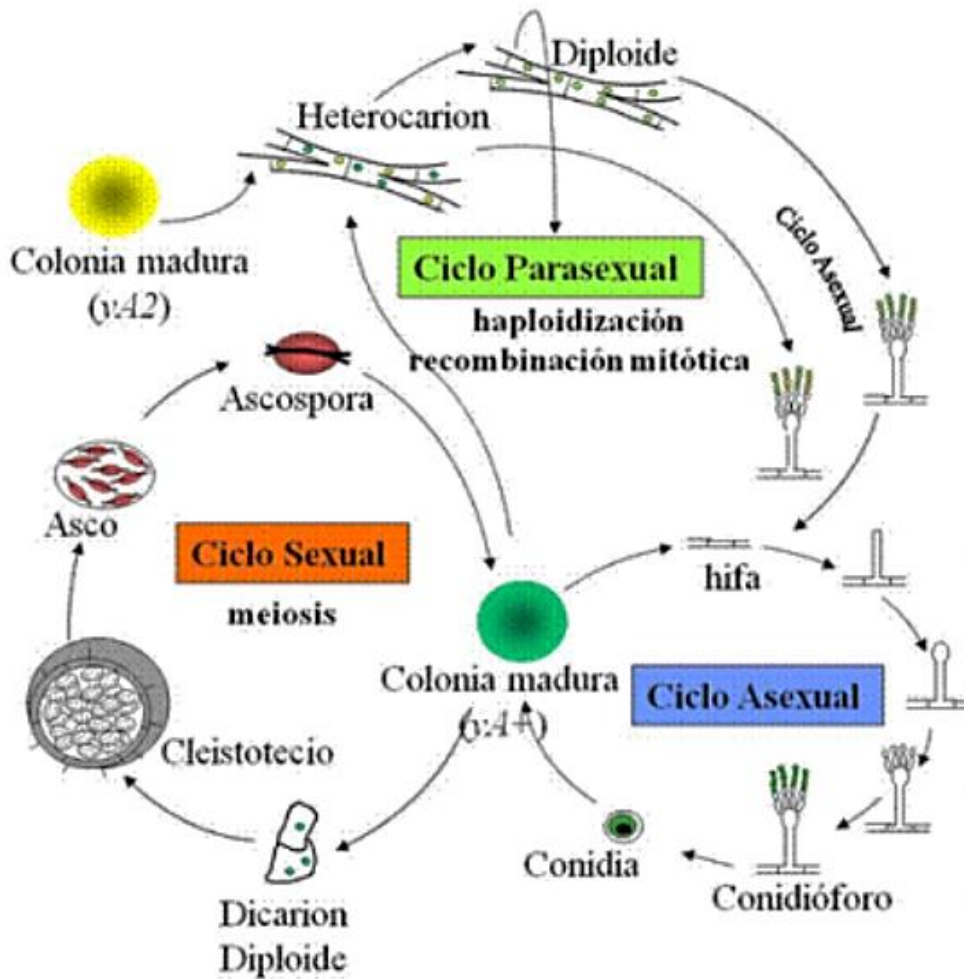
Aspergillus flavus se presentan en cadenas y tienen conidios que se originan a partir de células especializadas llamadas esterigatas o fiálides. Los conidióforos tienen células basales o podocitos bien diferenciados. Los órganos reproductores asexuales se parecen al hisopo o al aspersor y son el origen de la palabra *Aspergillus*. Las fiálides pueden presentarse en una o dos series: fiálides primarias y secundarias, respectivamente. En la segunda fila, las fiálides primarias actúan como portadoras de las fiálides secundarias, a partir de las cuales se desarrollan las conidiósporas. Por otro lado, existe una sola serie de fiálides de las que se originan las conidiósporas. Cada fiálide no es más que una célula con un núcleo que se divide en dos partes. El núcleo que queda en el exterior se rodea de plasma y membranas y se transforma en conidios. Si el ambiente es favorable, el núcleo que queda en la base de la fiálide se dividirá nuevamente y formará otra espora. Por tanto, los conidios más antiguos y maduros de la cadena son los más externos, es decir, los más alejados de la fiálide de la que surgieron. (Medina, 2017)

Al germinar una conidiospora de *Aspergillus* en un medio favorable produce un micelio vegetativo del cual nacen los conidióforos que terminan en una vesícula aspergilar; de ella se originan una o varias filas de fiálides y a partir de éstos se forman las conidiosporas (esporas

asexuadas externas) y que al caer de nuevo al medio reinician el ciclo asexual (Medina, 2017). El ciclo completo del *Aspergillus spp.* se observa en la figura 6.

Figura 6

Ciclo de vida de (Aspergillus flavus).



Nota: *A. flavus* forma colonias de crecimiento rápido, de 3 a 5 días; comienzan con una tonalidad blanco-amarillenta, algodonosas; con el tiempo se tornan pulverulentas y con tonalidades verdosas o verde-amarillentas. Presenta tres tipos de ciclos sexuales, de reproducción. Tomado de (Medina, 2017).

Condiciones de crecimiento de los hongos en relación a la producción de micotoxinas

Para Vega (2011), diferentes hongos tienen requerimientos específicos de nutrientes y condiciones externas. La fuente de carbono (tipo de azúcar, ácidos grasos, etc.) es importante, al igual que la fuente de nitrógeno, el pH y la presencia de iones metálicos. Lo anterior explica por qué ciertos hongos crecen mejor con un alimento que con otro incluso si las condiciones previas como luz, temperatura y humedad son las mismas.

Se puede mencionar que el maíz, trigo y maní son susceptibles a la contaminación por hongos productores de Aflatoxinas, por poseer esta una composición ideal de nutrientes (FAO/OMS, 2017).

La capacidad de producción del hongo y la cantidad de micotoxina producida depende de la composición del alimento y varía de un producto a otro. Algunos fenotipos de plantas son resistentes, tienen propiedades físicas que previenen la entrada de hongos o humedad, o contienen compuestos que inhiben sistemas enzimáticos importantes en el proceso de producción de micotoxinas. Es importante reconocer que las condiciones óptimas para la producción de micotoxinas no son necesariamente las mismas que las condiciones óptimas para el crecimiento de hongos. Sin embargo, si podemos controlar el crecimiento de hongos, podemos controlar indirectamente la producción de micotoxinas (Vega, 2011). Los alimentos pueden contaminarse cuando los hongos se desarrollen en los cultivos en el campo durante la cosecha, en el almacenamiento o durante el procesamiento de los alimentos.

Según Almudena & Lizaso (2011), los hongos que invaden los granos pueden clasificarse en dos grupos diferentes:

Hongos de campo: invaden los granos antes de la cosecha o tras la siega. Incluye distintas especies que requieren altos niveles de humedad en el grano (20-22%). Son típicos los géneros *Alternaria* y *Fusarium*.

Hongos de almacenaje: invaden el grano a contenidos inferiores de humedad. Géneros como *Aspergillus* y *Penicillium*.

Muchos hongos no son productores de micotoxinas y pueden invadir los granos, por lo que los granos mohosos no son necesariamente tóxicos. De manera similar, las micotoxinas pueden inactivarse mediante procesos químicos o cambios en factores ambientales mientras permanecen en el sustrato, por lo que pueden detectarse incluso en ausencia de bacterias productoras (Combita Prieto & Mildenberg Ortíz, 2009).

Micotoxinas

Las micotoxinas, u hongos o toxinas, son compuestos que se producen durante las etapas finales y estacionarias del crecimiento y, a menudo, están asociadas con la diferenciación y la esporulación. Se trata de moléculas relativamente pequeñas ($P_m < 700$). La mayoría de estos metabolitos secundarios se originan en la vía de las policetonas y son la fuente de la mayoría de las micotoxinas. Existen otras vías biosintéticas, pero son más complejas, y esta complejidad está

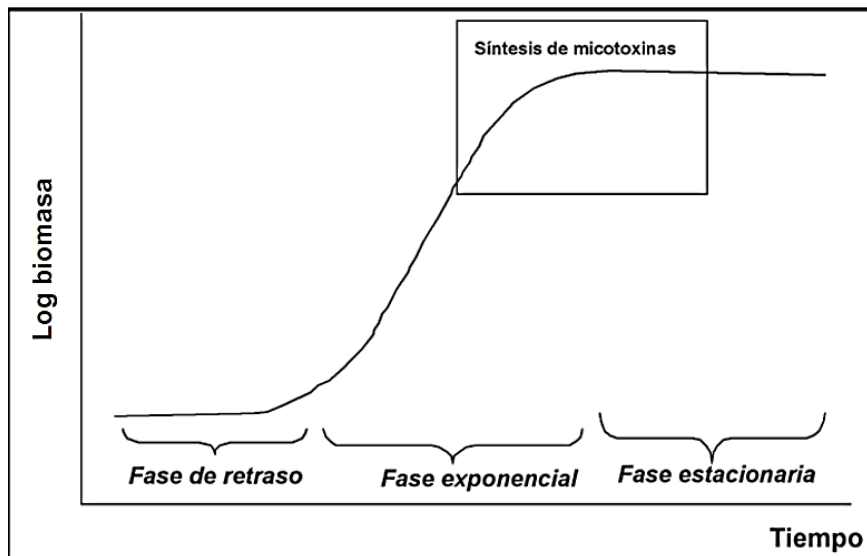
relacionada con el pequeño número de especies de hongos capaces de producir micotoxinas., Soriano del Castillo *et al.* (2015).

Las micotoxinas pueden contaminar los alimentos, o los piensos, o las materias primas utilizadas para su elaboración, originando un grupo de enfermedades y trastornos, denominados Micotoxicosis, y que resulta tóxicos para el hombre o los animales. Además, hay que tener en cuenta que la presencia de estas micotoxinas en los alimentos puede ser individual o simultánea con otras, lo que puede provocar efectos sinérgicos en su acción sobre el organismo aumentando así su toxicidad, Soriano del Castillo *et al.* (2015).

Para su crecimiento, los hongos utilizan muchas sustancias químicas, los llamados metabolitos primarios, principalmente ácidos nucleicos, proteínas, carbohidratos y lípidos. El uso de estos metabolitos primarios está asociado con etapas de crecimiento rápido. Los metabolitos secundarios son un conjunto de compuestos que no son esenciales para el crecimiento vegetativo en cultivos puros. Este grupo incluye antibióticos y micotoxinas. Las micotoxinas suelen aparecer al final de la fase logarítmica o al comienzo de la fase estacionaria del crecimiento del moho (Ver figura 7) Soriano del Castillo *et al.* (2015).

Figura 7

Fases de crecimiento fúngico.



Nota: Se muestra en la figura la localización de la síntesis de micotoxinas. Tomado de: (Soriano del Castillo *et al*, 2015).

Condiciones de Contaminación

Según Almudena & Lizaso (2011), el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas requieren ciertos condicionantes ambientales, entre ellos los siguientes:

Factores físicos: Humedad y agua disponible, temperatura, zonas de microflora (pequeñas zonas del alimento con alto contenido en humedad), e integridad física del grano o del alimento.

Agua disponible: Merece especial mención el concepto de actividad de agua o agua disponible, normalmente designada como aw. La aw indica la cantidad de agua disponible para el desarrollo de los microorganismos, una vez se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema

alimento/medio ambiente. La mayor parte de los hongos que contaminan los cereales, por ejemplo, necesitan valores superiores a 0.7.

Factores químicos: Composición del sustrato, pH, nutrientes minerales y disponibilidad de oxígeno.

Factores biológicos: presencia de invertebrados y estirpes específicas (en una misma especie fúngica existen estirpes productoras de micotoxinas y otras que son incapaces de producirlas).

Los factores ambientales mencionados son los que condicionan la contaminación fúngica de los alimentos almacenados. La investigación aplicada a la calidad de los piensos y los granos se ha dirigido en las últimas décadas al control de los hongos, pues se han identificado como una de las principales causas del deterioro nutricional y organoléptico del grano y pienso almacenado (Soriano del Castillo *et al*, 2015).

Toxicidad de las micotoxinas

La contaminación múltiple en los alimentos aumenta el efecto tóxico de las micotoxinas y su impacto en el desempeño productivo de los animales. Con este tipo de toxinas, son posibles efectos tanto aditivos como sinérgicos, dependiendo de muchos factores (Nutrinews, 2021).

No todas las micotoxinas son iguales, ni tampoco su impacto en los animales y humanos. La diversidad de especie, la diferencia en edades y, lo que es más importante, el paso por las distintas etapas de producción, presentan diferentes niveles de tolerancia a diversas micotoxinas y

es aquí donde se suele “el todo por el nada” y empezamos a evaluar erróneamente el riesgo real de micotoxinas (Nutrinews, 2021).

Sin embargo, la contaminación por micotoxinas puede sospecharse por la presencia de mohos o granos fermentados. Sin embargo, en la mayoría de los casos, la contaminación no puede sospecharse ni detectarse mediante inspección visual, incluso a niveles elevados. A veces, no hay una alteración particular del aspecto externo, ni olor, ni sabor, ni insectos. Que no existan signos físicos de contaminación no significa que no esté contaminado en absoluto. Incluso las materias primas de buen aspecto pueden tener un nivel de contaminación mayor que las de mal aspecto (Nutrinews, 2021).

Toxicología

Las micotoxicosis pueden clasificarse como agudas o crónicas. La *toxicidad aguda*, generalmente, tiene un inicio rápido y una respuesta tóxica (Síndrome de Turquía X, ergotismo humano, estaquibotriotoxicosis), mientras que la *toxicidad crónica* se caracteriza por una exposición a dosis bajas durante un largo período, lo que resulta en cánceres y otros efectos generalmente irreversibles. Casi con certeza, la principal alteración de la salud humana y animal, debido a micotoxina, está relacionada con la exposición crónica (inducción del cáncer, toxicidad renal y inmunosupresión) (Guerrero & Parreño, 2016).

Efectos de micotoxinas en la salud

Elevados niveles de micotoxinas en la dieta pueden causar efectos adversos agudos y crónicos sobre la salud del hombre y una gran variedad de especies animales. Los efectos adversos pueden afectar a distintos órganos, aparatos o sistemas, especialmente al hígado, riñón, sistema nervioso, endocrino, e inmunitario. Los síntomas causados por las micotoxinas suelen ser tan diferentes como lo son las propias estructuras químicas de dichas toxinas (Soriano del Castillo *et al*, 2015).

De acuerdo a Ruíz (2016), las micotoxinas se destacan por su elevada toxicidad, como es el caso de las aflatoxinas que se encuentran entre los hepatocancerígenos naturales más potentes conocidos hasta ahora, otras pueden afectar al riñón (ocratoxina A, citrinina), el sistema nervioso (patulina, tremórgenos), o el aparato reproductor (zearalenona). Algunas presentan efectos tóxicos múltiples en el hombre y en los animales (Tricotecenos) o están muy probablemente asociadas a la alta incidencia de cáncer de esófago en ciertas poblaciones (Fumonisin).

Efectos de las Micotoxinas en el Hombre

No todas las micotoxinas son igualmente peligrosas. La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) ha clasificado las micotoxinas en función de su relación con la producción de cáncer. Por ejemplo, las cuatro aflatoxinas (AFs) principales (AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂) pertenecen al grupo 1, esto es, micotoxinas de las que se han encontrado suficientes evidencias para asegurar su carcinogenicidad en humanos, especialmente debido a su relación con

el carcinoma hepatocelular. De hecho, la AFB₁ es el agente cancerígeno de origen natural más potente conocido hasta la fecha. Por su parte, la aflatoxina M₁ (AFM₁), las FBs y la OTA se encuentran en el grupo 2B, lo que supone que existe una evidencia limitada de una asociación de estos compuestos con el cáncer en seres humanos (calificándose por ello como posiblemente carcinogénicos para humanos), mientras que la ZEN, el DON, las toxinas T2/HT2, la PAT y la CIT se clasifican en el grupo 3, con limitadas o insuficientes evidencias en animales (siendo por ello no clasificables como carcinogénicas para humanos (Marín *et al*, 2013).

Los órganos afectados por los efectos tóxicos de las micotoxinas son muy variados, y es habitual que el efecto sea multiorgánico. Por otra parte, desde hace tiempo se sabe que estos compuestos generan deficiencias en el funcionamiento del sistema inmune (Marín *et al*, 2013), provocando daños insidiosos más difíciles de evaluar, lo que hace que los individuos afectados se vean más expuestos a infecciones secundarias (Ramos *et al*, 2020).

Los síntomas que una intoxicación por micotoxinas puede comportar son extremadamente variados, lo que suele conllevar una dificultad añadida al diagnóstico de una micotoxicosis. Así, dependen de factores como la especie afectada, la edad, el sexo, su estatus nutricional, etc. Generalizando, se podría decir que en el ser humano o en los animales las AFs causan carcinogénesis, daño hepático agudo, cirrosis y teratogénesis, la OTA nefropatía, vómitos, teratogénesis, mutagénesis y embriotoxicidad, las FBs neurotoxicidad, nefrotoxicidad, edema pulmonar y cerebral, hepatotoxicidad y lesión cardíaca, la ZEN síndrome estrogénico y problemas reproductivos, la PAT trastornos gastrointestinales y neurológicos, temblores corporales y

mutagenicidad, y el gran grupo de los TCTs toda una serie de síntomas complejos que incluyen rechazo del alimento, vómitos, diarrea, pérdida de atención, hemorragias, edemas, taquicardia, desórdenes sanguíneos, alteración del sistema nervioso, lesiones necróticas cutáneas o bucales, etc., aunque la aparición de cada uno de los síntomas anteriormente enumerados depende en gran medida de la especie animal afectada (Marín et al, 2013).

Hay que destacar que los casos de toxicidad aguda suelen estar más presentes en animales que en seres humanos, estando en este último caso ligados principalmente a condiciones socioeconómicas débiles, por deficiencias en el abastecimiento de alimentos o en el control de la seguridad alimentaria. Se han descrito casos de brotes agudos de aflatoxicosis en humanos, como el que aconteció en Kenia en 2004 que originó 317 afectados, con un total de 125 fallecimientos (39,4% de mortalidad) (Lewis *et al*, 2005). No obstante, tanto en animales como en seres humanos lo normal es la toxicidad crónica múltiple, es decir, la ingesta prolongada en el tiempo de dosis pequeñas de muchas micotoxinas de forma simultánea, aportadas por los diferentes componentes de la dieta. Los efectos sinérgicos que las combinaciones de dichas toxinas pueden tener sobre la toxicidad final de estos compuestos es algo que aún está lejos de estar completamente comprendido y que puede condicionar en el futuro una revisión del marco legislativo (Ramos et al, 2020).

Efectos de las Micotoxinas en los Animales

En el caso de los animales, e igual que ocurre con otros compuestos fisiológicamente activos, las mico-toxinas son capaces de inducir efectos agudos y crónicos. Generalizando, en las micotoxicosis agudas en animales se dan episodios de hepatitis, hemorragias, nefritis, necrosis del

epitelio oral y entérico y muerte. Las micotoxicosis crónicas acarrear una disminución de la productividad en forma de una tasa de crecimiento más lenta, una producción láctea reducida, una tasa de supervivencia inferior y una calidad inferior del animal en el mercado. El consumo de niveles bajos de micotoxinas a través de los piensos, debido a la supresión en la respuesta inmune humoral, predispone al animal a padecer infecciones bacterianas, parasitarias y víricas (Marín *et al*, 2013).

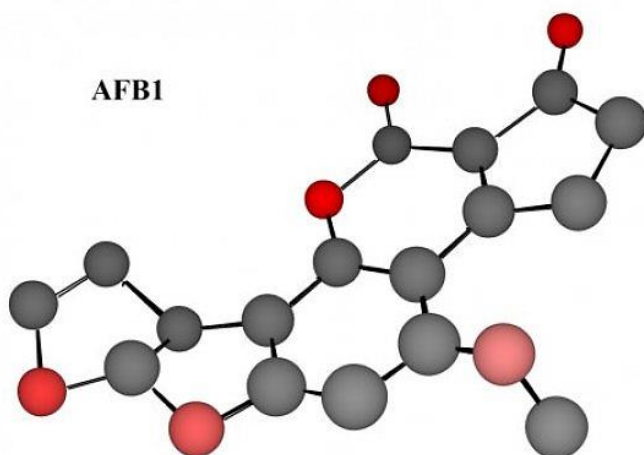
En términos generales, las micotoxinas, o sus metabolitos tóxicos, pueden ocasionar en los animales inmunosupresión, carcinogénesis, teratogénesis, y cuadros clínicos de hepatotoxicidad, nefrotoxicidad, mielotoxicidad, neurotoxicidad, toxicidad pulmonar y endocrina, siendo los mecanismos más importantes para la aparición de tales manifestaciones el estrés oxidativo, la genotoxicidad y ciertas enfermedades crónicas (Kolpin *et al*, 2014). En los animales de granja se han descrito varios síndromes específicos relacionados con la exposición a algunos tricotecenos, ZEN o FBs. Estos síndromes cursan con inapetencia, vómitos, anorexia, lesiones orales y gastrointestinales en el primer caso, con problemas reproductivos en el segundo y con leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcino en el último. Peces, conejos, pollos y cerdos son más sensibles a las micotoxicosis que los rumiantes (siendo el ganado bovino más sensible que el ovino o caprino), debido probablemente a la capacidad degradativa de las micotoxinas por parte del microbiota ruminal (Ramos *et al*, 2020).

Aflatoxinas

El nombre de las aflatoxinas hace referencia a ser biosintetizadas por el hongo *Aspergillus flavus* y fue propuesto en 1962 por sus descubridores. La primera letra, la A, hace referencia al género *Aspergillus*, las tres siguientes, FLA, proceden de la especie *flavus* y el término Toxina se refiere a su efecto tóxico. En cuanto a la aflatoxina B, se le denomina así por el color de la fluorescencia que emite bajo la luz UV: azul (Blue) (Soriano del Castillo *et al*, 2015).

Las Aflatoxinas son sustancias biogénicas y están estructuralmente relacionadas. Químicamente son cumarinas sustituidas, conteniendo anillos de bifurano y configuración tipo lactona, comunes a todas ellas (Ver Figura 8) (Vega, 2011). Todas ellas son muy fuoescuentes, habiéndose aprovechado esta propiedad como base de sus procedimientos analíticos (Soriano del Castillo 2015). Son poco solubles en agua, termorresistentes y estables en un rango entre 3 a 10. Poseen puntos de fusión superiores a los 250°C (Vallejo López, 2012). Se conocen más de una veintena de aflatoxinas (AF) distintas pero relacionadas estructuralmente. Estas toxinas son producidas por el metabolismo secundario de los hongos aflatoxigénicos como de las transformaciones que sufren estos compuestos al ser ingeridos y metabolizados por los animales (Combita Prieto & Mildenberg Ortiz, 2009).

Figura 8 Estructura molecular de AFB₁



Nota: Estructura (AFB₁) para conocimiento general. Fuente: (CIBICI, 2022).

Clasificación de las aflatoxinas

Elika (2013), menciona que aunque han sido identificados al menos 20 tipos diferentes de aflatoxinas, existen cuatro aflatoxinas principales: aflatoxina B₁, aflatoxina B₂, aflatoxina G₁ y aflatoxina G₂. Además, es de especial importancia la Aflatoxina M₁, derivada de la aflatoxina B₁, que es excretada en la leche de las hembras de los mamíferos por ingesta de pienso contaminado con Aflatoxina B₁. De la misma forma, a partir de la aflatoxina B₂ se forma la aflatoxina M₂. Por ello, las aflatoxinas M₁ y M₂ aparecen en la leche, la orina y las heces.

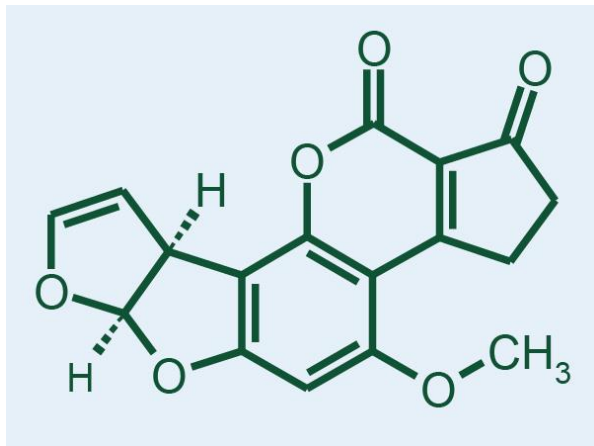
Todas las aflatoxinas son carcinogénicas, mutagénicas y teratogénicas, pero la aflatoxina B₁ es considerada la más tóxica estando clasificada como cancerígena para el ser humano y la aflatoxina M₁, como posiblemente cancerígena para el ser humano (Elika, 2013).

Nomenclatura

Aflatoxina B₁: 2, 3, 6a α , 9a α -TETRAHIDRO-4-METIL CICLOPENTANO [C] FURO [3', 2': 4,5] FURO [2,3-h] [1] BENZO-PIRANO-1,11-DIONA (Urrego & Díaz, 2006) (Ver figura 9).

Figura 9

Estructura química de AFB₁



Nota: Se muestra la estructura química de la Aflatoxina B₁
Tomado de: (Richard, 2015).

Tabla 3

Características físicas de la AFB₁.

Forma	Cristales
Punto de fusión	268–269°C
Fluorescencia	Azul
UV máx. (etanol)	362 nm
Peso molecular	312.0633
Fórmula molecular	C ₁₇ H ₁₂ O ₆

Nota: Se listan algunas características físicas y moleculares de la AFB₁. Tomado de: (Nutrinews, 2021).

Mecanismo de Acción

La aflatoxina B₁ (AFB₁), se considera la más importante de toda la serie, normalmente aparece con mayor frecuencia y a mayor concentración que las restantes aflatoxinas, aunque las concentraciones relativas entre ellas y la frecuencia de su aparición puede variar entre márgenes muy amplios dependiendo de la cepa fúngica, del sustrato de crecimiento y de las condiciones ambientales (Burdaspal, 2018).

La AFB₁ es absorbida en el intestino delgado y transportada por los glóbulos rojos y las proteínas plasmáticas hasta el hígado, mayoritariamente por vía portal. En la figura 10 se esquematiza el mecanismo de acción de la AFB₁. La toxina entra en la célula y es metabolizada en el retículo endoplásmico para ser hidroxilada y transformarse en varios compuestos tales como las aflatoxinas P1, M1 y Q1, principalmente (Soriano del Castillo *et al*, 2015).

Guzmán de Peña (2007), menciona que esta micotoxina se sintetiza por la ruta metabólica de los policétidos y las reacciones involucradas incluyen condensación, oxidación, reducción,

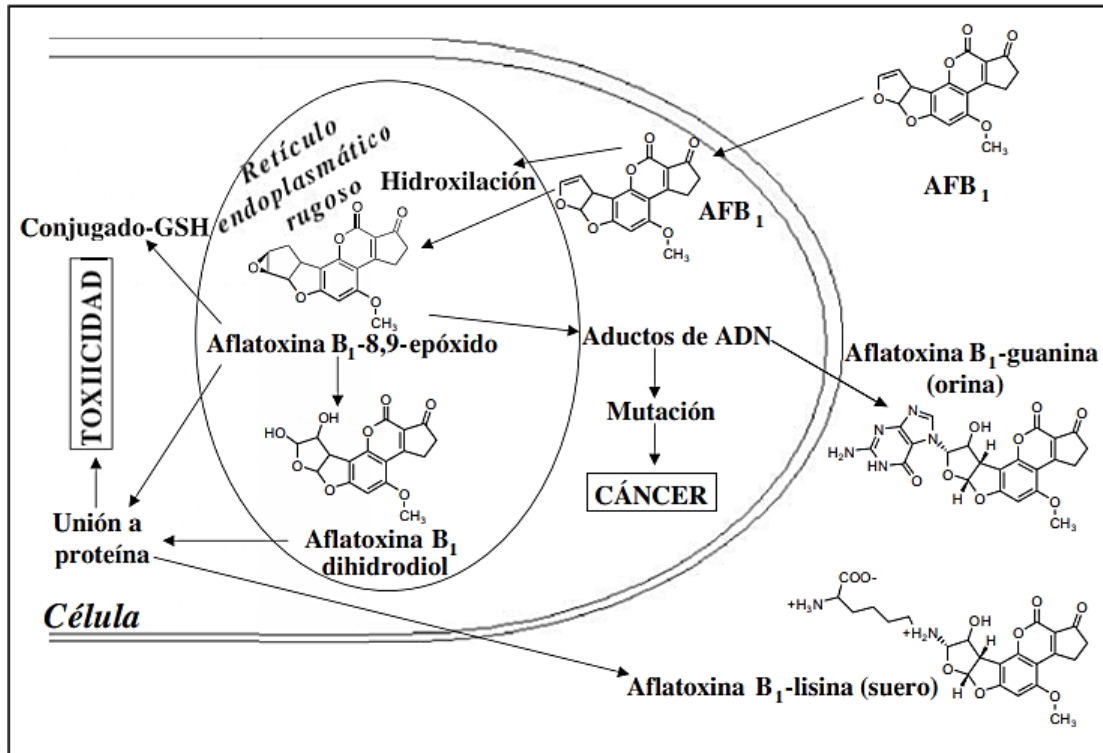
alquilación y halogenación, llevando a la formación de una molécula que consiste en un anillo cumarín unido a una unidad bisdihidrofurano y a una ciclopentanona. Estos metabolitos se forman por la condensación del acetil-coenzima A y malonil coenzima A, dando lugar al acetil-S Coenzima A, la cual será la molécula iniciadora de la AFB₁. Dentro de la vía biosintética, la formación de la versicolorina A es particularmente relevante, ya que es la primera molécula en la vía de la AFB₁ que contiene un doble enlace en la posición 8,9 de la molécula del bisfurano. Este doble enlace es el blanco para la activación de una molécula altamente reactiva.

Su acción carcinogénica se basa en la biotransformación por el sistema hepático microsomal P450 a AFB₁-8,9-epóxido, un intermediario altamente reactivo capaz de unirse a las proteínas, a los ácidos ribonucleico y desoxirribonucleico; formando un compuesto estable con el N7 de los residuos guanil que puede causar mutaciones en el codón 249 del gen p53 supresor de tumores. Esta alteración es característica de varios carcinomas, especialmente del carcinoma hepático en el hombre. La AFB₁-8,9-epóxido forma uniones covalentes (aductos) con los residuos de guanina del ADN, que se excretan por vía urinaria y pueden utilizarse como biomarcadores de exposición en los grupos a riesgo de cáncer del hígado (Urrego & Díaz, 2006).

La AFB₁ ha despertado un gran interés, debido a que existen suficientes datos experimentales que indican que esta aflatoxina tiene actividad tóxica, carcinogénica y mutagénica en animales experimentales, además diversos estudios epidemiológicos indican que la AFB₁ está involucrada en la incidencia de neoplasias gastrointestinales y hepáticas en países de África, Filipinas y China. Aunado a esto, el Instituto Internacional de Investigación en Cáncer, ha clasificado a la AFB₁ como un carcinógeno Clase 1. En este grupo están considerados los agentes que son carcinogénicos para los seres humanos (Guzmán de Peña, 2007).

Figura 10

Mecanismo de acción de la Aflatoxina B₁.



Nota. Su acción carcinogénica se basa en la biotransformación por el sistema hepático microsomal P450 a AFB₁-8,9-epóxido, un intermediario altamente reactivo capaz de unirse a las proteínas, a los ácidos ribonucleico y desoxirribonucleico; La AFB₁-8,9-epóxido forma uniones covalentes (aductos) con los residuos de guanina del ADN, que se excretan por vía urinaria y pueden utilizarse como biomarcadores de exposición en los grupos a riesgo de cáncer del hígado. *Tomado de* (Soriano del Castillo *et al*, 2015).

Toxicidad

La Unión Europea ha determinado que la aflatoxina (AFB₁) es un agente cancerígeno debido a que existe el riesgo de padecer cáncer hepático, incluso en dosis bajas (Lerda, 2011). Las aflatoxinas pueden producir toxicidad aguda debido a que se produce al ingerir grandes cantidades,

una vez en el hígado, dan lugar a una infiltración de lípidos que originará necrosis hepática o nefritis, por otro lado, los efectos crónicos son los más frecuente debido al consumo de alimentos contaminados con niveles bajos de aflatoxinas, ya sea durante semanas o meses, las mismas que pueden producir daño celular, carcinogenicidad, teratogenicidad y mutagenicidad en animales (Bogantes , 2008). Actualmente, se estima que la ingesta humana de aflatoxinas oscila entre 0 y 30000 ng Kg-1 por día con un valor medio de 10 a 200 ng Kg-1 por día (Norman & Kaplan, 2015).

Metabolismo de las aflatoxinas

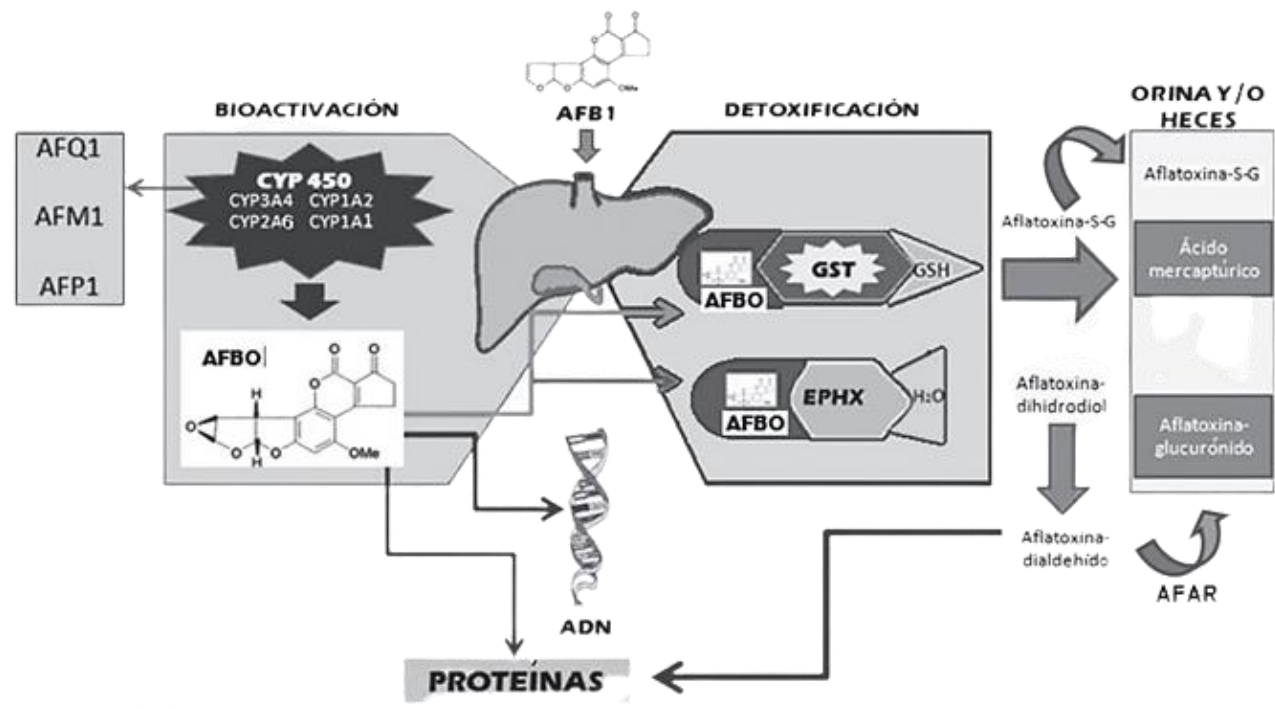
Según Villarreal (2015), para que la acción tóxica de la aflatoxina ocurra es necesario que ésta tenga un cambio metabólico, el cual ocurre cuando la AFB1 llega al hígado de los organismos que la ingieren. Dicho cambio ocurre en las células hepáticas, y es causado por los CYP-450 microsomales a través de una reacción en la que participan oxígeno y las enzimas dependientes del NADPH localizadas en el retículo endoplásmico. Así, una vez absorbida la AFB1 desde el tracto digestivo llega al tejido hepático donde pasa por fases de biotransformación:

El metabolismo de AFB1 implica reacciones oxidativas por miembros de la superfamilia de isoenzimas CYP450. Diferentes isoenzimas CYP450 dan como resultado metabolitos AFB1 de diferente potencial carcinogénico. Por ejemplo, en los seres humanos CYP3A4 y CYP1A2 desempeñan papeles importantes en la bioactivación de AFB1 para formar AFBO; CYP3A4 contribuye a la formación de AFBO y aflatoxina Q1 (AFQ1) en microsomas del hígado humano (Vlastimil *et al.* 2014). Los epóxidos de AFBO se pueden conjugar con el glutati6n (GSH) para reducir la toxicidad por la enzima glutati6n-S-transferasa (GST). El destino de AFB1 difiere en

organismos humanos, de animales, y entre otras especies. La desalquilación, cetoreducción, epoxidación e hidroxilación son las principales vías metabólicas de AFB1 (Rawal & Coulombe, 2011). Estas reacciones conducen a la creación de AFBO altamente tóxico y aflatoxina M1 (AFM1) o formas relativamente no tóxicas, como la aflatoxina P1 (AFP1), AFQ1, o aflatoxina 2a (AFB2a). Se sabe que estas cuatro vías metabólicas de AFB1 producen: O-desalquilación a AFP1, cetoreducción a AFL, epoxidación a AFB1-8,9-epóxido, y de hidroxilación a AFM1, AFP1, AFQ1, o AFB2a (Ornelas-Aguirre & Fimbres-Morales, 2015) (Ver figura 11).

Figura 11

Metabolismo de la Aflatoxina B1.



Nota: citocromo P450 (CYP450), CYP3A4, CYP1A2, CYP2A6, CYP1A1 (miembros de la superfamilia de enzimas citocromo P450), aflatoxina-B1-8,9-epóxido (AFBO), glutatión S-transferasa (GST), glutatión (GSH), epóxido-hidrolasa (EPHX), AFB1- aldehído reductasa (AFAR).

Condiciones favorables para la contaminación de aflatoxinas

Los productos agrícolas son susceptibles a la invasión por microhongos filamentosos durante algunas de las etapas de producción, procesado, transporte o almacenamiento. Básicamente, la presencia de estos en los productos alimenticios depende de la influencia de factores ambientales como la humedad y temperatura. Por lo tanto, la contaminación micotóxica de los productos alimenticios puede variar según las condiciones geográficas y los métodos de producción y almacenamiento, y también según el tipo de alimento, ya que algunos productos alimenticios son sustratos más aptos que otros para el crecimiento fúngico (Elika, 2013).

Para (Soriano del Castillo *et al*, 2015), el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas requieren ciertos condicionantes ambientales como los siguientes:

Factores físicos: humedad, temperatura, zonas de microflora (pequeñas zonas del alimento con alto contenido de humedad), integridad física del grano o del alimento y el agua.

Factores químicos: composición del sustrato, pH, nutrientes minerales y disponibilidad de oxígeno.

Aflatoxinas en alimentos

Según European Food Safety Authority (2021), las aflatoxinas pueden estar presentes en alimentos como cacahuètes, frutos secos, maíz, arroz, higos y otros alimentos secos, especias, aceites vegetales crudos y granos de cacao, como resultado de la contaminación fúngica antes y después de la cosecha. Varios tipos de aflatoxinas se producen de forma natural. La aflatoxina B₁

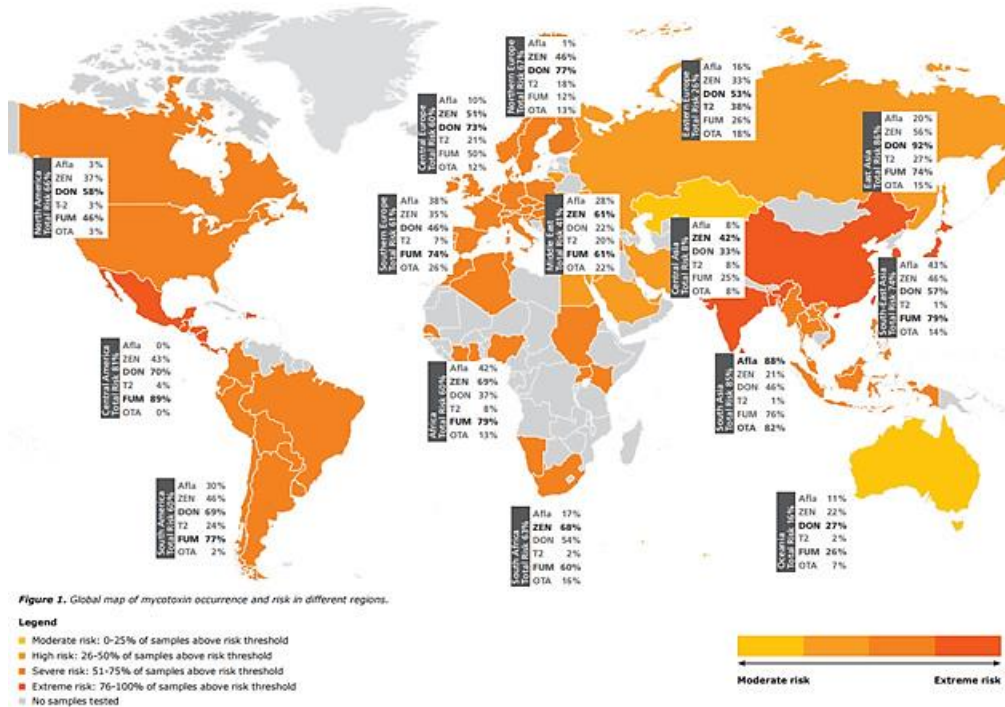
es la más frecuente en los alimentos y una de las aflatoxinas genotóxicas y carcinógenas más potentes. Elika (2013), agrega que las aflatoxinas pueden formarse tanto en el cultivo del alimento en campo de cereales (principalmente maíz) y todo tipo de frutos secos, como durante la recolección, transporte y almacenamiento.

Según Soriano del Castillo *et al* (2015), las aflatoxinas se pueden presentar en un número importante en alimentos para animales y humanos. Algunos estudios han mostrado que los nutrientes y el tipo de sustrato son importantes para la producción de aflatoxinas, la cual se puede ver estimulada por un alto nivel de carbohidratos y un bajo nivel de proteínas; los carbohidratos proveen los dos carbonos precursores para la síntesis de la toxina.

Las aflatoxinas se han detectado como contaminantes naturales en un gran número de productos agrícolas, habiéndose confirmado su presencia en prácticamente todas las zonas del mundo (Ver figura 12) y, en mayor o menor grado, en casi todos los alimentos de primera necesidad. Los alimentos considerados más susceptibles a la contaminación fúngica con la consiguiente producción de aflatoxinas incluyen típicamente al maíz, cacahuates, pistachos, nueces de Brasil, semillas de algodón y la pulpa seca de coco (copra). También se han encontrado aflatoxinas en semillas oleaginosas como el girasol y la soja, en aceites vegetales sin refinar, en otros frutos secos como las almendras, avellanas y nueces, en las especies como el pimentón, el chile, la pimienta, etc., en las frutas desecadas como los higos secos y las pasas, en el café y el cacao, en el resto de los cereales y sus productos derivados y en los piensos (Martínez *et al*, 2013).

Figura 12

Mapa global de ocurrencia de Micotoxinas y regiones en peligro toxicológico



Nota: América Central se encuentra entre el 76% y 100% de peligro latente por las diferentes micotoxinas (Higiene Ambiental, 2017).

Aflatoxinas contaminantes de los alimentos

Las micotoxinas son consideradas como un contaminante inevitable de los alimentos por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) de los Estados Unidos. La Organización Mundial de la Alimentación y Agricultura FAO, en el año 1996, estimó que más del 25 % de los cultivos del mundo están contaminados con micotoxinas. Expertos consideran a las micotoxinas como uno de los más importantes factores de riesgo de contaminantes alimenticios crónicos, por encima de los contaminantes sintéticos, plantas tóxicas, aditivos alimentarios o residuos de plaguicidas (Guerrero & Parreño, 2016).

Origen y cultura del maíz

El género *Zea* pertenece a la familia Poaceae que comprende más de 600 géneros. Los dos géneros del Nuevo Mundo más emparentados con el maíz son *Tripsacum* y *Zea*. El género *Zea* contiene cinco especies de México y Centroamérica: *Zea diploperennis*; *Zea perennis*; *Zea luxurians*; *Zea mays* Linnaeus (Ver Tabla 4), y la descrita recientemente *Zea nicaraguensis*. *Zea mays* L. (Ver figura 13), es la especie a la que corresponde el maíz (forma cultivada del género), la cual debido a su estrecha relación biológica ha sido agrupada con los teocintles de las subespecies *parviglumis* y *mexicana* (Iltis & Doebley, 1980). La clasificación del género *Zea* ha cambiado con el tiempo. En un inicio los primeros ordenamientos emplearon aspectos morfológicos resultantes de la selección humana durante el proceso de domesticación (Kato *et al*, 2009).

Figura 13

Planta de maíz.



Nota: Se muestra su fruto (mazorca).

Fuente: (Quintanilla, 2013).

Descripción botánica del maíz

El maíz es una planta de porte robusto y de hábito anual; el tallo es simple, erecto, de elevada longitud alcanzando alturas de uno a cinco metros, con pocos macollos o ramificaciones, su aspecto recuerda al de una caña de azúcar por la presencia de nudos y entrenudos y su médula

esponjosa. Las hojas nacen en los nudos de manera alterna a lo largo del tallo; se encuentran abrazadas al tallo mediante la vaina que envuelve el entrenudo y cubre la yema floral, de tamaño y ancho variable. Las raíces primarias son fibrosas presentando además raíces adventicias, que nacen en los primeros nudos por encima de la superficie del suelo, ambas tienen la misión de mantener a la planta erecta (Kato *et al*, 2009).

Es una planta monoica de flores unisexuales, que presenta flores masculinas y femeninas bien diferenciadas en la misma planta. En la mazorca cada grano o semilla es un fruto independiente llamado cariósipide que está insertado en el raquis cilíndrico u olote; la cantidad de grano producido por mazorca está limitada por el número de granos por hilera y de hileras por mazorca. Como cualquier otro cereal, las estructuras que constituyen el grano del maíz (pericarpio, endospermo y embrión) le confieren propiedades físicas y químicas (color, textura, tamaño, etc.) que han sido importantes en la selección del grano como alimento (Kato *et al*, 2009).

Tabla 4

Taxonomía de Zea mays.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Poales
Familia	Poaceae
Tribu	Andropogonaceae
Género	<i>Zea</i>
Especie	<i>mays</i> Linneaus

Nota: Tomado de: (Urquizo & Sánchez, 2019).

Estrategias de prevención y control para minimizar la contaminación por micotoxinas en maíz

Aunque la presencia de micotoxinas no es algo nuevo, y es hasta cierto punto inevitable, la mejora en los métodos de detección y el incremento en los estándares de calidad de los alimentos y piensos, ha hecho que en los últimos años haya un interés creciente sobre este tema entre todos los sectores involucrados en la producción, comercialización y consumo de cereales (Tribó, 2019).

La presencia de micelios del hongo no equivale a presencia de micotoxinas, ya que estas sustancias son el producto de procesos metabólicos complejos derivados de la adaptación del hongo a condiciones de estrés y su producción no siempre coincide con las condiciones óptimas de temperatura y humedad para el desarrollo del hongo en cuestión. Así pues, pueden producirse tanto en el campo de cultivo, como durante la cosecha, transporte o almacenamiento (Tribó, 2019).

1- La incorporación de restos de cultivo en el suelo mediante laboreo es una medida que ayuda, pero tiene un impacto limitado en la reducción de micotoxinas.

2- Elección de la fecha de siembra y ciclo de la variedad. Las siembras tempranas permitirán un mejor desarrollo radicular, minimizando las posibles situaciones de estrés. Adicionalmente, nos permitirá el uso de variedades de ciclo más largo, aprovechando su mayor potencial productivo y la posibilidad de una cosecha temprana.

3- La buena adaptación de una variedad determinada a una zona de cultivo y su correcto manejo para minimizar las condiciones de estrés (densidad de siembra, riego, fertilización, etc) son la acción preventiva principal.

4- En zonas con presencia de la plaga del taladro (se ha encontrado una correlación importante entre los niveles de ataque y la presencia de micotoxinas en especial fumonisinas), la opción más eficaz es recurrir a variedades de maíz modificadas genéticamente (maíz Bt). En caso de no optar por esta solución, debe contemplarse el control de esta plaga, o de cualquier otra que pueda dañar a la mazorca, mediante insecticidas.

Por último, se debería prevenir el desarrollo de infecciones en postcosecha. Para ello, se recomienda:

- En casos de almacenamiento del grano, evitar la presencia de granos rotos durante la cosecha.

- Cosechar el grano con contenidos de humedad no demasiado bajos.

- En casos de secado del maíz, reducir al máximo el tiempo entre la cosecha y el secado.

En ensilados, debe evitarse igualmente la lentitud en procesos de ensilado en trinchera. Es de vital importancia que se programen las cosechas en base a la capacidad de trabajo.

- En almacenaje de grano, ventilar y enfriar rápidamente el grano para evitar la presencia de humedad. Controlar la presencia de roedores, aves e insectos en los almacenes.

Aflatoxinas en maíz

Tribó (2019) explica que, aunque haya cuatro tipos principales (B₁, B₂, G₁, G₂), la B₁ es la más tóxica y durante su proceso de metabolización da lugar a la aflatoxina M₁ que puede encontrarse en la leche. La contaminación por aflatoxinas en los granos puede tener lugar tanto en pre- como en post-cosecha. En el primer caso, el hongo produce toxinas en condiciones de estrés (alta temperatura y baja humedad) (Ver figura 14). En el segundo caso, se producen toxinas debido a un manejo y conservación del producto incorrectos. Lo que hace a las micotoxinas particularmente peligrosas es el hecho de que son resistentes a tratamientos físicos, químicos y biológicos. No obstante, ciertos procesos pueden reducir su contenido.

Figura 14

Infección de maíz con AFB₁.



Nota: Tomado de: (Tribó, 2019).

Inhibición de la contaminación de aflatoxinas en los granos de maíz.

La contaminación por aflatoxinas en los granos de maíz se puede evitar de dos maneras: la primera es la inhibición de la propagación del *Aspergillus flavus* o *A. parasiticus* y la otra consiste en suprimir las aflatoxinas después de producidas por la infección de *Aspergillus*. La mayoría de los investigadores han centrado su labor en la inhibición de la propagación de los hongos, y ya se

han hallado algunos productos químicos eficaces en condiciones de almacenamiento; esto, sin embargo, no resuelve el problema de la contaminación en el campo producida por mohos, dado que las esporas aerotransportadas son muy abundantes en el medio ambiente (Martínez *et al*, 2013)

El tostado es una operación eficaz para disminuir los niveles de aflatoxina, según el nivel inicial de la toxina y las temperaturas a las que se efectúe. De igual manera, la mezcla de maíz contaminado por aflatoxinas con agua amoniacal seguida por su tostado es una manera sencilla y eficaz de descontaminarlo (Salazar, 2008).

También Salazar (2008), demostró que se pueden disminuir los niveles de aflatoxina a menos de 20 ppb mediante tratamientos por separado a base de peróxido de hidrógeno al 3 por ciento, 75 por ciento de metanol, 5 por ciento de clorhidrato de dimetilamina ó 3 por ciento de ácido perclórico; estos tratamientos, sin embargo, ocasionan pérdidas de peso, así como de proteínas y lípidos.

Nixtamalización del maíz

De acuerdo a Orchardson (2021), la nixtamalización es un proceso tradicional de preparación del maíz en el que los granos secos se cuecen y se sumergen en una solución alcalina, generalmente de agua y cal alimentaria (hidróxido de calcio). Después de eso, el maíz se escurre y se enjuaga para quitar la cubierta exterior del grano (pericarpio) y se muele para producir una masa que forma la base de numerosos productos alimenticios, incluidas las tortillas y los tamales.

Qué sucede cuando se nixtamalizan los granos de maíz

Cocinar (tratamiento térmico) y remojar en soluciones alcalinas cambia la estructura, composición química, propiedades funcionales y valor nutricional de los cereales. Por ejemplo, quitar el pericarpio reduce la fibra soluble, mientras que cocinar la cal aumenta el contenido de calcio (ver Figura 15a). Este proceso también resulta en una gelatinización parcial del almidón, una desnaturalización parcial de las proteínas que hace que las proteínas presentes en el grano sean insolubles y una reducción parcial del ácido fítico. (Orchardson, 2021). (Ver figura 15b).

¿Cuáles son los beneficios de procesar el maíz de esta manera?

Según Orchardson (2021), además de alterar el olor, el sabor y el color de los productos de maíz, la nixtamalización proporciona varios beneficios nutricionales que incluyen:

Mayor biodisponibilidad de la vitamina B3 niacina, que reduce el riesgo de pelagra.

Mayor aporte de calcio, debido a la absorción por los granos durante el proceso de remojo.

Mayor contenido de almidón resistente en los productos alimenticios, que sirve como fuente de fibra dietética.

Presencia significativamente reducida de micotoxinas como fumonisinas y aflatoxinas.

Mayor biodisponibilidad del hierro, que disminuye el riesgo de anemia

Estos beneficios nutricionales y para la salud son especialmente importantes en áreas donde el maíz es el alimento básico y el riesgo de aflatoxinas es alto, ya que se cree que la eliminación del pericarpio ayuda a reducir los niveles de contaminación por aflatoxinas en los granos de maíz hasta en un 60% cuando la carga no está muy contaminada.

Además, la nixtamalización ayuda a controlar la actividad microbiológica y, por lo tanto, aumenta la vida útil de los productos alimenticios de maíz procesados, lo que genera ingresos y oportunidades de mercado para las comunidades agrícolas en áreas no industrializadas (Kato *et al*, 2009).

Figura 15

Proceso de Nixtamalización



Nota: a) Proceso de nixtamalización del maíz por métodos tradicionales. b) Proceso de molido de la semilla de maíz en molinos artesanales.

Método de Análisis para la detección de micotoxinas (ELISA) en alimentos

De acuerdo con Codex Alimentarius (2017), los métodos analíticos deben detectar, cuantificar e identificar todos los residuos del analito en concentraciones inferiores a los LMR, con el fin de garantizar el cumplimiento de los requisitos relativos a la inocuidad alimentaria.

El análisis de las micotoxinas presenta varias dificultades específicas: Las toxinas del hongo y el moho son contaminantes naturales. La producción previa a la cosecha se ve afectada tanto por las condiciones meteorológicas como por las prácticas agrícolas; la producción tras la cosecha depende de las condiciones de almacenamiento. Esto añade ciertos retos a la gestión de riesgos relacionados con las micotoxinas (SCANCO, 2022).

Las micotoxinas se distribuyen de manera muy desigual en los productos y, a menudo, en concentraciones muy bajas. La matriz de muestra que se analiza puede ser muy simple, como trigo o maíz, o muy compleja, como especias, café o mezclas complejas de ingredientes (como masa de maíz). Es muy importante seleccionar el método analítico y de muestreo adecuado para el producto que se analiza. Dependiendo de factores como la matriz, el tamaño de la muestra, el tiempo hasta obtener el resultado, la facilidad de uso y el equipo disponible, se recomienda el uso de formatos de prueba ELISA ya que permiten análisis de alto valor (consulte la Figura 16). Rendimiento de muchos productos para detectar la mayoría de las micotoxinas reguladas (Romer Labs, 2021).

Figura 16

Reactivos ELISA



Nota: para la obtención, cuantificación y detección de micotoxinas (SCANCO, 2022).

El análisis de inmunoensayo se basa en la detección de proteínas específicas que se encuentran en las aflatoxinas utilizando anticuerpos para la identificación de estas proteínas. Algunas de estas técnicas de detección sólo determinan su presencia o ausencia, otras solo pueden cuantificar dentro de un rango la cantidad de aflatoxinas presentes, por lo que, si una gran cantidad de granos de maíz es rechazada en base a resultados derivados de la prueba de un kit de inmunoensayo, esta muestra deberá someterse a un análisis de laboratorio, donde serán confirmados los resultados. Es importante que el total de la muestra de 2.5 a 5 kg sea macerada antes de tomar la pequeña sub muestra para la realización de la prueba del kit, debido a que esto reduce el error de muestreo, aunque se puede asumir un error general de 25 – 40 % en cualquier resultado para aflatoxinas. La división de las muestras de 2.5 a 5 kg antes de la molienda es una importante fuente error, encontrando que los niveles de aflatoxinas detectadas en sub muestras tomadas antes de moler la muestra resultan frecuentemente con bajos niveles, aunque pueden existir ocasionalmente detecciones con niveles muy elevados (Intagri, 2021).

Según Vega (2011), los diferentes tipos de ELISA (Ver tabla 5) son los que se enumeran a continuación:

Anticuerpos marcados:

- ELISA Directo
- ELISA Indirecto
- ELISA sándwich
- Doble (DAS)
- Heterólogo (HADAS)
- Antígeno marcado
- ELISA competitivo

Métodos para la determinación de aflatoxinas

Tabla 5

Comparación de métodos, ventajas y desventajas de determinación de aflatoxinas.

Métodos	Ventajas	Desventajas	Referencias
Ensayo por Inmunoadsorción Ligado a Enzimas (ELISA)	Específico, rápido y fácil de usar • Equipos de bajo costo • Límite de detección bajo • Análisis simultáneo de muestras múltiples • Análisis semi-cuantitativos (screening) o cuantitativos posibles • Poco limitado de disolventes orgánico	Posible reactividad cruzada con micotoxinas relacionadas • Interferencia de matriz • Posibles falsos positivos/negativos • Rango de detección estrecho • Puede ser necesario realizar un análisis de cromatografía (LC) confirmatorio	(Pascale, 2009) (Pittet, 2005)

Nota: Fuente: (Sanabria *et al*, 2017).

Reglamentación

En muchos países existen leyes que prohíben o limitan la presencia de ciertas sustancias contaminantes naturales o artificiales en los alimentos, dentro de los cuales están las micotoxinas. Generalmente de estos contaminantes naturales antes mencionados, las concentraciones máximas permisibles se expresan en unidades de concentración denominadas “partes por billón” (ppb), que en unidades de peso equivalen a un ng de toxina por g de alimento (ng/g) (Ver tabla 6) (Codex Alimentarius, 2017).

Tabla 6

Niveles máximos de aflatoxinas permitidos en países con legislación de acuerdo a la FDA.

Nivel máximo permitido por FDA	
Aflatoxina B1	5 ppb
Aflatoxinas totales (B1, B2, G1, G2)	10-20 ppb
Aflatoxina M1	0.05-05 ppb

Nota: Fuente: (FDA, 2020)

La presencia de residuos de medicamentos y contaminantes en los alimentos de origen animal destinados al consumo humano se encuentra regulada en diferentes países y regiones (San Martín, 2001). Un estudio realizado por FAO en el año 2003, señala que 99 países representantes del 87% de la población mundial, tenían reglamentaciones respecto a micotoxinas en alimentos humanos y raciones para el ganado, todos estos países incluyen reglamentaciones para aflatoxinas (FAO, 2004).

Basándose en estudios de toxicidad, organizaciones nacionales e intergubernamentales han establecido los Límites Máximos Residuales (LMR), para medicamentos veterinarios y Límites Máximos Aceptados (LMA) para sustancias de otro origen. La Comisión del Codex Alimentarius, define estos conceptos como: “La concentración máxima de residuos contaminantes en el alimento, expresada en mg/kg o µg/kg, sobre la base de peso fresco, que se permite legalmente o se reconoce como admisible dentro de un alimento o en la superficie del mismo” (Ver tabla 7) (Codex Alimentarius, 2017).

Tabla 7

Niveles máximos tolerados para las micotoxinas en los alimentos, en los productos lácteos y en las raciones animales (encuesta 2002/2003).

País	Producto	Suma de Micotoxinas	Límite (µg/kg)	Base legal	Autoridad competente	Método de muestreo		Método analítico		Observaciones
						Situación	Ref	Situación	Ref	
EL SALVADOR [SV] 2003: situación 1991 [FAO 1997]										
	Alimentos									
	Alimentos	Afla B ₁ -B ₂ -G ₁ -G ₂	20							
	Raciones									
	Todas las raciones	Afla B ₁	10							
	para porcinos, aves de corral; raciones simples y compuestas; raciones para bovinos / caprinos / ovinos		20							

Nota: Enfatizar en el límite de (µg/kg). Con respecto a los siguientes recuadros no hay actualización para El Salvador. Fuente: (FAO, 2004).

Especificaciones Técnicas de Referencia FAO/OMS

FAO/OMS están formados por expertos internacionales independientes que realizan exámenes científicos de todos los estudios disponibles y otros datos pertinentes sobre micotoxinas específicas. El resultado de tales evaluaciones de riesgos para la salud puede ser un nivel máximo tolerable de ingesta (exposición) u otra orientación para indicar el nivel de preocupación para la salud (como el margen de exposición), incluido el asesoramiento sobre medidas de gestión de riesgos para prevenir y controlar la contaminación, y sobre los métodos analíticos y las actividades de seguimiento y control (FAO/OMS, 2018).

Estas ingestas diarias tolerables son utilizadas por los gobiernos y los gestores internacionales de riesgos, como la Comisión del Codex Alimentarius, para establecer niveles máximos de micotoxinas en los alimentos. Los niveles máximos de micotoxinas en los alimentos son muy bajos debido a su toxicidad severa. Por ejemplo, los niveles máximos de aflatoxinas establecidos por el Codex en varios frutos secos, granos, higos secos y leche están en el rango de **0,5 a 15 µg / kg** (un µg es una milmillonésima parte de un kilogramo). El límite máximo del Codex para la patulina en el jugo de manzana es de 50 µg/L (FAO/OMS, 2018).

La exposición a las micotoxinas debe mantenerse lo más baja posible para proteger a las personas. Las micotoxinas no solo representan un riesgo para la salud humana y animal, sino que también afectan la seguridad alimentaria y la nutrición al reducir el acceso de las personas a alimentos saludables. La OMS alienta a las autoridades nacionales a que vigilen y velen por que los niveles de micotoxinas en los productos alimenticios que se comercialicen sean lo más bajos posible y cumplan los niveles máximos, las condiciones y la legislación nacionales e internacionales (FAO/OMS, 2018).

Especificaciones técnicas del de maíz nixtamalizado en El Salvador (REGLAMENTO TÉCNICO SALVADOREÑO RTS 67.06.01:13)

Características del grano

De acuerdo a Reglamento Técnico Salvadoreño (2017), el grano de maíz utilizado para obtener el producto, debe estar limpio, sano, libre de impurezas o materias extrañas que alteren la calidad del producto.

En cuanto al color del grano, este será del color dependiendo de la variedad, tales como amarillo, azul u otro color.

Estrategias para prevenir contaminación por micotoxinas en cultivos

Prevenir la producción de micotoxinas en los cultivos requiere controlar la biosíntesis de toxinas y el metabolismo de los hongos en el campo. El manejo adecuado de las plantas se considera una forma ideal de controlar la contaminación de las plantas por micotoxinas. Sin embargo, en realidad es difícil controlar factores ambientales como la temperatura y la humedad en las plantas (López & Chávez, 2012).

Estrategias agronómicas:

Reducir el estrés sufrido por las plantas,

Control de insectos,

Eliminación de residuos vegetales y la rotación de terrenos,

Utilización de agentes antifúngicos,

Desarrollo de variedades de plantas resistentes a la contaminación fúngica;

Estrategias posteriores a la cosecha:

Control medioambiental de conservación: contenido de agua, presión de O₂ y temperatura,

Control de plagas: insectos y roedores,

Separar granos partidos y cosecha dañada antes de su almacenaje,

Antifúngicos como ácido propiónico (López & Chávez, 2012).

La detoxificación son tratamientos posteriores a la cosecha para eliminar o reducir las micotoxinas. Las estrategias pueden dividirse en tres: como son las físicas, químicas y microbiológicas. Destinados a destruir, modificar o adsorber las micotoxinas, y por lo tanto eliminar o disminuir sus efectos tóxicos. Entre los métodos químicos, se ha utilizado la amonización y nixtamalización. Otros agentes utilizados han sido los agentes oxidantes (peróxido de hidrógeno, ozono), o algunos ácidos y álcalis. Sin embargo, estas aproximaciones son caras y no efectivas en su totalidad para eliminar las micotoxinas. Por ejemplo, la amonización puede alcanzar un coste aproximado de 15 a 120% del valor del ingrediente. La descontaminación biológica mediante la utilización de microorganismos es otra de las estrategias utilizadas, Algunas bacterias lácticas o levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) que se utilizan ampliamente en la fermentación de los alimentos poseen estructuras de pared con capacidad para adherir micotoxinas (López & Chávez, 2012).

Algunos métodos físicos utilizados son la inactivación de las micotoxinas con elevadas temperaturas, los rayos UV y X o las irradiaciones con microondas. Otros métodos que pueden resultar efectivos son la limpieza de las semillas, su fraccionamiento mediante cribados y la extrusión. Sin embargo, la mayoría de estas técnicas son poco prácticas, no eficientes en su totalidad o pueden disminuir el contenido en micronutrientes de los alimentos (López & Chávez, 2012).

Estrategias para reducir contaminación de micotoxinas en los alimentos

El manejo apropiado de los granos, incluyendo el uso de inhibidores de hongos, es uno de los pasos iniciales que nutricionistas y formuladores de alimentos toman a menudo como las medidas preventivas para combatir la contaminación por micotoxinas (MicronBio Systems, 2020).

Sin embargo, una vez que un problema de micotoxinas es detectado, el productor de ganado o fabricante de alimentos debe seleccionar un procedimiento para reducir o eliminar sus efectos. Algunos diluyen el material contaminado simplemente mezclándolo con granos "limpios", lo que simplemente incrementa la propagación del hongo por todo el alimento (European Food Safety Authority, 2021).

Para la FDA (2020), los tratamientos químicos, como la aspersión con amoníaco, a veces pueden ser eficaces, pero no siempre son baratos y también pueden destruir los nutrientes. Cuando se formulan minuciosamente las raciones comerciales, cualquier aditivo empleado para controlar la contaminación por micotoxinas debe tener una proporción baja de inclusión para prevenir una reducción en el volumen de nutrientes de la dieta. Es vital que los aditivos no-nutritivos del alimento ocupen tan poco espacio como sea posible en la fórmula.

Varios productos se adjudican la propiedad de reducir la actividad de micotoxinas en los alimentos animales. Algunas bentonitas y otras arcillas de aluminosilicatos adsorben micotoxinas en el intestino previniendo su absorción. Las arcillas ligan las micotoxinas a través de cargas eléctricas. Sin embargo, no todas las micotoxinas tienen cargas eléctricas, lo que hacen difícil ligarlas de esta manera (Codex Alimentarius, 2017).

Aun cuando las ligantes arcillas minerales empleados satisfacen algunos de los criterios para un sistema de reducción de micotoxinas exitoso, éstos tienen algunas serias limitaciones. Primero, éstos sólo ligan un estrecho espectro de toxinas y ofrecen limitada protección contra toxinas como zearalenona o tricotecenos. Segundo, tienen una alta tasa de inclusión, generalmente más del 1% de la dieta (MicronBio Systems, 2020).

Impacto de las aflatoxinas en carcinoma hepatocelular

El CHC es el tumor maligno más frecuente del hígado (75% de todas las neoplasias hepáticas) (Sun, Zhang, Ming, Gail, & Pee, 2021). Es la quinta neoplasia maligna más frecuente en hombres y la octava en mujeres a nivel mundial (Ozturk, Bressac, Volkmann, & Bozcall, 2019).

Aproximadamente se presentan 530.000 casos nuevos de CHC, por año en el mundo; más del 85% ocurre en ciudades con alta seroprevalencia de hepatitis crónica por virus de hepatitis B (Sun, Zhang, Ming, Gail, & Pee, 2021).

Uno de los mecanismos por medio de los cuales las aflatoxinas pueden relacionarse con el CHC es su gran capacidad de inducir mutaciones. La mutación del gen p53 se ha identificado en la forma endémica de CHC asociada fuertemente a la alta ingesta de aflatoxinas en la dieta. Sugiere que la pérdida de la función normal del gen (supresor tumoral) podría ser un paso clave durante la transformación maligna de los hepatocitos (Ozturk, Bressac, Volkmann, & Bozcall, 2019).

El impacto económico de las aflatoxinas incluye la pérdida de vidas humanas y animales, el incremento en los costos de salud y veterinaria, reducción en la producción animal y otros problemas económicos y comerciales.

Solo mediante una concienciación de los principales sectores socioeconómicos y políticos, implementando estrategias de promoción de la salud, se podrá hacer frente al riesgo que representa la contaminación de alimentos de consumo humano con sustancias carcinogénicas.

HIPOTESIS

Hipótesis alternativa (Ha):

Los niveles de aflatoxinas B1 presentes en la masa de maíz de molinos artesanales del Municipio de Suchitoto está dentro del valor permisible establecido por la FAO/OMS.

Hipótesis nula (Ho):

Los niveles de aflatoxinas B1 presentes en la masa de maíz de molinos artesanales del Municipio de Suchitoto está fuera del valor permisible establecido por la FAO/OMS.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Experimental: Las muestras de masa de Maíz recolectadas se analizaron en el laboratorio de Agrobiotek utilizando métodos analíticos y comparando los resultados con los valores recomendados vigentes.

Transversal: Interesa conocer la concentración de los contaminantes en la masa del Maíz durante el año 2022. Además, es un trabajo comparativo, aleatorio y conclusivo ya que los resultados obtenidos del estudio de cada una de las muestras fueron comparados entre sí y de las diferencias surgidas entre los datos se desarrollaron las conclusiones respectivas. Por lo tanto, la investigación es del tipo cuantitativa.

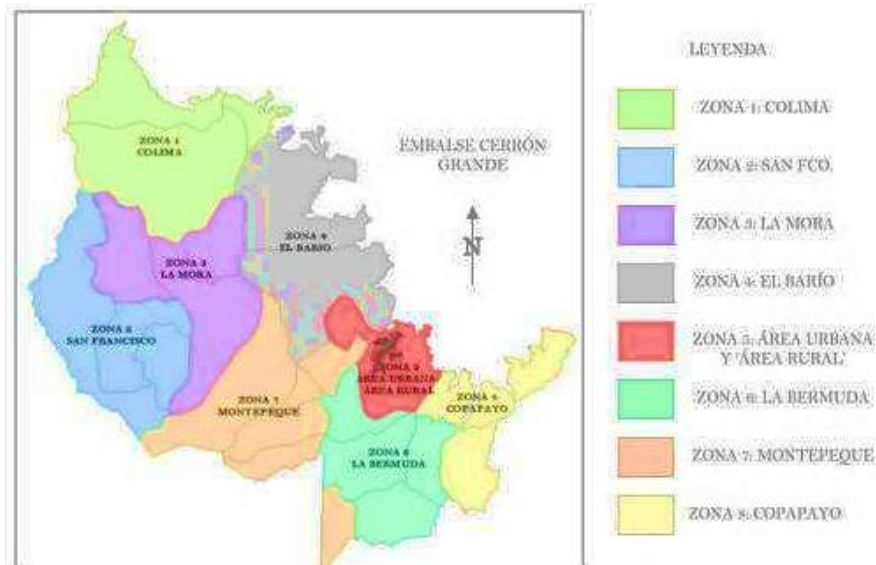
Descripción de la zona de estudio

La investigación se realizó en 11 molinos artesanales de forma aleatoria representativos del municipio de Suchitoto (Ver figura 17), el cual pertenece al departamento de Cuscatlán y su información geográfica básica es la siguiente: se localiza en la zona paracentral del país a 46 kilómetros al norte de San Salvador, entre las coordenadas geográficas 14°04'08" y 13°50'32" (LN) y 88°56'39" y 89°10'07" (LWG), a una altitud promedio de 332 msnm. Con una extensión territorial de 329.9 km².

Está delimitado al norte por el Embalse Cerrón Grande, al sur a través de los relieves geográficos del Cerro Guazapa y el Cerro Tecomatepec, con los municipios de San José Guayabal,

Oratorio de Concepción y Tenancingo; al este con el municipio de Cinquera y al oeste con los municipios de Aguilares y Guazapa (FUNDE, 2016).

Figura 17 Geografía del municipio de Suchitoto.



Nota: Ubicación geográfica de Suchitoto. Mapa administrativo. Tomado de: (EcuRed, 2016).

Características físicas del Municipio de Suchitoto

En este apartado se detallan la topografía, la climatología y el suelo del Municipio de Suchitoto.

Topografía

Las características distintivas de este municipio son su situación geográfica y su jurisdicción sobre el embalse de Serrón Grande. Éste limita el municipio a toda la zona norte y noreste del territorio, creándose una ribera que se extiende a lo largo de casi toda la longitud del embalse. Una propiedad que es un recurso importante que brinda beneficios económicos a los residentes a través de la pesca, el turismo y las embarcaciones de recreo, además sirve como atractivo turístico por su paisaje (FUNDE, 2016).

Climatología

El municipio se caracteriza por tener un clima cálido con temperaturas promedio entre 26°C y 39°C. La precipitación promedio anual es de 1,787 mm. y una humedad relativa de 77%. El país se encuentra en la parte Norte del Cinturón tropical de la Tierra y están definidas dos estaciones, climatológicas, una estación seca o verano en los meses de noviembre, a abril, y una estación lluviosa comprendida en los meses de mayo a octubre (FUNDE, 2016).

Suelo

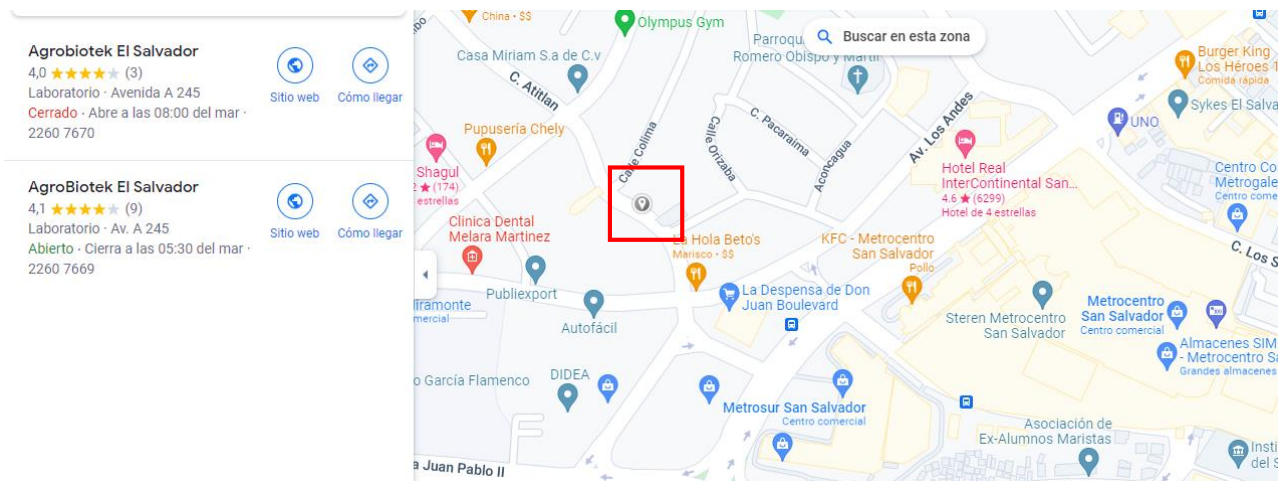
Los suelos del municipio se caracterizan, físicamente, por ser un terreno de transición entre la planicie del Valle del Alto Lempa hacia la Cordillera Central. Prevalecen los suelos latosoles arcillozos-rojizos, aluviales y grumosoles sobre los que predominan los cultivos mixtos y anuales (38% del territorio municipal), cobertura boscosa 24%, cuerpos de agua 11%, caña de azúcar 10%, pastos 7%, entre otras (FUNDE, 2016).

Los suelos del municipio geológicamente son en su mayoría suelos jóvenes y poco evolucionados. De corteza delgada y según las inclinaciones del terreno propensos a la erosión y deslizamientos. A excepción de los aluviales, que corresponden a la planicie y que, por su fertilidad y facilidad para explotación intensiva, constituyen el tipo de suelo más escaso en el territorio (FUNDE, 2016).

Ubicación del laboratorio Agrobiotek.

AgroBioTek fue fundada en Tegucigalpa, Honduras en 1995 y actualmente también opera en Guatemala, El Salvador, Nicaragua y República Dominicana. El Grupo AgroBioTek ofrece una amplia gama de servicios, equipos y productos a la industria agrícola productora de alimentos, como también a las industrias farmacéuticas y veterinarias de Centroamérica y el Caribe (Agrobiotek, 2022). El laboratorio se encuentra en las siguientes coordenadas Latitud: 13.707024, Longitud: -89.2024381 (Ver figura 18).

Figura 18 Mapa de ubicación de Agrobiotek



Nota: Ubicación geográfica del laboratorio de AgroBiotek El Salvador. Tomado de: Google maps, 2022.

Fase de campo

La recolección de muestras de masa nixtamalizada se realizó en once molinos artesanales representativos del área municipal de Suchitoto, durante un periodo de un mes y medio. Por cada molino a muestrear se tomó una muestra de 100gr de masa de maíz, se identificó como muestra patrón. Se muestrearon los once molinos por semana; es decir, se procesaron 33 muestras.

Para ello, la metodología que se utilizó consiste en obtener las muestras de masa nixtamalizada de aproximadamente 100 gr. en las mismas condiciones en las que se comercializan; es decir, son directamente entregadas por el comerciante encargado e inmediatamente depositadas en bolsas plásticas estériles (tipo ziploc), previamente rotuladas con el número de muestra, fecha, lugar, coordenadas geográficas y tipo de aflatoxina a analizar, cabe destacar que el tipo de muestreo es aleatorio ya que las muestras son totalmente diferentes, debido a los lotes de maíz que se procesan. Posteriormente, se depositaron en un embalaje secundario (hielera con hielo) que no permite la entrada de calor, humedad o aire, manteniendo la cadena de frío, para su posterior traslado al laboratorio de AgrobioTek.

Un detalle importante a destacar, es que los muestreos se realizaron en horarios de madrugada de 4:30am a 7:00am debido a que es el momento donde se concentra la mayor cantidad de personas que asisten a moler. Es importante incluir que las muestras se compraron a cada una de las comerciantes.

Así mismo, en esta etapa de recolección de muestra se tomaron en cuenta factores, que influyen en la aparición de hongos productores de aflatoxinas, como físico-químicos, como el pH considerando que *A. flavus* y *A. parasiticus* crecen en un rango de pH óptimo entre 3.42 y 5.47 y la Humedad Relativa del ambiente. Una vez colectadas se sometieron a un proceso de secado, técnica que consistió en almacenar las muestras a bajas temperaturas entre 2 y 8 °C y a los días después, cada una las muestras de masa de maíz se trituraron. Las muestras se trasladaron, transportándolas en una hielera con hielo para su análisis de la determinación de aflatoxinas.

Fase de Laboratorio

Descripción del Kit de Extracción: AgraQuant® Aflatoxin B1 ELISA test (Mycotoxins | SH-AQ-Aflatoxin-B1)

Los kits de prueba AgraQuant® son ensayos inmunoabsorbentes ligados a enzimas (ELISA) precisos y confiables en un formato cuantitativo. Junto con un lector ELISA BioTek® Elx800, los resultados pueden interpretarse directamente y documentarse continuamente. Este kit de prueba ELISA es la solución ideal para una medición paralela de múltiples muestras con tiempos de incubación de tan solo 15 minutos para hasta 52 muestras (Romer Labs, 2021).

Propiedades

PLM Nombre del elemento	Prueba AgraQuant® Aflatoxin B1 ELISA
Temperatura de almacenamiento	2°C - 8°C
Rango de cuantificación	2-50 ppb
Límite de detección	2 ppb
Límite de cuantificación	2 ppb

Para preparar la solución, se realizaron los siguientes pasos:

El kit debe estar a temperatura ambiente al menos 1 hora antes.

Se elaboró una solución de metanol al 70% mezclando 7 partes de metanol con 3 partes de agua destilada estéril por cada muestra que se analizó. (Ver figura 22 en anexo)

Se extrajo una muestra representativa de masa de maíz de 20 gr, pesándolo en una balanza analítica y colocándolo en un vial de extracción con capacidad de 100 mL. (Ver figura 23 en anexo)

Las muestras se agitaron enérgicamente durante tres minutos, a mano, 20 gramos de muestra con 100 mL de metanol al 70%. (Ver figura 24 en anexo)

Posteriormente las muestras se filtraron en papel Whatman #1 con partículas finas. Diámetro 12.5cm y tamaño de poro de 11 μ m, vertiendo al menos 5 mL del extracto. Colocando la solución en tubos de ensayo previamente identificados. (Ver figura 25 en anexo)

Después de obtener cada una de las muestras líquidas se procedió a la preparación de la fase de cuantificación de aflatoxinas por el método Inmunoensayo (ELISA) descrito por Romer Labs (2021), para lo cual se utilizó el reactivo de buffer de ensayo; se preparó un set de once tubos de ensayo de vidrio, se procedió a verter 100 μ L de buffer de ensayo utilizando una micropipeta de 200 μ L y se adicionó 100 μ L de la muestra extraída (Ver figuras 26 a, b, c, d; en anexo).

Luego de obtener la solución muestra con el buffer se procede a homogenizar los tubos de ensayo utilizando un vortex a 1200 rpm durante 5 segundos.

En una barcaza mezcladora se colocaron 300 μ L de conjugado, para ello fue necesario utilizar la micropipeta de 100 a 1000 μ L y se transfiere 100 μ L de conjugado a cada pocillo de mezcla sin revestimiento de anticuerpos, luego se agregó 100 μ L de estándares de AFB₁ de concentración 2ppb, 5ppb, 10ppb, 20ppb y 50ppb a los pocillos de los conjugados, esto sirve de referencia a la hora de trazar la curva de R y verificar la prueba. Luego se adicionaron 100 μ L de cada una de las soluciones de cada muestra a los pocillos restantes (soluciones importantes) y luego se mezcló con pipeta multicanal (ocho canales) 3 veces para homogenizar la solución teniendo el cuidado de no generar burbujas y evitando salpicaduras.

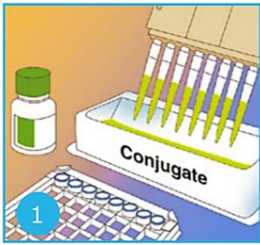
Mientras tanto, los pocillos con anticuerpos permanecieron tapados y sellados en su paquete para evitar la influencia de luz. Estos se utilizaron solamente después de obtener los

extractos de las muestras y cuando el procedimiento de análisis esté listo. Así mismo, todos los reactivos se llevaron a temperatura ambiente (18-30°C) antes de ser utilizados. Cabe destacar que el resto de pocillos no utilizados se guardaron para cada uno de los muestreos.

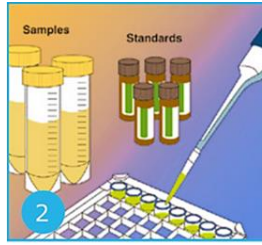
Se transfirió 100 µL de la solución de los pocillos de mezcla a los pocillos con revestimiento de anticuerpo, y se incubó durante 15 minutos en oscuridad, luego que el tiempo de incubación pasara, se descartó el contenido de los pocillos con revestimiento de anticuerpo y finalmente se lavaron con agua destilada cinco veces. Luego se secaron completamente golpeando la gradilla plástica sobre papel toalla, a estos pocillos se les agregó 100 µL de sustrato, se mezclan entre 10 a 20 segundos y se dejaron incubando por aproximadamente 3 minutos, una de las características al colocar el reactivo es el viraje de color a azul, que demuestra la presencia o ausencia de Aflatoxina B₁. A estos pocillos se les adiciona 100 µL de solución stop (hay viraje de color a amarillo que significa que la reacción se ha detenido) y se mezcla hasta homogenizar.

Luego de haber preparado y extraído las soluciones, se procedió a la lectura de las muestras usando un espectrofotómetro (lector de placas ELISA BioTek® Elx800) el cual contiene un filtro de 450 nm a 650 nm, así mismo se conectó el equipo que contiene el software para la lectura de placas y se configuró para efecto de leer las AFB₁ posteriormente se llevó y se calculó el resultado del análisis con el software. (Ver figuras 27 a, b, c y d)

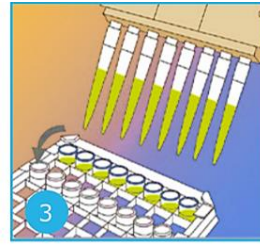
Diseño experimental (Romer Labs, 2021).



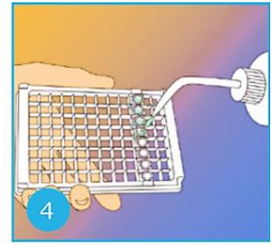
Se agrega 200 μL de conjugado en cada dilución codificada por color bien.



Se agrega 100 μL de estándares o muestras al conjugado



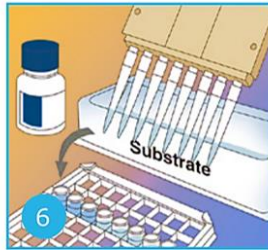
Mezclar bien. Transferir 100 μL del contenido de anticuerpos recubiertos en los pozos e incubar de 5 a 60 minutos.



Se desecha el contenido de los pozos y se lavan con agua desionizada o solución tampón (5x).



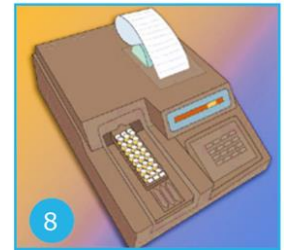
Se colocan los pozos sobre papel absorbente para eliminar residuos de agua.



Se agregan 100 μL de sustrato en cada pozo y se procede a incubar por 5 - 20 minutos.



Se adicionan 100 μL de solución de parada en cada pozo.



Se analizan los resultados usando un lector ELISA con un filtro de 450 nm o 630 nm.

Variables medidas

Las variables a estudiar se describen a continuación:

Presencia o Ausencia de aflatoxinas B_1 en masa maíz determinado mediante el análisis en laboratorio con la prueba de ELISA. Se observó la reacción de los conjugados del Kit que solo se produce en presencia de Aflatoxina pues es específica.

La masa de maíz es apta o no para consumo. Se calcularon los resultados cuantificados en ppb. Con el lector de pocillos para ELISA para verificar que estuviesen en los valores permisibles de acuerdo a la FAO/OMS.

RESULTADOS

Se realizó la recolección de las muestras provenientes de los 11 puntos geográficos de muestreo seleccionados para este estudio (Tabla 8).

Tabla 8.

Puntos de muestreo de colectas de muestras durante los tres muestreos del estudio.

No.	Punto de muestreo	Coordenadas	Altitud	Temperatura	Hum Rel
1	Molino sin nombre "Cantón Colima"	Latitud: 13.963020° N Longitud: -89.173196° O	309.70m	22°C	67.3
2	Molino San Chico "Cantón San Francisco"	Latitud: 13.961104° N Longitud: -89.160871° O	300.19m	22°C	62.1
3	Molino sin nombre "Cantón El Líbano"	Latitud: 13.961424° N Longitud: -89.130581° O	318.89m	21°C	68.7
4	Molino de Don Chepe "Cantón Los Almendros".	Latitud: 13.964614° N Longitud: -89.115370° O	330.10m	21°C	65.4
5	Molino Mazate "Cantón Mazatepeque"	Latitud: 13.964616° N Longitud: -89.115368° O	330.12m	21°C	63.9
6	Molino los amigos "Cantón El Barío"	Latitud: 13.960362° N Longitud: -89.107644° O	342.67m	22°C	70.2
7	Molino Milingo "Cantón Milingo"	Latitud: 13.951273° N Longitud: -89.074019° O	384.29m	22°C	68.3
8	Molino de La Cruz "Barrio La Cruz"	Latitud: 13.949781° N Longitud: -89.067767° O	396.90m	23°C	67.8
9	Molino El Calvario "Barrio El Calvario"	Latitud: 13.949997° N Longitud: -89.061009° O	382.27m	24°C	68.5
10	Molino Chinchitas "Barrio El Centro"	Latitud: 13.929900° N Longitud: -89.046995° O	448.76m	25°C	66.4
11	Molino San Juan "Carretera a Cinquera, cerca de cascada Los Tercios"	Latitud: 13.937175° N Longitud: -89.011315° O	327.38m	25°C	68.8

Nota: Los datos de las coordenadas y la altitud se tomaron a través de la aplicación Physics Toolbox Suite, la exactitud de la aplicación es ± 3.79 m de error. Con respecto a la temperatura del ambiente y la Humedad relativa se midieron a través de la aplicación Psychometric Calc (ambas aplicaciones disponibles en Google Play).

Muestreo No. 1. Prueba realizada el 27 de octubre de 2022. Laboratorio de AgroBiotek.

A continuación, se presentan las tablas de resultados de las muestras obtenidas de los once puntos de muestreo realizados en las fechas de 22 y 23 de octubre de 2022, corriendo las pruebas en el laboratorio de Agrobiotek, para comprobar o descartar la presencia o ausencia de AFB₁ significativo y su respectiva cuantificación.

Tabla 9. Resultados del primer muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 450 nm, donde se procesaron 12 muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	nm
A	2.463	2.15	1.543	0.502	0.231	2.653	2.575	2.591	2.64	2.722	2.576	2.492	450
B	2.375	2.412	2.475	2.381	2.434	0	0	0	0	0	0	0	450
C													450
D													450
E													450

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evalúa las muestras y las codifica de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, con el apoyo del software Gen Five, se realizó la lectura de las muestras y presenta los resultados con el viraje de color, con el filtro de 450 nm.

Tabla 10. Resultados del primer muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 630 nm, donde se procesaron 12 muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	nm
A	0.069	0.061	0.059	0.052	0.057	0.066	0.062	0.062	0.044	0.047	0.048	0.046	630
B	0.045	0.046	0.043	0.053	0.047	0	0	0	0	0	0	0	630
C													630
D													630
E													630

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras y las codificó de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, con el apoyo del software Gen five, se realizó la lectura de las muestras y presenta los resultados con el viraje de color, con el filtro de 630 nm.

Tabla 11. DELTA de resultados del primer muestreo de la cuantificación de absorbancia de AFB₁, se procesaron 12 muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	nm
A	2.394	2.089	1.484	0.45	0.174	2.587	2.513	2.529	2.596	2.675	2.528	2.446	Delta
B	2.33	2.366	2.432	2.328	2.387	0	0	0	0	0	0	0	Delta
C													Delta
D													Delta
E													Delta

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras y las codificó de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, se le denomina Delta ya que es la diferencia (resta) de los filtros de 450 nm y 530 nm, cabe destacar que este es el resultado más importante ya que muestra la absorbancia real que la prueba evaluó. Además, los resultados de las muestras se encuentran ordenadas de acuerdo a cada uno de los puntos de muestreo analizados.

Tabla 12. Resultados de la concentración de Aflatoxina B₁ contenida en las muestras de masa de maíz. Primer muestreo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	0.096	1.961	5.043	19.703	51.549	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	<0.000	[Concentration]
B	0.674	0.405	<0.000	0.687	0.197	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	[Concentration]
C													[Concentration]
D													[Concentration]
E													[Concentration]

La prueba ELISA evaluó la concentración de AFB₁ contenida en las muestras de masa de maíz, así mismo se comprueba que los estándares están en óptimas condiciones y viables, ya que brindan un parámetro comparativo para el resto de muestras. Algunas muestras presentan una variación de las cantidades de concentración debido a un ruido del análisis por el equipo BioTek® Elx800.

Tabla 13. Tabla resumen para interpretación de los resultados con respecto a la cuantificación de absorbancia y concentración de las muestras analizadas del primer muestreo.

Muestra	Absorbancia (Delta)	Concentración	Observaciones
B1.1	2.587	<0.000	N/Conf
B1.2	2.513	<0.000	N/Conf
B1.3	2.529	<0.000	N/Conf
B1.4	2.596	<0.000	N/Conf
B1.5	2.675	<0.000	N/Conf
B1.6	2.528	<0.000	N/Conf
B1.7	2.446	<0.000	N/Conf
B1.8	2.33	0.674	Se observa la presencia de AFB1, que está bajo el NMP
B1.9	2.366	0.405	Se observa la presencia de AFB1, que está bajo el NMP
B1.10	2.432	<0.000	N/Conf
B1.11	2.328	0.687	Se observa la presencia de AFB1, que está bajo el NMP
B1.12	2.387	0.197	Se observa la presencia de AFB1, que está bajo el NMP

Tabla 14. Análisis estadístico aplicando R^2 para verificar la confiabilidad de los datos del primer muestreo.

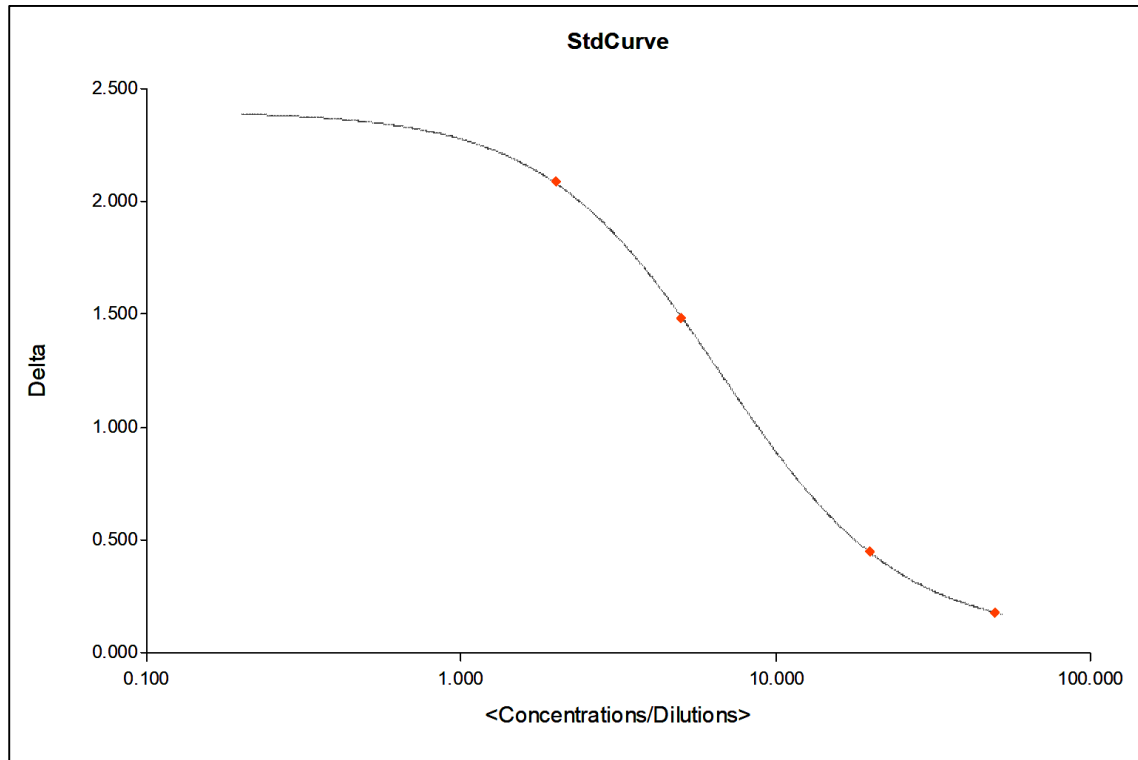
	Curve Name	Curve Formula	A	B	C	D	R2
	StdCurve	$Y = (A - D) / (1 + (X/C)^B) + D$	2.4	1.53	6.69	0.0757	1

Curve Name	Curve Formula	Parameter	Value	Std. Error	95% CI min	95% CI max
StdCurve	$Y = (A - D) / (1 + (X/C)^B) + D$	A	2.4	0.0137	2.22	2.57
		B	1.53	0.0493	0.901	2.15
		C	6.69	0.179	4.42	8.97
		D	0.0757	0.0243	-0.233	0.384

Las muestras se encuentran en un nivel válido de prueba ya que R^2 igual a 1 significa un ajuste lineal perfecto, ya que $STC=SEC$, esto es, la variación total de la variable Y es explicada por el modelo de regresión. Por lo tanto, la prueba es válida a partir del estándar 1 con absorbancia mayor que 0.5 inserto del kit.

Figura 19

Gráfico de la curva estándar de R2 para las muestras del primer muestreo.



Nota: Se verifica que los resultados Delta (diferencia de 450nm y 630 nm) con respecto al factor de dilución 1:1 ha sido válida debido a que los puntos de datos están en el marco de la curva de R², por lo tanto, los resultados de las muestras evaluadas están dentro de los límites permisibles de acuerdo a la FAO/OMS.

Muestreo No. 2. Prueba realizada el 11 de noviembre de 2022. Laboratorio de AgroBiotek.

A continuación, se presentan las tablas de resultados de las muestras obtenidas de diez puntos de muestreo realizados en las fechas de 5 y 6 de noviembre de 2022, corriendo las pruebas en el laboratorio de Agrobiotek, para comprobar o descartar la presencia o ausencia de AFB₁ significativo y su respectiva cuantificación.

Tabla 15. Resultados del segundo muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 450 nm, donde se procesaron 10 muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	nm
A	2.363	1.897	1.341	0.413	0.213	2.188	2.473	2.368	2.107	2.251	2.269	2.031	450
B	2.303	2.051	1.877	0	0	0	0	0	0	0	0	0	450
C													450
D													450
E													450

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras y las codificó de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, con el apoyo del software Gen Five, se realizó la lectura de las muestras del segundo muestreo y presenta los resultados con el viraje de color, con el filtro de 450 nm.

Tabla 16. Resultados del segundo muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 630 nm, donde se procesaron 10 muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	nm
A	0.058	0.104	0.108	0.049	0.071	0.06	0.053	0.114	0.045	0.049	0.072	0.071	630
B	0.045	0.047	0.052	0	0	0	0	0	0	0	0	0	630
C													630
D													630
E													630

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras y las codificó de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, con el apoyo del software Gen five, se realizó la lectura de las muestras del segundo muestreo y presenta los resultados con el viraje de color, con el filtro de 630 nm.

Tabla 17. DELTA de resultados del segundo muestreo de la cuantificación de absorbancia de AFB₁, se procesaron 10 muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	2.305	1.793	1.233	0.364	0.142	2.128	2.42	2.254	2.062	2.202	2.197	1.96	Delta
B	2.258	2.004	1.825	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Delta
C													Delta
D													Delta
E													Delta

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras del segundo muestreo y se codificaron de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, es Delta ya que es la diferencia (resta) de los filtros de 450 nm y 530 nm, cabe destacar que este es el resultado más importante ya que muestra la absorbancia real que la prueba evaluó. Además, los resultados de las muestras se encuentran ordenadas de acuerdo a cada uno de los puntos de muestreo analizados. Se observa, además que los niveles de absorbancia de las muestras 2.7, 2.8 y 2.10 con un leve incremento de absorbancia lo cual está indicando la presencia de AFB₁.

Tabla 18. Resultados de la concentración de Aflatoxina B1 contenida en las muestras de masa de maíz. Segundo muestreo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	<0.000	2.038	4.919	20.667	47.678	0.764	<0.000	0.265	1.009	0.481	0.5	1.388	[Concentration]
B	0.247	1.224	1.91	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	[Concentration]
C													[Concentration]
D													[Concentration]
E													[Concentration]

La prueba ELISA evaluó la concentración de AFB₁ contenida en las muestras de masa de maíz del segundo muestreo, así mismo se comprueba que los estándares están en óptimas condiciones y viables, ya que brindan un parámetro comparativo para el resto de muestras. Algunas muestras presentan una variación de las cantidades de concentración debido a un ruido del análisis por el equipo BioTek® Elx800. Se observa, además, un incremento en la concentración de AFB₁ en las muestras 2.7, 2.8 y 2.10.

Tabla 19. Tabla resumen para interpretación de los resultados con respecto a la cuantificación de absorbancia y concentración de las muestras analizadas del segundo muestreo.

Muestra	Absorbancia (Delta)	Concentración	Observaciones
B2.1	2.128	0.764	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP
B2.2	2.42	<0.000	N/Conf
B2.3	2.254	0.265	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP
B2.4	2.062	1.009	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP
B2.5	2.202	0.481	N/Conf
B2.6	2.197	0.5	N/Conf
B2.7	1.96	1.388	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP
B2.8	2.258	0.247	N/Conf
B2.9	2.004	1.224	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP
B2.10	1.825	1.91	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP

Tabla 20. Análisis estadístico aplicando R^2 para verificar la confiabilidad de los datos del segundo muestreo.

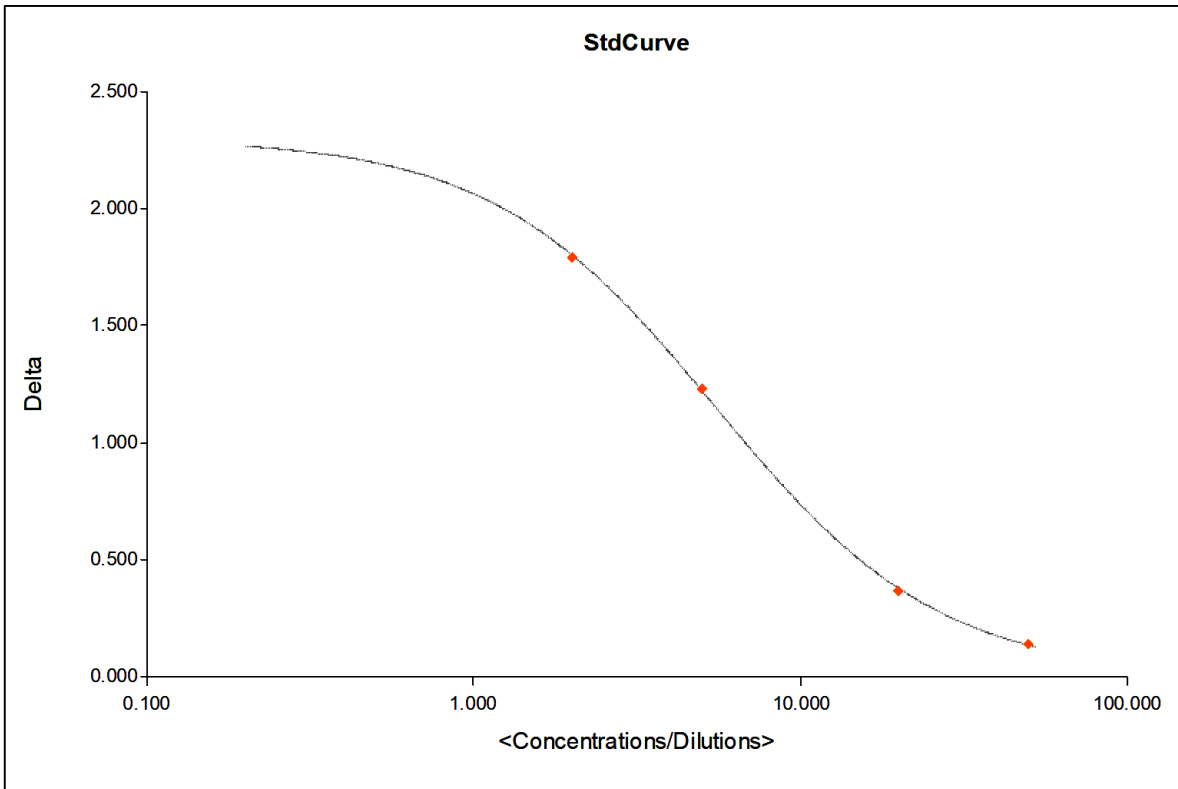
	Curve Name	Curve Formula	A	B	C	D	R^2
	StdCurve	$Y = (A - D) / (1 + (X/C)^B) + D$	2.3	1.27	5.5	0.00224	1

Curve Name	Curve Formula	Parameter	Value	Std. Error	95% CI min	95% CI max
StdCurve	$Y = (A - D) / (1 + (X/C)^B) + D$	A	2.3	0.0213	2.03	2.57
		B	1.27	0.0652	0.439	2.1
		C	5.5	0.26	2.19	8.81
		D	0.00224	0.0404	-0.511	0.515

Las muestras se encuentran en un nivel válido de prueba ya que R^2 igual a 1 significa un ajuste lineal perfecto, ya que $STC=SEC$, esto es, la variación total de la variable Y es explicada por el modelo de regresión. Por lo tanto, la prueba es válida a partir del estándar 1 mayor que 0.5 de concentración de AFB₁.

Figura 20

Gráfico de la curva estándar de R^2 para las muestras del segundo muestreo.



Nota: Se verifica que los resultados Delta (diferencia de 450nm y 630 nm) con respecto al factor de dilución 1:1 ha sido válida debido a que los puntos de datos están en el marco de la curva de R^2 , por lo tanto, los resultados de las muestras evaluadas están dentro de los límites permisibles de acuerdo a la FAO/OMS a excepción de las muestras 2.7, 2.8 y 2.10.

Muestreo No. 3. Prueba realizada el 18 de noviembre de 2022. Laboratorio de AgroBiotek.

Se presentan las tablas de resultados de las muestras obtenidas de once puntos de muestreo realizados en las fechas de 5 y 6 de noviembre de 2022, corriendo las pruebas en el laboratorio de Agrobiotek, para comprobar o descartar la presencia o ausencia de AFB₁ significativo y su respectiva cuantificación.

Tabla 22. Resultados del tercer muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 450 nm, donde se procesaron once muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	nm
A	2.269	1.944	1.409	0.452	0.214	2.32	2.278	2.291	2.265	2.298	2.192	2.222	450
B	2.142	2.275	2.3	2.143	0	0	0	0	0	0	0	0	450
C													450
D													450
E													450

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras y las codificó de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, con el apoyo del software Gen5 Five, se realizó la lectura de las muestras del tercer muestreo y presenta los resultados con el viraje de color, con el filtro de 450 nm.

Tabla 23. Resultados del tercer muestreo para la cuantificación de absorbancia de AFB₁ con filtro de 630 nm, donde se procesaron once muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	nm
A	0.041	0.041	0.045	0.038	0.043	0.043	0.047	0.045	0.049	0.042	0.042	0.044	630
B	0.043	0.043	0.041	0.043	0	0	0	0	0	0	0	0	630
C													630
D													630

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras y las codificó de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, con el apoyo del software Gen 5, se realizó la lectura de las muestras del tercer muestreo y presenta los resultados con el viraje de color, con el filtro de 630 nm.

Tabla 24. DELTA de resultados del tercer muestreo de la cuantificación de absorbancia de AFB₁, se procesaron 11 muestras.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	2.228	1.903	1.364	0.414	0.171	2.277	2.231	2.246	2.216	2.256	2.15	2.178	Delta
B	2.099	2.232	2.259	2.1	0	0	0	0	0	0	0	0	Delta
C													Delta
D													Delta
E													Delta

El espectrofotómetro ELISA BioTek® Elx800 evaluó las muestras del tercer muestreo y se codificaron de acuerdo a la comparación de los estándares de Aflatoxinas, es Delta ya que es la diferencia (resta) de los filtros de 450 nm y 530 nm, cabe destacar que este es el resultado más importante ya que muestra la absorbancia real que la prueba evaluó. Además, los resultados de las muestras se encuentran ordenadas de acuerdo a cada uno de los puntos de muestreo analizados. Se observa, además que los niveles de absorbancia de las muestras 3.6, 3.8 y 3.11 con una leve disminución de absorbancia.

Tabla 25. Resultados de la concentración de Aflatoxina B₁ contenida en las muestras de masa de maíz. Tercer muestreo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	<0.000	2.018	4.978	20.155	49.301	<0.000	<0.000	<0.000	0.177	<0.000	0.695	0.505	[Concentration]
B	1	<0.000	<0.000	0.994	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	>52.500	[Concentration]
C													[Concentration]
D													[Concentration]
E													[Concentration]

La prueba ELISA evaluó la concentración de AFB₁ contenida en las muestras de masa de maíz del tercer muestreo, así mismo se comprueba que los estándares están en óptimas condiciones y viables, ya que brindan un parámetro comparativo para el resto de muestras. Algunas muestras presentan una variación de las cantidades de concentración debido a un ruido del análisis por el equipo BioTek® Elx800. Se observa, además, un incremento en la concentración de AFB₁ en las muestras 3.6, 3.8 y 3.11.

Tabla 26. Tabla Resumen de los resultados con respecto a la cuantificación de absorbancia y concentración de las muestras analizadas del tercer muestreo.

Muestra	Absorbancia (Delta)	Concentración	Observaciones
B3.1	2.277	<0.000	N/Conf
B3.2	2.231	<0.000	N/Conf
B3.3	2.246	<0.000	N/Conf
B3.4	2.216	0.177	Se observa la presencia de AFB1, que está bajo el NMP
B3.5	2.256	<0.000	N/Conf
B3.6	2.15	0.695	Se observa la presencia de AFB1, que está bajo el NMP
B3.7	2.178	0.505	Se observa la presencia de AFB1, que está bajo el NMP
B3.8	2.099	1	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP
B3.9	2.232	<0.000	N/Conf
B3.10	2.259	<0.000	N/Conf
B3.11	2.1	0.994	Se observa la presencia de AFB1, que está cerca del NMP

Tabla 27. Análisis estadístico aplicando R^2 para verificar la confiabilidad de los datos del tercer muestreo.

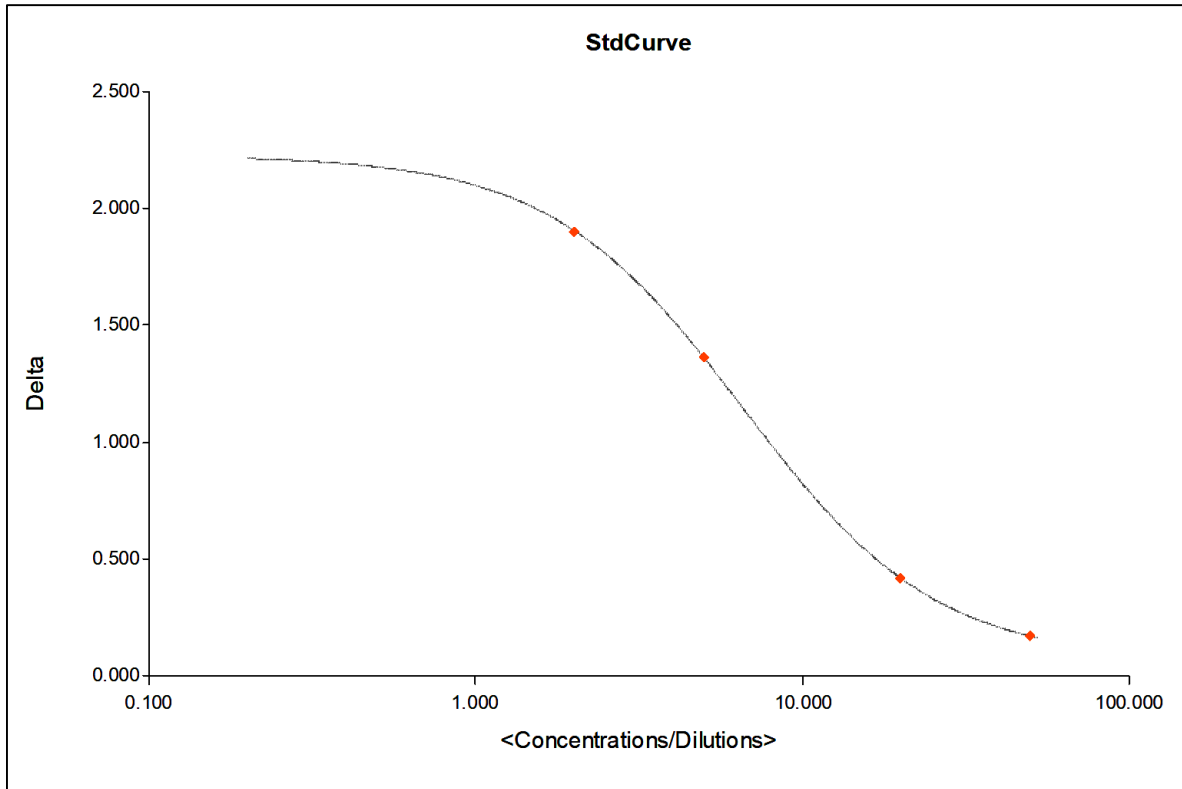
	Curve Name	Curve Formula	A	B	C	D	R2
	StdCurve	$Y = (A - D) / (1 + (X/C)^B) + D$	2.23	1.47	6.58	0.0646	1

Curve Name	Curve Formula	Parameter	Value	Std. Error	95% CI min	95% CI max
StdCurve	$Y = (A - D) / (1 + (X/C)^B) + D$	A	2.23	0.00632	2.15	2.31
		B	1.47	0.0233	1.17	1.77
		C	6.58	0.0887	5.45	7.7
		D	0.0646	0.0113	-0.0794	0.209

Las muestras del tercer muestreo se encuentran en un nivel válido de prueba ya que R^2 igual a 1 significa un ajuste lineal perfecto, ya que $STC=SEC$, esto es, la variación total de la variable Y es explicada por el modelo de regresión. Por lo tanto, la prueba es válida a partir del estándar 1 mayor que 0.5 de absorbancia.

Figura 21

Gráfico de la curva estándar de R2 para las muestras del tercer muestreo.



Nota: Se verifica que los resultados Delta (diferencia de 450nm y 630 nm) con respecto al factor de dilución 1:1 ha sido válida debido a que los puntos de datos están en el marco de la curva de R², por lo tanto, los resultados de las muestras evaluadas están dentro de los límites permisibles de acuerdo a la FAO/OMS a excepción de las muestras 3.6, 3.8 y 3.11.

DISCUSIÓN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por algunos hongos filamentosos de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, y *Fusarium*. Dentro de este grupo de sustancias tóxicas, las más importantes son las aflatoxinas (Moss, 2002; Richard J. M., 2007), moléculas derivadas de las difuranocumarinas producidas por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nonius* (Moss, 2002). A pesar de la importancia de estos compuestos, limitada información existe referente a la presencia de estas micotoxinas en un producto de alto consumo como la masa de maíz. Por esta razón, en el presente estudio se utilizó el método ELISA para determinar y cuantificar la presencia de AFB₁ en 33 muestras de masa de maíz.

Las pruebas se realizaron en muestras húmedas. Algunas de las muestras presentaron contaminación por aflatoxinas con base a los siguientes límites de detección (µg/kg) del método analítico del primer muestreo: 0.674 y 0.687, representan niveles de concentración de incidencia que están cerca del límite 1 para AFB₁. Las muestras del segundo muestreo evidenciaron niveles de concentración de: 1.388, 1.224 y 1.91, representan niveles de concentración de incidencia que están cerca del límite 2 para AFB₁. Las muestras del tercer muestreo evidenciaron niveles de concentración de: 0.695, 0.505, 1 y 0.994. Están cerca del límite de 1 para AFB₁. Estos valores forman parte de la estandarización del método analítico y fueron provistos por el Laboratorio de Agrobiotek. Por lo tanto, ninguna de las muestras presentó un nivel de contaminación superior a los límites establecidos para el consumo humano con respecto a los límites permisibles para la (FAO/OMS, 2018).

En la literatura científica no existen estudios similares que se realicen en masa de maíz listo para el consumo humano. Sin embargo, existen estudios en maíz sin cocción a nivel de otros países en los que se han encontrado grados de contaminación relativamente bajos (Abyntek, 2016). En uno de estos estudios se reportó un valor promedio de 3µg/kg (16,6%) de AFB₁ y un valor menor a 10 µg/kg (16.7%) por aflatoxinas totales en maíz blanco, para Colombia (Martínez, Vargas del Río, y Gómez Quintero, 2013). En el Ecuador, específicamente en un estudio realizado en Quito se encontraron valores de 0,68 µg/kg en harina de maíz, para AFB₁, (Vallejo, 2012).

Esto contrasta con lo que menciona Acuña *et al.* (2005), reportó en su estudio una incidencia elevada y altos niveles de AFB₁ (>100 µg/kg) presentes en lotes de maíz. En su análisis encontró una gran diversidad de especies de hongos micotoxigénicos que incluyeron *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *A. Ochraceus*, *A. tamarii*, *A. fumigatus* y *Fusarium moliniforme*. Salazar (2008), realizó una investigación sobre la presencia de aflatoxinas en granos de maíz; mediante cromatografía, en la cual obtuvo como resultado que el 28.57% de las muestras analizadas estaban contaminadas.

En El Salvador, la determinación de aflatoxinas en uno de los cereales básicos de la dieta alimentaria como lo es el maíz, únicamente se ha registrado a nivel de grano. Vega (2011), reportó en su investigación que las muestras de maíz analizadas para consumo humano la mayoría presentaron valores muy por debajo de los valores establecidos por la FAO/FDA, ya que el mayor promedio registrado fue de 8.9 ppb. De igual manera, (Hernández *et al.* 2015) menciona en su

investigación que la prevalencia de aflatoxinas en las muestras de maíz fue de 13.8% indicando que el valor mediano fue de 18 ng.g⁻¹.

Hay que destacar que las muestras se encuentran en un nivel válido de prueba ya que R^2 igual a 1 significa un ajuste lineal perfecto, esto es, la variación total de la variable Y es explicada por el modelo de regresión. Por lo tanto, la prueba ELISA es válida a partir del estándar 1 mayor que 0.5 de concentración de AFB₁.

CONCLUSIONES

Los resultados de la investigación arrojaron un resultado para el primer muestreo de cuatro muestras sospechosas de AFB₁, las cuales tienen una concentración de 0.674 a 0.197 y un valor de absorbancia de entre 2.33 a 2.387, lo que constituye el 33.32% de presunción de contaminación.

Los resultados para el segundo muestreo demuestran que, de los 10 puntos muestreados, 6 demuestran sospechas de la presencia de AFB₁, la concentración reflejada está en el intervalo de 0.265 a 1.388, con un nivel de absorbancia de 2.254 a 1.96, lo cual indica que está cerca del NMP, esto constituye un 60% de presunción de contaminación.

Para el tercer muestreo, se verifica un nivel de concentración de AFB₁ que oscila entre 0.177 a 1, con un nivel de absorbancia de 2.216 a 2.099. Lo que constituye un 45.45% de presunta presencia de AFB₁.

Esta investigación encontró mediante la prueba ELISA que las muestras de masa de maíz de molinos artesanales presentaron contaminación por debajo del límite permisible de 2.0 de AFB₁ de acuerdo a lo que establece la FAO/OMS y RTS, Por lo que la hipótesis nula se verifica. Así mismo los valores de AFB₁ no sobrepasan lo NMP de 2.0 a 50.0, por lo tanto, no es un factor de riesgo por el consumo de productos derivados del maíz procedentes de diferentes molinos artesanales de Suchitoto.

Según la experimentación realizada, se demostró que el método ELISA no solo es viable técnicamente, sino que también es factible de implementar para la detección cuantitativa y cualitativa de toxinas en alimentos; y obtener resultados congruentes.

La principal forma de combatir las micotoxinas es la prevención de la contaminación fúngica durante todas, las etapas de la cadena productiva mediante la implementación de sistemas de calidad y análisis de peligros y puntos críticos de control.

En El Salvador no se realiza vigilancia y control sobre las micotoxinas en alimentos; representado esto un riesgo potencial para la salud humana y animal por el consumo de alimentos que se sabe son susceptibles de contaminación fúngica y que posiblemente puedan contener elevados niveles de AFB₁, por lo tanto, se hace necesario el desarrollo de políticas de salud pública que regulen y controlen los niveles de micotoxinas en alimentos para garantizar su inocuidad.

Se demostró que la hipótesis alterna bajo la que se planteó la investigación fue aceptada según los parámetros evaluados, sino también porque fue una innovación para la detección de toxinas alimentarias y para que también sea utilizada como una línea base de información para el campo microbiológico y toxicológico.

RECOMENDACIONES

Se recomienda la realización de más estudios a nivel de grano para comprobar la existencia de especies productoras de AFB₁, lo que permitirá ampliar el horizonte de conocimientos sobre la problemática de estos metabolitos secundarios.

Se recomienda tomar muestras de maíz producida y almacenada en zonas climatológicamente críticas en diferentes épocas del año para comparar la variabilidad de especies contaminantes en los cultivos de maíz.

El cambio climático afecta considerablemente la contaminación de los alimentos por AFB₁, ya que un incremento en la temperatura favorece el crecimiento de *A. flavus* por lo que se debería implementar un programa sistemático de vigilancia de la contaminación de los alimentos no solo para Aflatoxinas sino para las micotoxinas en general.

Se recomienda realizar nuevas investigaciones con muchas más muestras para aumentar la variabilidad de datos y resultados.

Dar charlas educativas sobre los cuidados que deben de tener al almacenar el maíz, como estrategias de prevención, educando a los pobladores del municipio de Suchitoto sobre la importancia que tiene el evitar la presencia de AFB₁ en el maíz de consumo. Esto es de suma importancia ya que el maíz forma parte de la dieta diaria salvadoreña.

Determinar la procedencia y tiempo de almacenamiento del maíz que se vende en los mercados, ya que es la fuente dónde más compran las personas del municipio de Suchitoto el maíz de consumo.

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, M. L. (2010). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Rev Iberoam Micol*, 79-84. Obtenido de <http://www.reviberoammicol.com/2000-17/S79S84.pdf>
- Abyntek. (5 de Octubre de 2016). *Qué características buscar en un Kit ELISA*. Obtenido de Abyntek: <https://www.abyntek.com/caracteristicas-buscar-kit-elisa/>
- Acuña, C., Díaz, G., & Espitia, M. (2005). Aflatoxinas en maíz: reporte de caso en la Costa Atlántica Colombiana. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 52(2), 156-162. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/4076/407639209007.pdf>
- Agrobiotek. (2022). *Acerca del grupo AgroBiotek*. Obtenido de ABT Internacional: <https://www.agrobiotek.com/>
- Alicante. (6 de Enero de 2020). *Amonización*. Obtenido de <https://glosarios.servidor-alicante.com/agricultura/amonizacion>
- Almudena, A., & Lizaso, J. (2011). Hongos y Micotoxinas. *FUNDACIÓN IBÉRICA PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA*, 1(3), 9. Obtenido de https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo578.pdf
- Anguiano, G. L., Vargas, A. V., & Guzmán, D. (2005). Inactivación de aflatoxina B1 y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su regeneración por acidificación de la masa. *Salud Pública de México*, 47(5), 7. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342005000500007
- Arango, S. (2011). Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Fac. Nac Salud Pública*, 30(1), 75-82. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbnmnibpcajpcgclclefindmkaj/http://www.scielo.org.co/pdf/rfnsp/v30n1/v30n1a09.pdf>
- Biodiversidad. (31 de Julio de 2022). *¿Qupe es la biodiversidad?* Obtenido de https://www.biodiversidad.gob.mx/biodiversidad/que_es.html
- Bogantes , P. (2008). Aflatoxinas. *Acta médica costarricense*, 46(4), 4. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/434/43446404.pdf>
- Burdaspal, P. (2018). Aflatoxinas en Alimentos. En *Alimentaria* (págs. 21-27).
- Centro de Biogenética. (s.f). *¿Qué es la Biogenética?* Obtenido de <https://www.centrobiotecnologia.cl/general/que-es-la-biogenetica/>
- CIBICI. (2022). *Micología de alimentos y micotoxicología*. Obtenido de CIBICI - Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología: <https://cibici.fcq.unc.edu.ar/es/micologia-alimentos-micotoxicologia>
- CK-12. (24 de Mayo de 2021). *Estructura de los hongos*. Obtenido de CK-12 Foundation: <https://flexbooks.ck12.org/cbook/ck-12-conceptos-de-ciencias-de-la-vida-grados-6-8-en->

espanol/section/6.9/primary/lesson/estructura-de-los-hongos-%3A%3Aof%3A%3A-estructura-de-los-hongos-%3A%3Aof%3A%3A-conceptos-life-science-ck-12-para-la-escuela-media/

- Codex Alimentarius. (2017). *CÓDIGO DE PRÁCTICAS PARA LA PREVENCIÓN Y REDUCCIÓN DE LA CONTAMINACIÓN POR MICOTOXINAS EN LAS ESPECIAS*. Obtenido de https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B78-2017%252FCXC_078s.pdf
- Combita Prieto, A. d., & Mildenberg Ortíz, S. (2009). *Detección de Aflatoxina M1 en leches frescas comercializadas en la zona del Valle del Cauca (Colombia) mediante la técnica de Elisa*. [Tesis de licenciatura, Pontificia Universidad Javeriana]. Repositorio institucional, Bogotá, Colombia.
- Costas, G. (20 de marzo de 2014). *Ciclos biológicos*. Obtenido de <https://cienciaybiologia.com/ciclos-biologicos/>
- Díaz, N. A., Bárcena, A., Fernández, E., Galván, A., Jorrín, J., Peinado, J., . . . Túnez, I. (2018). Espectrofotometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Obtenido de [chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf](https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf)
- Diccionario actual. (2019). *Qué es biosintético*. Obtenido de <https://diccionarioactual.com/biosintetico/>
- EcuRed. (2016). *Suchitoto (El Salvador)*. Obtenido de [Ecured: https://www.ecured.cu/Suchitoto_\(El_Salvador\)](https://www.ecured.cu/Suchitoto_(El_Salvador))
- Elika. (28 de Febrero de 2013). *Aflatoxinas*. Obtenido de [Elika.net : https://seguridadalimentaria.elika.eus/wp-content/uploads/2018/01/19.Aflatoxinas.pdf](https://seguridadalimentaria.elika.eus/wp-content/uploads/2018/01/19.Aflatoxinas.pdf)
- Etece. (14 de Julio de 2022). *Alimentos*. Obtenido de [Concepto: https://concepto.de/alimentos/](https://concepto.de/alimentos/)
- European Food Safety Authority. (2021). *Aflatoxinas en los alimentos*. Obtenido de <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/aflatoxins-food#publicado>
- FAO. (1996). *Aflatoxinas contaminantes*.
- FAO. (2003). *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.
- FAO. (2004). *Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/y5499s/y5499s00.htm#Contents>
- FAO. (2004). *Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003*. ESTUDIO FAO ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN. Obtenido de <https://www.fao.org/3/y5499s/y5499s00.htm#Contents>

- FAO/OMS. (2017). *Codex Alimentarius. Normas Internacionales de los Alimentos*. Obtenido de https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXC%2B78-2017%252FCXC_078s.pdf
- FAO/OMS. (9 de Mayo de 2018). *Micotoxinas*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
- FDA. (Agosto de 2020). *Orientación para la industria: Niveles de acción para sustancias venenosas o nocivas en la alimentación humana y la alimentación animal*. Obtenido de FDA-2020-D-1956.: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-action-levels-poisonous-or-deleterious-substances-human-food-and-animal-feed>
- FUNDE. (2016). *Plan de Competitividad Municipal de Suchitoto*. USAID.
- Gimeno, A., & Martins, M. L. (2011). *Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos* (3 ed.). Obtenido de <https://www.engormix.com/MA-micotoxinas/noticias/micotoxinas-micotoxicosis-animales-humanos-t17140/p0.htm>
- Grupo Calero. (21 de Septiembre de 2020). *Concepto de agroindustria*. Obtenido de <https://www.calero-group.com/concepto-de-agroindustria/>
- Guerrero, A., & Parreño, J. (2016). Determinación de Micotoxinas por el Método de ELISA en Soya para Aves en Producción en la Provincia de Chincha, año 2016. *SciELO*, 14. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v84n1/a04v84n1.pdf>
- Guzmán de Peña, D. (2007). La exposición a la aflatoxina B1 en animales de laboratorio y su significado en la salud pública. *Salud pública de México*, 8. Obtenido de <https://www.scielosp.org/article/spm/2007.v49n3/227-235/es/>
- Hernández, J. R., Martínez, R. I., & Cruz, A. T. (2015). *Aflatoxinas y Ocratoxinas totales en maíz destinado al autoconsumo en El Salvador: prevalencia e incidencia de casos de contaminación en 2015 y factores ambientales asociados*. Universidad Andrés Bello, Laboratorio de Investigación en Toxinas y Alérgenos. Obtenido de <https://www.unab.edu.sv/wp-content/uploads/2016/12/INVESTIGACION/INFORME%20FINAL%20SALUD%202015.pdf>
- Higiene Ambiental. (6 de Marzo de 2017). *Mapa global de riesgo de micotoxinas en granos y piensos 2017*. Obtenido de Higiene Alimentaria: <https://higieneambiental.com/higiene-alimentaria/mapa-global-de-riesgo-de-micotoxinas-en-granos-y-piensos-2017>
- Iltis, H. H., & Doebley, J. F. (1980). *Amer. J. Bot.*
- iNaturalist. (2021). *Aspergillus flavus*. Obtenido de <https://ecuador.inaturalist.org/taxa/350136-Aspergillus-flavus>
- Intagri. (2021). *Aflatoxinas en maíz*. Obtenido de Intagri: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/aflatoxinas-en-maiz>

- IVAMI. (09 de Febrero de 2016). *Micotoxinas y Micotoxicosis, hongos productores en muestras digestivas de animales*. Obtenido de <https://www.ivami.com/es/microbiologia-veterinaria-molecular/5820-micotoxinas-micotoxicosis-hongos-productores-en-muestras-digestivas-de-animales-granos-piensos-plantas-tierra-cultivo-de-hongos-diagnostico-molecular-de-genes-codificantes-de-micotoxinas-pc>
- Kato, T. Á., Mapes, C., Mera, L. M., Serrato, J. A., & Bye, R. A. (2009). *Origen y Diversificación del Maíz. Una revisión analítica*. Universidad Nacional Autónoma de México, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Obtenido de https://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/versiones_digitaless/Origen_deMaiz.pdf
- Kolpin, D. W., Schenzel, J., Meyer, M. T., Phillips, P. J., Hubbard, L. E., Scott, T. M., & Bucheli, T. D. (2014). Mycotoxins: diffuse and point source contributions of natural contaminants of emerging concern to streams. *Science of the Total Environment*, 470-471, 669-676. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.09.062>
- Landa, C., & Robles, j. (2011). *Soluciones Buffer o Amortiguadoras*. Obtenido de <http://corinto.pucp.edu.pe/quimicageneral/contenido/368-soluciones-buffer-o-amortiguadoras.html>
- Lerda, D. (2011). Mycotoxins Factsheet. *JCR Technical notes*, 44. Obtenido de <https://www.nutfruit.org/files/llei/48078.pdf>
- Lewis, L., Onsongo, M., Njapau, H., Schurz-Rogers, H., Lubber, G., Kieszak, S., . . . Rubin, C. (2005). Aflato-xin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environmental Health Perspectives*, 113(12), 1763-1767. doi:<https://doi.org/10.1289/ehp.7998>
- López, D. G., & Chávez, F. J. (2012). *Determinación de aflatoxinas en maíz importado para elaborar concentrado de cerdos manufacturado por fábricas, ubicadas en los departamentos de Cabañas, Sonsonate y La Libertad*. [Tesis de Licenciatura, Uiversidad de El Salvador]. Obtenido de <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2205/>
- Marín, S., Cano-Sancho, G., Sanchis, V., & Ramos, A. J. (2018). The role of mycotoxins in the Human Exposome: application of mycotoxin biomarkers in exposome-health studies. *Food and Chemical Toxicology*(121), 514-518. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.039>
- Marín, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., & Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and Chemical Toxicology*, 60, 218-237. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.047>
- Martínez, M. M., Vargas del Río, L. M., & Gómez Quintero, V. M. (2013). Aflatoxinas: Incidencia, Impactos en la Salud, Control y Prevención. *Biosalud*, 12(2), 89-109. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v12n2/v12n2a08.pdf>
- Mas, D. A. (15 de Junio de 2018). *Biocontroladores: una herramienta para el control de plagas y enfermedades*. Obtenido de Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria: <https://inta.gob.ar/noticias/biocontroladores-una-herramienta-para-el-control-de-plagas-y-enfermedades#:~:text=Los%20biocontroladores%20son%20productos%2C%20de,tampoco%20para%20el%20medio%20ambiente.>

- Medina, D. O. (2017). *Aislamiento e Identificación de Aspergillus Spp en Heces de Palomas (Columba Livia), en la Uaaan Ul. México.*
- MicronBio Systems. (Septiembre de 2020). *El remedio para las micotoxinas específico para especies.* Obtenido de Nutrinews: <https://nutrinews.com/el-remedio-para-las-micotoxinas-especifico-para-especies/?reload=yes>
- Morales, H. (2008). Mohos productores de micotoxinas [Universidade do Minho]. Centre for Biological Engineering. Obtenido de <https://core.ac.uk/download/pdf/185627955.pdf>
- Moss, M. (2002). Centenary Review: Mycotoxins. *Mycology research*, 116-119.
- NCI. (28 de Diciembre de 2018). *Aflatoxinas.* Obtenido de Instituto Nacional del cáncer: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/causas-prevencion/riesgo/sustancias/aflatoxinas/aflatoxinas#:~:text=Las%20aflatoxinas%20son%20un%20tipo,c%3%A1scara%20dura%20como%20las%20nueces>.
- NCI. (2019). *Anticancerígeno.* Obtenido de NIH: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/anticancerigeno>
- Norman, M., & Kaplan, M. (2015). Clinical Implications of Mycotoxins and Stachybotrys. *The American Journal of the Medical Sciences*, 262-274.
- Nutrinews. (11 de Octubre de 2021). *Toxicidad de las micotoxinas y evaluación de riesgos.* Obtenido de NutriNews: <https://nutricionanimal.info/toxicidad-de-las-micotoxinas-y-evaluacion-de-riesgos/>
- Nutrinews. (19 de Enero de 2022). *Un nuevo enfoque en detoxificantes de micotoxinas.* Obtenido de <https://nutricionanimal.info/toxidex-primus-dex-un-nuevo-enfoque-en-detoxificantes-de-micotoxinas-2/>
- OMS. (9 de Mayo de 2018). *Micotoxinas.* Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins#:~:text=Las%20micotoxinas%20son%20compuestos%20t%C3%B3xicos,desecadas%2C%20frutos%20secos%20y%20especies>.
- Orchardson, E. (23 de Marzo de 2021). *¿Qué es la nixtamalización?* Obtenido de CIMMYT: <https://www.cimmyt.org/es/noticias/que-es-la-nixtamalizacion/>
- Ornelas-Aguirre, J. M., & Fimbres-Morales, A. (2015). Aflatoxinas y su Asociación con el Desarrollo de Carcinoma Hepatocelular. *FELSOCEM*, 7.
- Ozturk, M., Bressac, B., Volkmann, M., & Bozcall, S. (2019). P53 Mutation in hepatocellular carcinoma after aflatoxin exposure. *Lancet*, 1356-1359.
- Parada, R. (9 de Septiembre de 2020). *Morfología de los hongos.* Obtenido de Lifeder: <https://www.lifeder.com/morfologia-hongos/>
- Pascale, M. (2009). Detection methods for mycotoxins in cereal grains and cereal products. 15-25.
- Pérez, J., & Gardey, A. (14 de Julio de 2015). *Aerobios - Qué es, surgimiento, definición y concepto.* Obtenido de Definición.de:

- <https://definicion.de/aerobios/#:~:text=Los%20aerobios%20son%20los%20organismos,lo%20aerobio%20es%20lo%20anaerobio.>
- Pittet, A. (2005). Modern methods and trends in mycotoxin analysis. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 424-444.
- Quintanilla, L. (15 de Julio de 2013). *El Salvador destaca por cosecha de maíz*. Obtenido de FAO: <https://www.fao.org/in-action/agronoticias/detail/es/c/512353/>
- RAE. (2022). *Conceptos*. Obtenido de <https://dle.rae.es/germinar>
- Ramos, A. J., Marín, S., Molino, F., Vila, P., & Sanchis, V. (2020). MYCOTOXINS: THE SILENT ENEMY. *ARBOR Ciencia, Pensamiento y Cultura*, 196(795), 13. doi:<https://doi.org/10.3989/arbor.2020.795n1004>
- Ramos, M. (2014). *Microbiología*. Obtenido de <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/11/morfologia-de-hongos.html>
- Rawal, S., & Coulombe, R. (2011). *Metabolism of aflatoxin B1 in turkey liver microsomes: the relative roles of cytochromes P450 1A5 and 3A37*. *Toxicol Appl Pharmacol*.
- Reglamento Técnico Salvadoreño. (2017). “*RTS 67.06.01:13 Fortificación de alimentos. Especificaciones (Azúcar, sal, harina de maíz nixtamalizado y pastas alimenticias)*”. Ministerio de Salud. Diario Oficial de El Salvador. Obtenido de http://asp.salud.gob.sv/regulacion/pdf/reglamento/rts_acuerdo_600_%20reglamento_tecnico_salvadoreno_fortificacion_de_alimentos_v2.pdf
- Richard, J. L. (2015). *¿Qué es la aflatoxina?* Obtenido de Romerlabs: <https://www.romerlabs.com/en/knowledge-center/knowledge-library/articles/news/what-is-aflatoxin/>
- Richard, J. M. (2007). Some major mycotoxins and their mycotoxicoses. *International Journal of Food Microbiology*, 3-10.
- Romer Labs. (2021). *AgraQuant® Aflatoxin B1 ELISA test*. Obtenido de https://www.romerlabs.com/shop/inter_en/agraquant-r-aflatoxin-b1-elisa-test/#theme.catalog.product.description.properties
- Ruano, L. A., & Zermeño-Pohls, F. (2015). Ergotismo. Presentación de un caso y revisión de la bibliografía. *Neurol*, 40(07). doi: <https://doi.org/10.33588/rn.4007.2003578>
- Ruíz, J. R. (2016). Las micotoxinas y salud. *Scielo*, 2. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v82n4/a01v82n4.pdf>
- s.a. (2022). *Climas*. Obtenido de <https://www.gtush.com/clima-calido/>
- Salazar, L. F. (2008). *Determinación de la presencia de aflatoxinas en granos de maíz (Zea mays) producidos en Petén y distribuidos en la Central de Mayoreo de la ciudad capital, y elaboración de un Análisis de Peligros y Puntos de la ciudad capital, y elaboración de un APPCC*. [Tesis de licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala] Repositorio institucional, Guatemala. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2684.pdf

- San Martín, B. (2001). *Residuos químicos en los alimentos de origen animal: un análisis global de la situación mundial y nacional*. TECNOVET.
- Sanabria, N., Martpinez, Y., & López, A. (2017). Methods for the determination of aflatoxins in foods. *Revista Agrollanía*, 14, 51-58. Obtenido de <https://biblat.unam.mx/hevila/Agrollania/2017/vol14/8.pdf>
- SCANCO. (2022). *Análisis de Micotoxinas*. Obtenido de Sacnco: <https://scancotec.com/productos/analisis-de-micotoxinas/>
- Serrano-Coll, H. A., & Cardona Castro, N. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *Revista CES Medicina*, 29(1), 143-151. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=261140733012>
- Significados. (14 de Marzo de 2023). *Significado de Calidad*. Obtenido de <https://www.significados.com/calidad/>
- Soriano del Castillo, J. M., Abarca, L., Ramdani, H. B., Bragulat Arará, R., Burdaspal, P., Cabañes Sáenz, J., . . . Castellá Gómez, G. (2015). *Micotoxinas en Alimentos*. Díaz de Santos. Obtenido de <https://www.editdiazdesantos.com/libros/soriano-del-castillo-jose-miguel-micotoxinas-en-alimentos-L03008080101.html>
- Statistical Discovery. (2022). *ANOVA de un factor*. Obtenido de JMP Statistical Discovery: https://www.jmp.com/es_pe/statistics-knowledge-portal/one-way-anova.html
- Sun, Z., Zhang, Q., Ming, L., Gail, M., & Pee, D. (2021). Increased risk of hepatocellular carcinoma in male hepatitis B surface antigen carriers with chronic hepatitis that have delectable urinary aflatoxin metabolite M1. *Hepatology*, 379-383.
- Torres, V. M. (2011). *Preexposicion a Itraconazol atenuando la eficacia de posteriores terapias de la anfotericina B en un modelo murino de aguda Aspergilosis pulmonar invasiva. [Tesis doctoral]*. Repositorio Institucional, Barcelona.
- Tribó, F. (2019). *Estrategias de prevención y control para minimizar la contaminación por micotoxinas en maíz*. Obtenido de Crop Focus Servicio Agronómico: https://www.pioneer.com/CMRoot/International/Spain/images/Publications/prevencion_y_control_de_micotoxinas_en_maiz.pdf
- UNAV. (2021). *Antifúngico*. Obtenido de Diccionario médico: <https://www.cun.es/diccionario-medico/terminos/antifungico>
- Universidad de Granada. (2017). *Biotransformación*. Obtenido de Metabolismo: <https://www.ugr.es/~ajerez/proyecto/t3-24.htm#:~:text=La%20BIOTRANSFORMACI%C3%93N%20o%20METABOLISMO%20consiste,poco%20t%C3%B3xico%20y%20f%C3%A1cilmente%20eliminable.>
- Urquizo, E., & Sánchez, N. (2019). EXTRACTO DEL MAÍZ MORADO COMO INDICADOR QUÍMICO. *Revista Chakiñan de Ciencias Sociales y Humanidades*(9), 92-104. doi:<https://doi.org/10.37135/chk.002.09.08>
- Urrego, J. R., & Díaz, G. J. (2006). Aflatoxinas: Mecanismos de Toxicidad en la Etiología de Cáncer Hepático Celular. *Revista Facultad de Medicina [Universidad Nacional de*

Colombia], 54(2), 10. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmun/v54n2/v54n2a06.pdf>

- Urrego, J., & Díaz, G. (2006). Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. *Revista Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Colombia*, 54. Obtenido de https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Aflatoxina-B-1-AFB-1-2-3-6a-a-9a-a-TETRAHI-DRO-4-METOXICICLOPENTA-C_fig1_237117964
- Vadequímica. (25 de Noviembre de 2016). *Bentonita, arcilla de uso industrial y profesional*. Obtenido de <https://www.vadequimica.com/blog/todos-los-articulos/bentonita-arcilla-de-uso-industrial-y-profesional.html>
- Vallejo López, M. J. (2012). *Determinación de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 presentes en harina de maíz del sector Tumbaco mediante el uso de columnas de inmunoafinidad (IAC) y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) [Tesis de Ingeniería, Escuela Politécnica del Ejército]*. Repositorio institucional. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/5013>
- Vargas, C. J., & Velásquez, V. P. (2013). *Propuesta de un método biológico para la detección de Aflatoxinas en alimentos*. Guayaquil.
- Vega, C. V. (2011). *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 de licenciatura. Universidad de El Salvador]*. Repositorio Institucional, San Salvador. Obtenido de https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2472/1/MICOTOXINAS_EN_GRANOS_DE_MAIZ.pdf
- Villar, A., Bermejo, P., & Aragón, S. (2021). Aspectos farmacológicos del citocromo P-450. 361-386.
- Villarreal, J. M. (2014). *Inclusión de arcillas esmectitas en masa de nixtamal para reducir la exposición de aflatoxinas y fumonisinas [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León]*. Repositorio Institucional, Nuevo León, México. Obtenido de <https://cd.dgb.uanl.mx/handle/201504211/5987>
- Villarreal, J. M. (2015). *Inclusión de arcillas esmectitas en masa de nixtamal para reducir la exposición de aflatoxinas y fumonisinas [Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León]*. Repositorio Institucional, Nuevo León, México. Obtenido de <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/4205>
- Vlastimil, D., Quinghua, K., & Kamil, K. (2014). *Metabolism of aflatoxins: key enzymes and interindividual as well as interspecies differences*. Arch Toxicol.

ANEXOS

Anexo A

Tabla 1.

Resumen de los resultados del primer muestreo, en la que se presentan los resultados de AFB₁ de las muestras de masa de maíz

Well ID	Name	Well	Conc/Dil	[Concentration]	Symbols ([Concentration])
SPL1	1.1	A6		<0.000	OUT-
SPL2	1.2	A7		<0.000	OUT-
SPL3	1.3	A8		<0.000	OUT-
SPL4	1.4	A9		<0.000	OUT-
SPL5	1.5	A10		<0.000	OUT-
SPL6	1.6	A11		<0.000	OUT-
SPL7	1.7	A12		<0.000	OUT-
SPL8	1.8	B1		0.674	No conf
SPL9	1.9	B2		0.405	No conf
SPL10	1.1	B3		<0.000	OUT-
SPL11	1.11	B4		0.687	No conf
SPL12	1.12	B5		0.197	No conf
SPL13		B6		>52.500	OUT+
SPL14		B7		>52.500	OUT+
SPL15		B8		>52.500	OUT+
SPL16		B9		>52.500	OUT+
SPL17		B10		>52.500	OUT+
SPL18		B11		>52.500	OUT+
SPL19		B12		>52.500	OUT+
STD1	Curva STD	A1	0	0.096	No conf
STD2	Curva STD	A2	2	1.961	No conf
STD3	Curva STD	A3	5	5.043	Diluir
STD4	Curva STD	A4	20	19.703	Diluir
STD5	Curva STD	A5	50	51.549	

Nota. La tabla presenta los resultados de las pruebas realizadas en las 12 muestras del primer muestreo en la que confirma la no presencia de AFB₁ a excepción de las muestras 1.8, 1.9, 1.11 y 1.12, cabe destacar que los estándares con concentraciones de 0, 2, 5, 20 y 50 demostraron ser viables para pruebas de comparación.

Anexo B

Tabla 2.

Resumen de los resultados del primer muestreo, en la que se presentan los resultados de AFB₁ de las muestras de masa de maíz.

Well ID	Name	Well	Conc/Dil	Delta	[Concentration]
SPL1	2.1	A6		2.128	0.764
SPL2	2.2	A7		2.42	<0.000
SPL3	2.3	A8		2.254	0.265
SPL4	2.4	A9		2.062	1.009
SPL5	2.5	A10		2.202	0.481
SPL6	2.6	A11		2.197	0.5
SPL7	2.7	A12		1.96	1.388
SPL8	2.8	B1		2.258	0.247
SPL9	2.9	B2		2.004	1.224
SPL10	2.1	B3		1.825	1.91
SPL11		B4		0	>52.500
SPL12		B5		0	>52.500
SPL13		B6		0	>52.500
SPL14		B7		0	>52.500
SPL15		B8		0	>52.500
SPL16		B9		0	>52.500
SPL17		B10		0	>52.500
SPL18		B11		0	>52.500
SPL19		B12		0	>52.500
STD1	Curva STD	A1	0	2.305	<0.000
STD2	Curva STD	A2	2	1.793	2.038
STD3	Curva STD	A3	5	1.233	4.919
STD4	Curva STD	A4	20	0.364	20.667
STD5	Curva STD	A5	50	0.142	47.678

Nota. La tabla presenta el resumen de los resultados de las pruebas realizadas en las 10 muestras del segundo muestreo en la que confirma la presencia de AFB₁ en las muestras 2.7, 2.8 y 2.10, cabe destacar que los estándares con concentraciones de 0, 2, 5, 20 y 50 demostraron ser viables para pruebas de comparación. Cada una de las muestras corresponden a la masa extraída de los molinos del Cantón “Milingo”, Barrio “La Cruz” y “Chinchitas” del Barrio El Centro.

Anexo C

Tabla 30.

Resumen de los resultados del tercer muestreo, en la que se presentan los resultados de AFB₁ de las muestras de masa de maíz.

Well ID	Name	Well	Conc/Dil	Delta	[Concentration]
SPL1	3.1	A6		2.277	<0.000
SPL2	3.2	A7		2.231	<0.000
SPL3	3.3	A8		2.246	<0.000
SPL4	3.4	A9		2.216	0.177
SPL5	3.5	A10		2.256	<0.000
SPL6	3.6	A11		2.15	0.695
SPL7	3.7	A12		2.178	0.505
SPL8	3.8	B1		2.099	1
SPL9	3.9	B2		2.232	<0.000
SPL10	3.10	B3		2.259	<0.000
SPL11	3.11	B4		2.1	0.994
SPL12		B5		0	>52.500
SPL13		B6		0	>52.500
SPL14		B7		0	>52.500
SPL15		B8		0	>52.500
SPL16		B9		0	>52.500
SPL17		B10		0	>52.500
SPL18		B11		0	>52.500
SPL19		B12		0	>52.500
STD1	Curva STD	A1	0	2.228	<0.000
STD2	Curva STD	A2	2	1.903	2.018
STD3	Curva STD	A3	5	1.364	4.978
STD4	Curva STD	A4	20	0.414	20.155
STD5	Curva STD	A5	50	0.171	49.301

Nota. La tabla presenta el resumen de los resultados de las pruebas realizadas en las once muestras del tercer muestreo en la que confirma la presencia de AFB₁ en las muestras 3.6, 3.8 y 3.11, cabe destacar que los estándares con concentraciones de 0, 2, 5, 20 y 50 demostraron ser viables para pruebas de comparación. Cada una de las muestras corresponden a la masa extraída del Molino “Los amigos” del Cantón “El Barío”, Barrio “La Cruz” y Molino San Juan “Carretera a Cinquera, cerca de cascada Los Tercios”.

Anexo D



Figura 23. Elaboración de solución de extracción.



Figura 24. Colocación de la muestra en viales de 100 mL.



Figura 25. Agitación de muestras durante 3 min.



Figura 26. Filtrado de la muestra usando papel Whatman #1

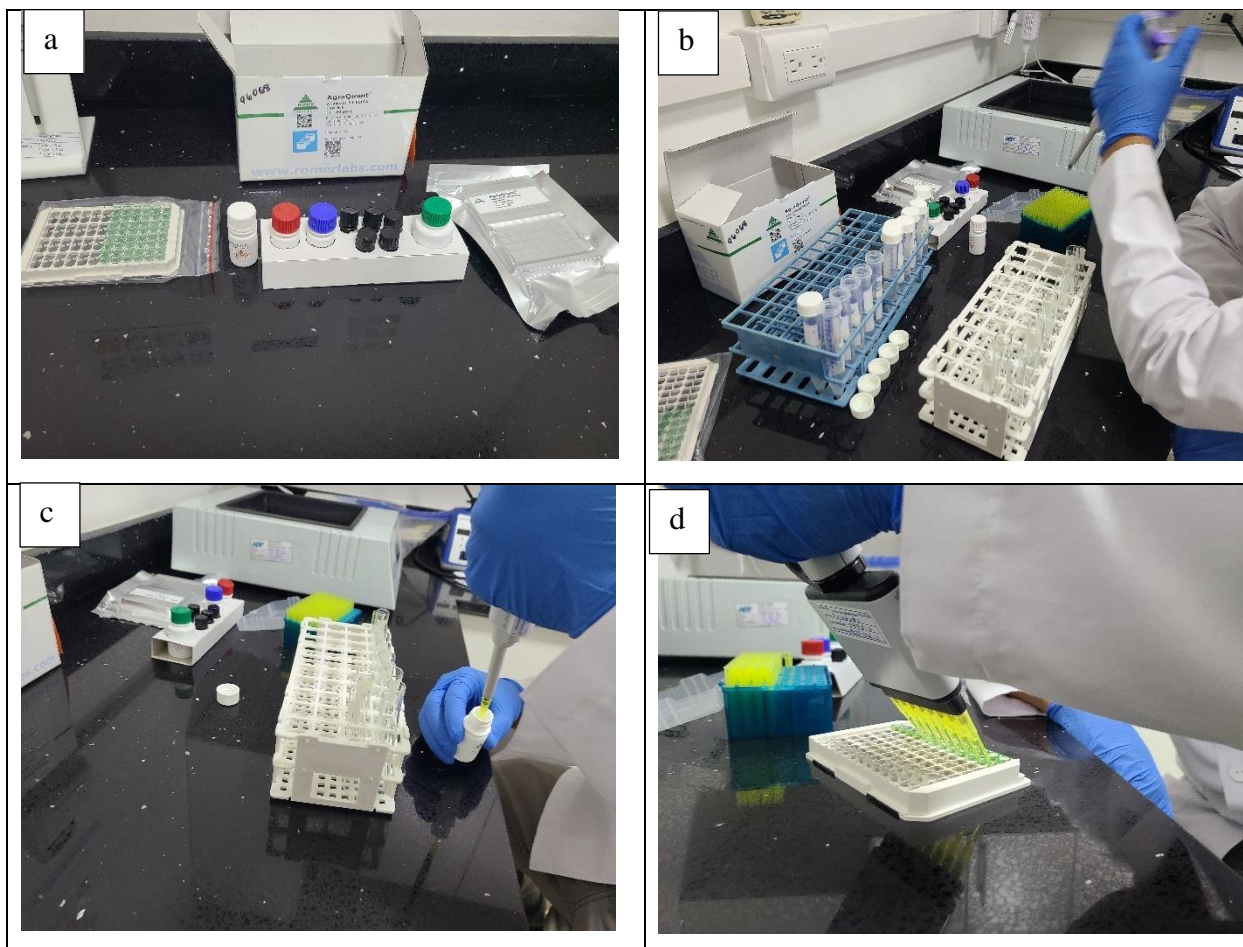
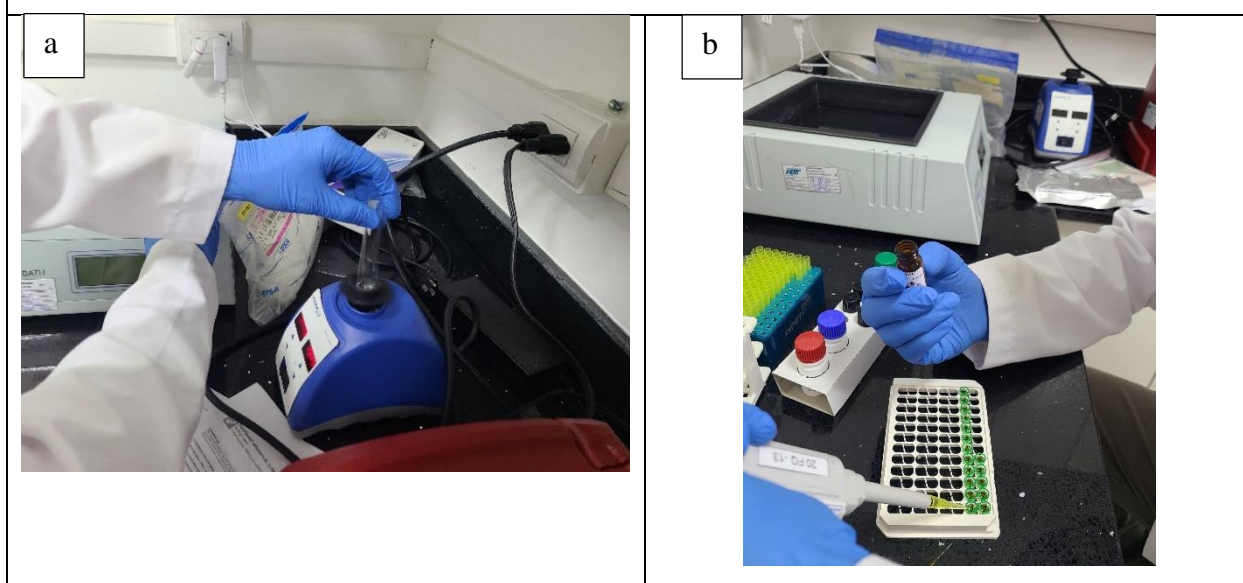


Figura 27. a, b, c, d. Se muestra el procedimiento de aplicación de buffer y estándares y extracción de AFB1, de las muestras a analizar.



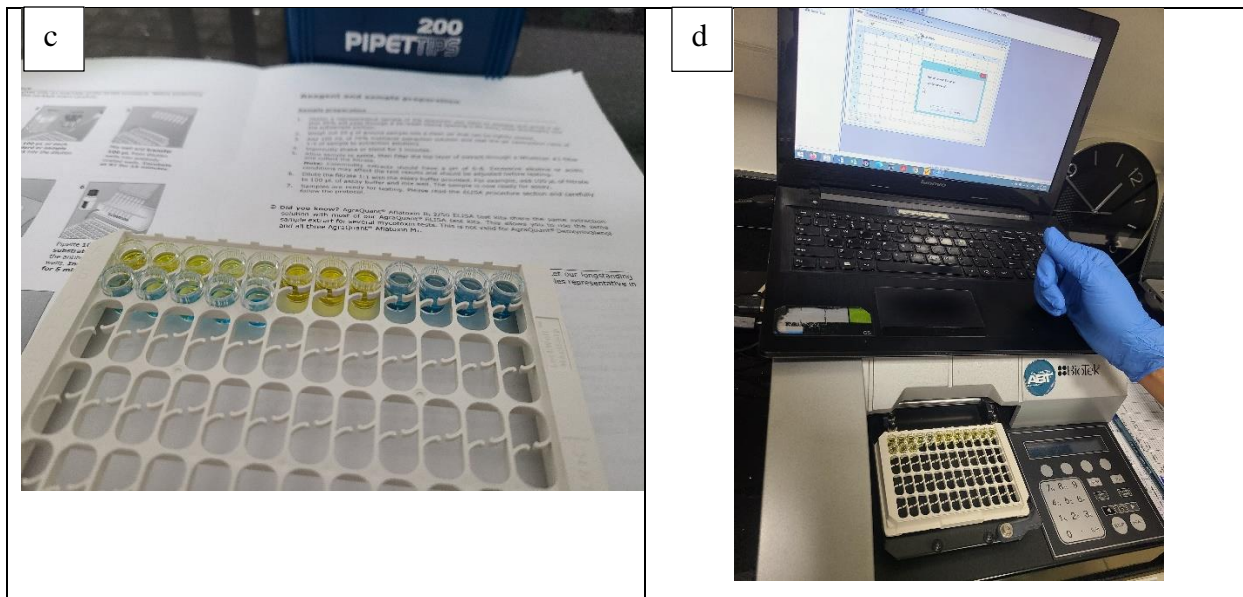


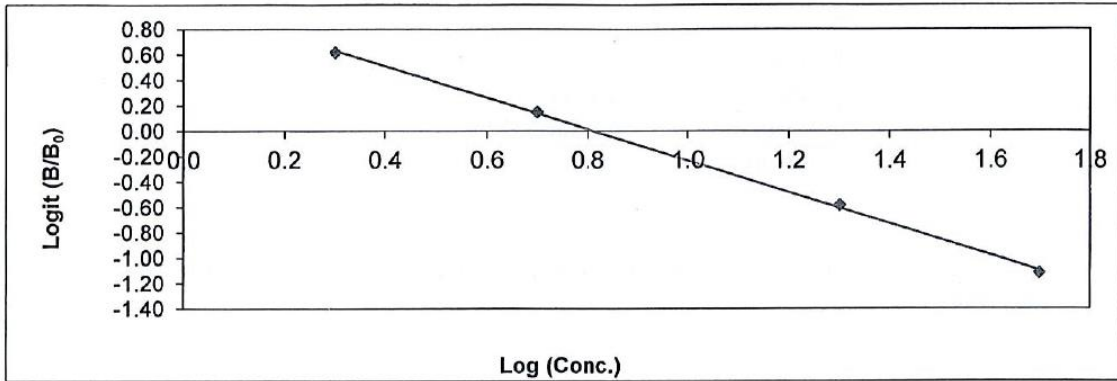
Figura 28 a, Agitación de la muestra con los buffers de extracción. b, Aplicación de los estándares de AFB₁. c, Viraje de color evidenciado en los micropocillos. d, análisis de las muestras en el lector de placas ELISA usando el software Gen5.

Anexo E

Certificate of Performance

Product name: **AgraQuant® Aflatoxin B1 ELISA Test Kit**
 Quantitation range: **2 - 50 ppb**
 Item number: **10002122/10002123**
 Lot number: 1000013744
 Expiry date: 19-Apr-2023
 Storage: refrigerated, 2 - 8 °C (do not freeze)

Results:



Correlation coefficient: -0.9997

Acceptance criteria R= -0.995 to -1.000

Sample ID	Mean OD (n=2)	B/Bmax [%]	CV [%]
Standard 1 - 0 ppb	2.055	100	4.0
Standard 2 - 2 ppb	1.657	81	0.8
Standard 3 - 5 ppb	1.202	58	0.7
Standard 4 - 20 ppb	0.425	21	0.9
Standard 5 - 50 ppb	0.145	7	1.4

Quality control sample ID	Concentration [ppb] (n=2)	CV [%]
Non-contaminated sample	< LOD	N/A
Corn contaminated, 10 ppb	8.7	1.1
Corn contaminated, 30 ppb	24.4	0.4

Note: Do not use these results for calculations. The optical density (OD) values for standards may decrease over the course of the kit's shelf life. The standard curve should retain its basic shape, although its slope may be subject to slight change. The OD value for standard 1 should be ≥ 0.5.



Romer Labs Division Holding GmbH
 Erber Campus 1, 3131 Getzersdorf, Austria.



Certificate of Performance

Product name: **AgraQuant® Aflatoxin B1 ELISA Test Kit**
Quantitation range: **2 - 50 ppb**
Item number: **10002122/10002123**
Lot number: 1000013744
Expiry date: 19-Apr-2023

Kit components:

	Lot number	Expiry date
Microtiter plate	1000007960	29-Sep-2023
Set of standards	1000013628	14-Oct-2023
Conjugate	1000013630	19-Apr-2023
Substrate	1000011479	19-Jan-2024
Stop solution	1000009149	12-Jan-2024
Assay Buffer	1000009317	19-Jan-2024

Romer Labs® certifies that this batch of test kits has passed quality control and conforms to the specifications above.

Date: 19-Apr-2022
Issued by: Denis Wetzel

Released by: Roman Forstner

This is a computer-generated document and is valid without a signature.



Romer Labs Division Holding GmbH
Erber Campus 1, 3131 Getzersdorf, Austria.



Anexo F

LISTA DE SÍMBOLOS

AFB₁	Aflatoxina B ₁
°C	Grados Celsius
Ppb	Partes por billón
ug/Kg	Microgramo por Kilogramos
Pm	Peso Molecular
nm	Nanómetros
ng Kg-1	Nanogramos por Kilogramos a la menos 1
µg/L	Microgramos por Litro
mm	Milímetros
gr	Gramos
µL	Microlitros
R²	R cuadrado (Coeficiente de determinación)
rpm	Revoluciones por minuto
STD	Estándares
ng/g	Nanogramos por gramos
cm	Centímetros

Anexo G

ABREVIATURAS

AFB₁	Aflatoxina B ₁
OTA	Ocratoxina A
PAT	Patulina
CIT	Citrinina
T-2	Toxina (T2); HT-2 (HT2)
TCTs	Tricotecenos
DON	Deoxinivalenol
3Ac-DON	3- Acetildeoxinivalenol
FBs	Fumonisinias
ZEN	Zearalenona
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
OMS	Organización Mundial de la Salud
RTS	Reglamento Técnico Salvadoreño
CYP 450	Citocromo P450
FDA	Administración de Drogas y Alimentos
ABT	Agrobiotek
Aco-A	Acetil Coenzima A
NADPH	Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato
GST	Enzima glutatión-S-transferasa
EFSA	European Food Safety Authority
CHC	Carcinoma Hepatocelular
ELISA	Enzimoimmunoanálisis de adsorción
NMP	Nivel Máximo Permisible
LMR	Límites Máximos Residuales
LMA	Límites Máximos Aceptados
UV	Ultravioleta

Anexo H

Glosario

A

Absorbancia: Es un concepto más relacionado con la muestra puesto que nos indica la cantidad de luz absorbida por la misma, y se define como el logaritmo de $1/T$ (Díaz, y otros, 2018).

Aerobios: Los aerobios son los organismos que requieren de oxígeno para vivir. El término también puede emplearse como adjetivo respecto a aquello que necesita oxígeno o que cuenta con este gas (Pérez & Gardey, 2015).

Aflatoxinas: Las aflatoxinas son un tipo de toxinas producidas por ciertos hongos en cultivos agrícolas como el maíz, el maní o cacahuates, la semilla de algodón y los frutos secos (de cáscara dura como las nueces). Son producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, los cuales son abundantes en las zonas cálidas y húmedas del planeta. Los hongos que producen aflatoxinas pueden contaminar los cultivos en los campos, durante la cosecha o durante el almacenamiento (NCI, 2018).

Agroindustria: es el subsector económico que se encarga de la producción para su posterior comercialización de todo tipo de productos agropecuarios y forestales. Algunos autores también incluyen la transformación de los recursos pesqueros y de cualquier recurso natural de origen biológico (Grupo Calero, 2020).

Alcaloides: Miembro de un gran grupo de sustancias elaboradas por las plantas y algunos hongos. Los alcaloides contienen nitrógeno y se pueden fabricar en el laboratorio. La nicotina, la cafeína, la codeína y la vincristina son alcaloides. Algunos alcaloides, como la vincristina, se usan para tratar el cáncer (NCI, 2019).

Alimentos: Un alimento es cualquier sustancia (sólida o líquida) que es ingerida por los seres vivos para reponer lo que se ha perdido por la actividad del cuerpo, para ser fuente y motor de producción de las diferentes sustancias que se necesitan para la formación de algunos tejidos, promoviendo el crecimiento y transformando la energía adjunta en los alimentos en trabajo, locomoción y calor (Etece, 2022).

Amonización: Proceso mediante el cual el nitrógeno orgánico se transforma en nitrógeno amoniacal (Alicante, 2020).

Anaerobios: En este caso, los organismos anaerobios (que también pueden mencionarse como anaeróbicos) no emplean oxígeno en sus actividades metabólicas (Pérez & Gardey, 2015).

Antagonista: sustancia que frena la acción o el efecto de otra sustancia. Por ejemplo, un medicamento que bloquea el efecto estimulante del estrógeno sobre una célula tumoral se llama antagonista del receptor de estrógeno (NCI, 2019).

Anticancerígenas: Relacionado con la prevención o el retraso de la aparición del cáncer (NCI, 2019).

Antifúngico: Antibiótico o quimioterápico utilizado en el tratamiento de las infecciones producidas por hongos (UNAV, 2021).

B

Bentonitas: es un tipo de arcilla que tiene varios usos industriales y profesionales. Según el punto de vista se puede definir tanto como un material natural que mezclado con agua se convierte en una pasta plástica, este sería el caso de un ceramista (Vadequímica, 2016).

Biocontroladores: son productos, de origen biológico, que actúan como antagonistas frente a microorganismos patógenos que producen daño en los cultivos. Este tiene la característica de no dejar residuos, y no ser perjudiciales para la salud humana, como tampoco para el medio ambiente (Mas, 2018).

Biodiversidad: es la variedad de la vida. Este reciente concepto incluye varios niveles de la organización biológica. Abarca a la diversidad de especies de plantas, animales, hongos y microorganismos que viven en un espacio determinado, a su variabilidad genética, a los ecosistemas de los cuales forman parte estas especies y a los paisajes o regiones en donde se ubican los ecosistemas. También incluye los procesos ecológicos y evolutivos que se dan a nivel de genes, especies, ecosistemas y paisajes (Biodiversidad, 2022).

Biogenéticas: nos referimos a un campo de estudio compuesto por la biología y la genética; en esta se estudia y analiza a cualquier tipo de fenómeno que pueda afectar a los seres vivos. Es también utilizado como término, el cual define la modificación de los seres vivos que se genera a partir de algunos organismos denominados blanco (Centro de Biogenética, s.f).

Biomarcadores: Se produce en un sistema biológico y se interpreta como indicador del estado de salud, de la esperanza de vida o del riesgo de enfermedad (Arango, 2011).

Biosintéticos: la formación de biomoléculas a través del anabolismo que es un proceso que se encarga de la síntesis o bioformación de biomoléculas o llamadas también moléculas orgánicas más complejas partiendo de los nutrientes o de otras moléculas más simples, requiriendo energía o sea reacciones endergónicas, contrariamente a lo que ocurre en el catabolismo (Diccionario actual, 2019).

Biotransformación: La biotransformación o metabolismo consiste en el conjunto de transformaciones que sufre un tóxico en el organismo, siendo su objetivo final el formar un compuesto hidrosoluble, poco tóxico y fácilmente eliminable (Universidad de Granada, 2017).

Buffer: es un sistema constituido por un ácido débil y su base conjugada, o por una base y su ácido conjugado que tiene capacidad tamponante, es decir, que puede oponerse a grandes cambios de pH (en un margen concreto) en una disolución acuosa (Landa & Robles, 2011).

C

Calidad: se refiere a la capacidad que posee un objeto para satisfacer necesidades implícitas o explícitas según un parámetro, un cumplimiento de requisitos de calidad (Significados, 2023).

Carcinoma: Cáncer que empieza en la piel o en los tejidos que revisten o cubren los órganos internos (NCI, 2019).

Células: Es la unidad más pequeña que puede vivir por sí sola. Forma todos los organismos vivos y los tejidos del cuerpo (Soriano del Castillo, y otros, 2015).

Cepa: Grupo de organismos que pertenecen a la misma especie, pero que comparten ciertas características genéticas que no se encuentran en otros miembros de dicha especie (NCI, 2019).

Ciclo biológico: Un ciclo biológico es un conjunto de fenómenos o cambios que experimenta un organismo (o sucesión lineal de organismos) hasta el punto de partida donde comenzaría una nueva serie de cambios (Costas, 2014).

Clima cálido: Es muy estable en cuanto a temperatura se refiere, ya que no tiene grandes variaciones durante el año como en zonas cercanas a la línea ecuatorial (s.a, 2022).

Clima templado: Sus temperaturas promedio rondan los 15 °C y sus precipitaciones se sitúan entre los quinientos y los mil milímetros al año (s.a, 2022).

Cocción: Consiste en sumergir los alimentos en un recipiente con agua y someterlos al calor durante un periodo determinado de tiempo. La cocción preserva el sabor de los alimentos, reduce el riesgo de intoxicaciones alimentarias y los hace más digeribles (SCANCO, 2022).

Conidias: Son esporas asexuales, no móviles de un hongo (Medina, 2017).

Conjugados: Son anticuerpos unidos a una enzima, es decir marcados, para tras la incubación y lavado correspondiente, añadir el sustrato a la enzima. (Romer Labs, 2021)

Contaminación: Es aquella que se produce por los diferentes macroorganismos o agentes contaminantes biológicos patógenos que descomponen la materia, la calidad del aire, agua y suelo (Soriano del Castillo, y otros, 2015)

Control biológico: Consiste en el uso de uno o más organismos benéficos (enemigos naturales) para reducir la densidad de una planta o animal que causa daño al hombre (plagas) (Diccionario actual, 2019).

Cosmopolita: Se aplica a los organismos que pueden hallarse en cualquier región del mundo, pero solo en condiciones propicias para su hábitat, sin que implique que ocupe todos y cada uno de los rincones de estas regiones (Mas, 2018).

D

Desalquilación: La desalquilación o dealquilación es el proceso químico por el cual se suprime el radical alquilo de una molécula. Si el grupo alquilo va unido a un átomo de oxígeno, se llama O-desalquilación, N-desalquilación si va unido a un átomo de nitrógeno y S-desalquilación si es de azufre. La alquilación tiene importancia en farmacología, por constituir una de las vías habituales de biotransformación de fármacos (Villar, Bermejo, & Aragón, 2021).

Descripción botánica: La descripción de una planta o grupo de plantas (taxones) consiste en una serie de frases de sus características, de manera que constituyan una definición de un taxón (Tribó, 2019).

Detoxificación: consiste en una serie de reacciones químicas que tendrán lugar en nuestro organismo, mediante las cuales las toxinas serán transformadas en sustancias menos tóxicas e hidrosolubles, para poder de ese modo eliminarlas con mayor facilidad (Nutrinews, 2022).

Disolventes: Se entiende por disolvente aquella sustancia, habitualmente líquida, que se utiliza para disolver otra sustancia (Villar, Bermejo, & Aragón, 2021).

E

Enzimas: Es un catalizador biológico. Es una proteína que acelera la velocidad de una reacción química específica en la célula. La enzima no se destruye durante la reacción y se utiliza una y otra vez (Burdaspal, 2018).

Ergotismo: Se caracteriza por una intensa y generalizada vasoconstricción de los vasos sanguíneos pequeños y grandes. Los síntomas resultan de la isquemia regional causada por el vasoespasmó que produce la ergotamina. En la actualidad, el ergotismo resulta casi exclusivamente de la ingesta excesiva de tartrato de ergotamina (Ruano & Zermeño-Pohls, 2015)

Especies: se denomina especie a la unidad básica de clasificación biológica. Una especie es un conjunto de organismos o poblaciones naturales capaces de entrecruzarse y producir

descendencia fértil, no con miembros de poblaciones pertenecientes a otras especies (Biodiversidad, 2022).

Espectrofotómetro: mide la luz reflejada o transmitida de una muestra para capturar su huella digital y determinar la cantidad de luz reflejada o transmitida desde los rangos visibles de las diferentes porciones del espectro visible (Romer Labs, 2021).

Espora: célula generativa que reproduce nuevos individuos sin necesidad de fusionarse (Ramos, Marín, Molino, Vila, & Sanchis, 2020).

Estaciones: Son cada uno de los periodos de tiempo en que se divide el año, con una duración mayor que los meses, caracterizados por el comportamiento típico de alguna variable meteorológica (temperatura, precipitación, vientos, etc). Se presentan de manera cíclica e invertida entre un hemisferio y otro (s.a, 2022).

Estándares de AFB₁: Se pueden utilizar con el fin de preparar una curva de calibración para el sistema HPLC, de forma que se garantice una determinación precisa de la toxina. La solución estándar también se puede utilizar para adulterar las muestras con el fin de comprobar la eficiencia en la extracción de toxinas en determinados alimentos mediante un disolvente concreto o, como alternativa, para adulterar extractos de muestra (Romer Labs, 2021).

F

Fagocitosis: Proceso por el cual un fagocito (tipo de glóbulo blanco) rodea y destruye sustancias extrañas (como bacterias) y elimina las células muertas (NCI, 2019).

Familia: Una familia es la agrupación de seres vivos con características comunes dentro de su orden (Biodiversidad, 2022).

Fermentación: proceso de oxidación incompleta, que no requiere de oxígeno para tener lugar, y que produce una sustancia orgánica como resultado. Es un proceso de tipo catabólico, es decir, de transformación de moléculas complejas a moléculas sencillas y generación de energía química en forma de ATP (Adenosín Trifosfato) (Etece, 2022).

Fisiología: es la ciencia que se encarga de conocer y analizar las funciones de los seres vivos (NCI, 2018).

Fisiopatología: La fisiopatología es la rama de la fisiología que se encarga del estudio de los mecanismos por los cuales se producen las manifestaciones clínicas de una enfermedad y por medio de la cual se entienden y predicen dichas manifestaciones de acuerdo con la alteración funcional de los órganos o sistemas a diferentes niveles de la anatomía corporal (Biodiversidad, 2022).

Fitopatógeno: Microorganismo, que genera enfermedades en las plantas a través de disturbios en el metabolismo celular, al secretar enzimas, toxinas, fitorreguladores y otras sustancias y, además, absorbiendo nutrientes de la célula para su propio crecimiento (Nutrinews, 2021)

Fumonisinás: son micotoxinas producidas por *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*. Se pueden encontrar como contaminantes naturales en cereales, principalmente el maíz y sorgo, así como en otros cereales y productos derivados (Elika, 2013).

Fungicidas: Sustancias que se emplean para eliminar o impedir el crecimiento de hongos y mohos perjudiciales para las plantas (Kato, Mapes, Mera, Serrato, & Bye, 2009).

G

Galpón: Construcción grande y techada que se emplea como taller mecánico, carpintería, garaje o depósito de mercancías (Diccionario actual, 2019).

Gastrointestinales: Son enfermedades que atacan el estómago y los intestinos, generalmente son ocasionadas por bacterias, parásitos, virus y algunos alimentos, como leche y grasas (NCI, 2019).

Genética: es el estudio científico de los genes y la herencia (de cómo ciertas cualidades o rasgos se heredan de padres a hijos como resultado de cambios en la secuencia de ADN) (Diccionario actual, 2019).

Genotoxicidad: se refiere a la capacidad de una sustancia para dañar directa o indirectamente al ADN y cromosomas de las células (CIBICI, 2022).

Germinar: es el proceso mediante el cual un embrión se desarrolla hasta convertirse en una planta. Es un desarrollo gradual que se lleva a cabo cuando el embrión se hincha y la cubierta de la semilla se rompe (RAE, 2022).

H

Harinas: La harina es el polvo fino que se obtiene del cereal molido y de otros alimentos ricos en almidón. Se puede obtener harina de distintos cereales (Quintanilla, 2013).

Hemorragias: la salida de la sangre de los vasos sanguíneos (RAE, 2022).

Hifa: Filamento microscópico pluricelular del micobionte que unido con otros filamentos forma el cuerpo vegetativo de los hongos llamado micelio (Parada, 2020).

Homogéneo: Significa igual, uniforme, semejante (Romer Labs, 2021).

Hongos: Son organismos eucariontes y, como tales, poseen una organización celular muy compleja, así como células nucleadas y orgánulos rodeados por membrana (Ramos M. , 2014).

I

Incubación: Es el intervalo de tiempo que transcurre entre la exposición a un agente infeccioso y la aparición del primer signo o síntoma de la enfermedad de que se trate, o en el caso de un vector, de la primera vez en que es posible la transmisión (SCANCO, 2022).

Inhibición: Suspensión transitoria de la actividad de un órgano o del organismo mediante la acción de un estímulo (RAE, 2022).

Insectos: Son animales invertebrados del filo de los artrópodos (RAE, 2022).

Inoculación: transferencia de un patógeno a su planta hospedante o a un órgano de ella (RAE, 2022).

K

Kit: Conjunto de cosas que se complementan en su uso o en su función (RAE, 2022).

L

Laboratorio: es un lugar dotado de los medios necesarios para realizar investigaciones, experimentos, prácticas y trabajos de carácter científico (Agrobiotek, 2022).

Lactonas: es un compuesto orgánico del tipo éster cíclico. Se forma como producto de la condensación de un grupo alcohol con un grupo ácido carboxílico en una misma molécula (FDA, 2020).

M

Masa: Mezcla consistente, homogénea y maleable que se consigue deshaciendo sustancias sólidas, machacadas o pulverizadas en sustancias líquidas; en especial la que se emplea en la elaboración de productos comestibles (Orchardson, 2021).

Micotoxicosis: son enfermedades que se presentan en animales y el hombre, producidas por micotoxinas, elementos tóxicos elaborados por distintos tipos de hongos que crecen en plantas, heno, silos, granos, subproductos y otros alimentos almacenados (Soriano del Castillo, y otros, 2015).

Micotoxinas: son compuestos tóxicos producidos de forma natural por algunos tipos de mohos. Los mohos productores de micotoxinas crecen en numerosos alimentos, tales como cereales, frutas desecadas, frutos secos y especias (Soriano del Castillo, y otros, 2015).

Microhongos: Los microhongos o micromicetos son hongos (organismos eucariotas como mohos, levaduras y royas) que tienen estructuras microscópicas productoras de esporas (Parada, 2020).

Microsomal: Las microsomas de hígado, que han sido muy bien estudiados, consisten a menudo en una mezcla de elementos membranosos y de ribosomas (o polisomas), presentes en forma de unidades separadas o de complejos y que derivan casi exclusivamente del retículo endoplasmático (RE) (Arango, 2011).

Mutagénesis:

N

Necrosis: Cambios morfológicos que siguen a la muerte celular en el tejido vivo, derivados en gran parte de la acción degradativa progresiva de las enzimas sobre las células mortalmente lesionadas (Burdaspal, 2018).

Nivel Máximo Permisible: Es la medida de la concentración o grado de elementos, sustancias o parámetros físicos, químicos y biológicos, que caracterizan a un efluente o una emisión, que al ser excedida causa o puede causar daños a la salud, al bienestar humano y al ambiente (FAO/OMS, 2018).

Nixtamalización: proceso por el cual el grano se transforma en masa (SCANCO, 2022).

Normativa: norma o conjunto de normas que guían, dirigen y ajustan el comportamiento de un individuo, organización, materia y/o actividad (RAE, 2022).

O

Ocratoxina: es una micotoxina neurotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena (Soriano del Castillo, y otros, 2015).

P

Patógeno: Son agentes infecciosos que pueden provocar enfermedades a su huésped. Este término se emplea normalmente para describir microorganismos como los virus, bacterias y hongos, entre otros (Biodiversidad, 2022).

Patulina: Es una micotoxina producida por diversas especies de hongos de las especies *Penicillium*, *Aspergillus* y *Byssochyllum* (Soriano del Castillo, y otros, 2015).

pH: Medida del grado de acidez o alcalinidad de una sustancia o una solución (RAE, 2022).

Plaguicida: Es una combinación de sustancias que se emplea para ahuyentar o eliminar las plagas (Norman & Kaplan, 2015).

Policétido: Los policétidos son metabolitos secundarios de bacterias, hongos, plantas y animales. Los policétidos son biosintetizados por la polimerización de subunidades acetilo, y propionilo obtenidas por descarboxilación de malonil coenzima A o metilmalonil coenzima A en un proceso similar a la biosíntesis de ácidos grasos (una condensación de Claisen) (Diccionario actual, 2019).

S

Sanamiento: s un conjunto de acciones que se pueden aplicar sobre el ambiente para reducir los riesgos sanitarios, prevenir la contaminación y, consecuentemente, lograr mejores niveles de salud (FDA, 2020).

Síntesis: es el proceso por el cual se producen compuestos químicos a partir de compuestos simples o precursores químicos. (RAE, 2022).

Sustrato: es una molécula fijada en el sitio activo y sobre la que actúa el enzima (RAE, 2022).

T

Temperatura: Es una magnitud que mide el nivel térmico o el calor que un cuerpo posee. Toda sustancia en determinado estado de agregación (sólido, líquido o gas), está constituida por moléculas que se encuentran en continuo movimiento (s.a, 2022).

Teratogénesis: se define como el proceso por el cual se producen anomalías estructurales o funcionales durante el desarrollo embrionario debidas a la exposición a: agentes ambientales (Serrano-Coll & Cardona Castro, 2015).

Tratamiento: es un conjunto de medios que se utilizan para aliviar o curar una enfermedad, llegar a la esencia de aquello que se desconoce o transformar algo (NCI, 2019).

Tricotecenos: son una familia de micotoxinas producidas por varias especies de hongos de los géneros *Fusarium*, *Myrothecium* (Nutrinsights, 2022).

Tumores: Masa anormal de tejido que aparece cuando las células se multiplican más de lo debido o no se mueren cuando deberían (NCI, 2019).

V

Variable: es una propiedad que puede fluctuar y cuya variación es susceptible de medirse u observarse (Significados, 2023).

Z

Zearalenona: también conocida como micotoxina F2, es una micotoxina producida por varias especies de hongos pertenecientes al género *Fusarium* (Soriano del Castillo, y otros, 2015).