



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
CÁTEDRA DE TOXICOLOGÍA  
LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA GENERAL  
“DR. PABLO PAREDES VIVAS”**



## **AFLATOXINA B1 EN HARINA DE MAÍZ PRECOCIDA**

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al Grado de  
Licenciado en Bioanálisis

**Autores:**

Belandria G., Mariana I.  
Ramírez M., Josselyn M.

**Tutor:**

Prof. Yáñez C., Carlos A.

Mérida, Febrero de 2020.

## DEDICATORIA

A Dios, a la virgen y al Santo Cristo de la Grita por escuchar mi plegaria y darme luz en el momento en el que más lo necesité.

A mis Padres, Rafael Belandria y Mayela Guerra por preferir mi bienestar antes que el de ellos, por la dedicación y la entrega.

A mis abuelas, Noni y a Tila, por cada oración, cada vela encendida, esta meta es de ustedes.

A mi hermana, Gilmar, por su nobleza y por estar siempre dispuesta a ayudarme.

A Carlos, por acompañarme a lo largo de la carrera y apoyarme a continuar, por enseñarme a pensar en grande.

A mis tíos, primos y a toda mi familia por los valores inculcados a lo largo de mi vida.

*Belandria Mariana.*

www.bdigital.ula.ve

## DEDICATORIA

A Dios, a la virgen, a los ángeles y arcángeles porque las bendiciones se manifestaron cada día, aun cuando el panorama se veía nublado su divinidad siempre me amparó y me mostró el camino.

A mis padres, Ciro Eliel Ramírez Méndez y Lilian Margarita Medina que nunca dudaron que lo lograría y me impulsaron siempre hacía la excelencia.

A mis hermanos, tíos, madrina y primos, que han cooperado en mi formación y me han motivado, los quiero.

*Ramírez Josselyn.*

## AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser guía, camino, claridad, fuerza, luz y por manifestar sus milagros constantemente en nuestras vidas.

A nuestros padres, que con mucho esfuerzo e ilusión dieron todo de sí para que alcanzáramos esta meta.

A nuestras familias, porque cada uno con sus oraciones y bendiciones fueron bastones que nos mantuvieron de pie.

A la Universidad de los Andes, nuestra ilustre casa de estudios, por la formación no sólo académica sino moral. Especialmente a la Cátedra de Toxicología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis por recibirnos en sus instalaciones y permitir la ejecución experimental de este trabajo.

A nuestro Tutor Académico, Carlos Yáñez, por admitirnos como sus tesis y acompañarnos en este trayecto, gracias por creer y confiar en nosotras.

Al personal técnico del laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, en especial al señor Néstor Uzcátegui por guiarnos en cada paso del experimento con tanta paciencia y amabilidad.

A los Profesores Eduardo Rondón, Julio Rojas y Yoni Medina, por orientarnos y guiarnos en la realización de este estudio.

A nuestros amigos, Carlos Morales, Inés Hernández, Yesika García, Juan Vivas, Klerman Cáceres, José Contreras, Edgar Bastidas y Alejandro Castillo, porque fueron cómplices de las risas y llantos tras este papel.

*Belandria Mariana.*

*Ramírez Josselyn.*

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
<b>DEDICATORIA</b>	iii
<b>AGRADECIMIENTO</b>	iv
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	vii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	viii
<b>RESUMEN</b>	ix
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>CAPÍTULO I. EL PROBLEMA</b>	4
Planteamiento del Problema	4
Objetivos de la Investigación	7
<i>Objetivo General</i>	7
<i>Objetivos Específicos</i>	7
Justificación de la Investigación	7
Alcances y Limitaciones de la Investigación	8
<b>CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO</b>	10
Trabajos Previos	10
Antecedentes Históricos	14
Bases Teóricas	17
<i>Micotoxinas</i>	17
<i>Factores que Tienen Influencia sobre la Toxicidad de las Micotoxinas</i>	18
<i>Aflatoxinas</i>	18
<i>Toxicocinética</i>	21
<i>Efecto Tóxico</i>	22
<i>Efecto mutagénico</i>	22
<i>Efecto carcinogénico</i>	23
<i>Límites Permisibles de AFB1 en Alimentos</i>	23
<i>El Maíz</i>	24
<i>Harina de Maíz Precocida</i>	25
Operacionalización del Evento	27
Definición de Términos	27
<i>Aflatoxinas</i>	27
<i>Aspergillus</i>	28
<i>Hongos</i>	28
<i>Micotoxicosis</i>	28
<i>Cromatografía de Capa Fina</i>	29
<i>Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)</i>	30
<b>CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO</b>	32
Tipo de Investigación	32
Diseño de la Investigación	32
Población y Muestra	33
Instrumento de Recolección de Datos	33

Procedimiento o Metodología	34
Diseño de Análisis	36
<b>CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	37
Análisis y Discusión de los Resultados	37
<b>CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	39
Conclusiones	39
Recomendaciones	40
<b>BIBLIOHEMEROGRAFÍA</b>	41

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
<i>Tabla I. Operacionalización del Evento.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabla II. Resultado de la Cromatografía de Capa Fina.....</i>	<i>38</i>

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
<i>Figura 1. Estructuras de las principales Aflatoxinas.....</i>	19
<i>Figura 2. Límite máximo tolerado para la Aflatoxina B1 en los alimentos.....</i>	24
<i>Figura 3. Procedimiento del estudio investigativo.....</i>	36
<i>Figura 4. Revelado de la placa cromatográfica con luz Ultravioleta.....</i>	38

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES**  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS**  
**ESCUELA DE BIOANÁLISIS**  
**CÁTEDRA DE TOXICOLOGÍA**  
**LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA GENERAL**  
**“DR. PABLO PAREDES VIVAS”**

**AFLATOXINA B1 EN HARINA DE MAÍZ PRECOCIDA**  
Trabajo de grado

**Autores:**

Belandria G, Mariana I.  
Ramírez M, Josselyn M.

**Tutor:**

Prof. Yáñez C, Carlos A.  
Fecha: Febrero 2020.

**RESUMEN**

Las aflatoxinas han sido foco de investigación dentro de las micotoxinas por su alta incidencia en alimentos como la harina de maíz, componente esencial en la dieta de la población venezolana y, porque se ha demostrado su efecto carcinogénico en el hígado. El objetivo de este trabajo de investigación fue explorar la presencia de Aflatoxina B1 (AFB1) en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida, en el Laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, en Septiembre 2018. El estudio es de tipo exploratorio, con un diseño de campo, transeccional contemporáneo y univariable. La muestra la conforman 6 paquetes de harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas que se encontraron en comercios de la ciudad de Mérida. El método aplicado fue Cromatografía de Capa Fina usando el sistema T10 (cloroformo-acetona 9:1). Los resultados se registraron y tabularon y se reportó un resultado negativo, es decir, ausencia de AFB1 en el 100% de las muestras analizadas.

*Palabras clave:* aflatoxina, harina de maíz, cromatografía.

## INTRODUCCIÓN

La harina de maíz precocida es un componente esencial en la dieta de la población venezolana, utilizada por su valor nutritivo y por su fácil asequibilidad como materia prima para la elaboración de arepas, empanadas, pan, cereales, atoles, entre otros. Razón por la que el maíz (*Zea mays* L.), es considerado uno de los principales cereales en el ámbito nacional.

Los cultivos de maíz y su consiguiente harina, cuando no son procesados y almacenados en condiciones ambientales propicias, pueden ser afectados por hongos, los cuales producen metabolitos tóxicos secundarios llamados micotoxinas. De allí que diversos investigadores como Urrego y Díaz (2006), Armijo y Calderón (2009), sostienen que: “el 25 % de los cultivos alimenticios del mundo son afectados por las micotoxinas, durante el crecimiento y almacenamiento, debido a los productos del metabolismo del crecimiento fúngico”.

Entre las micotoxinas que pueden estar presentes en granos de maíz, se destacan las aflatoxinas, las cuales de acuerdo a Urrego y Díaz (2006), “son inodoras, insípidas e incoloras, químicamente son estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales, además es difícil eliminarlas una vez que se producen”.

En el mismo orden de ideas, en el 2003, la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO), considera las aflatoxinas contaminantes inevitables de alimentos, motivo por el cual se debe supervisar la cantidad presente en la harina de maíz precocida, para velar que no se estén excediendo los niveles de Aflatoxina permitidos.

Para Martínez, Del Río y Gómez (2013):

Las aflatoxinas han sido foco de investigación dentro de las sustancias denominadas micotoxinas, principalmente por su alta incidencia en alimentos y porque su consumo en dosis bajas, medias o altas, causa tanto efectos tóxicos en corto tiempo (agudos), como a largo plazo (crónicos), siendo estos últimos los más comunes.

Por otra parte, Rodríguez (2010), afirma que: “aunque han sido identificados aproximadamente 20 tipos de aflatoxinas, existen cuatro Aflatoxinas principales: B1, B2, G1 y G2”. En este sentido, Piontelli (2014), se refiere a la Aflatoxina B1 (AFB1) como la más importante por ser la más tóxica y un potente compuesto hepatocarcinógeno natural. De igual modo, la AFB1, se produce en clima tropical, donde están reunidas las condiciones óptimas de crecimiento de los hongos aflatoxigénicos, principalmente la humedad relativa y temperatura, resultando contaminados alimentos de alto consumo. Martínez y otros (2013).

Por lo expuesto, es importante la realización del presente trabajo de investigación, en el cual se estudió de forma general los aspectos más relevantes de la AFB1, se recolectaron diferentes marcas de harina de maíz blanco precocida que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida, las cuales se trasladaron al Laboratorio de Toxicología “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, donde se exploró la presencia de AFB1 a través del método de Cromatografía de Capa Fina.

Este trabajo está estructurado de la siguiente manera:

Capítulo I El problema: comprende el planteamiento del problema, objetivos de la investigación (general y específicos), justificación de la investigación, además de alcances y limitaciones de la investigación.

Capítulo II Marco Teórico: refiere los trabajos previos, antecedentes históricos, antecedentes teóricos (bases teóricas), operacionalización del evento, así como también la definición de términos.

Capítulo III Marco Metodológico: en su estructura contiene el tipo de investigación, diseño de la investigación, población y muestra, instrumento de recolección de datos, procedimiento o metodología y diseño de análisis.

Capítulo IV Resultados y Discusión: plasma el análisis y discusión de los resultados

Capítulo V Conclusiones y Recomendaciones: incluye las conclusiones y recomendaciones.

Por último contiene la bibliohemerografía.

Se plantea entonces, como Objetivo General del Estudio, explorar la presencia de Aflatoxina B1 en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida, en el Laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, en Septiembre 2018.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## **CAPÍTULO I**

### **EI PROBLEMA**

#### **Planteamiento del Problema**

El procesamiento de la harina de maíz precocida en Venezuela se lleva a cabo tanto con maíz blanco como amarillo. La importancia entre ambos se observa mediante una comparación de las propiedades bioquímicas, donde se indica que el maíz blanco presenta ventajas en proteína, hierro, fósforo, calcio y tiamina, pero tiene valores menores en niacina, riboflavina, caroteno y no contiene xantofilas, estos dos últimos precursores de la vitamina A. De igual modo, según el Instituto Nacional de Nutrición (2005):

La composición nutricional sirve de guía para las consideraciones de calidad en el producto elaborado, ya que generalmente el tratamiento termomecánico a que se someten los granos durante el proceso de transformación de la harina precocida, reviste cierto efecto en el contenido de nutrientes (p.12).

De acuerdo a lo expresado, el procesamiento del maíz blanco (*Zea mays*), se realiza cumpliendo una serie de pasos que van desde el desgrane hasta el molido y empaquetado, lo que exige condiciones higiénicas óptimas para mantener su calidad en el consumo humano y de este modo evitar la producción de hongos. A tal efecto, Urrego y Díaz (2006), Armijo y Calderón (2009), indican que “la presencia de hongos en los granos de maíz utilizados como materia prima para la fabricación de alimentos constituye una grave amenaza, la exposición humana a micotoxinas por consumo de harinas contaminadas es un tema de salud pública”. De allí que, la contaminación puede ocurrir en el campo antes o después de la cosecha o durante el transporte y almacenamiento del producto.

En este orden de ideas, en Venezuela, de acuerdo a la opinión de Mazzani, Borges, Luzón, Barrientos y Quijada (2000), “ha sido encontrada una elevada contaminación con hongos y micotoxinas en maíz almacenado y en el campo”. Asimismo, González, Hernández, y Moratinos (1990), sostienen que:

El almacenamiento inadecuado (en cuanto a ventilación, temperatura, incidencia de luz, entre otros) provoca alteraciones físico químicas en los granos, que predisponen la aparición de varias especies de hongos, los cuales invaden los granos partidos y colonizan la parte exterior de los mismos, encontrándose entre los géneros de mohos como el involucrado más frecuente al *Aspergillus* (p.81).

Es oportuno mencionar que, “la presencia de aflatoxinas en alimentos para consumo humano representa un grave problema de salud pública, además de afectar sensiblemente la producción agrícola” Rodríguez (2010). Esta complicación requiere de soluciones integrales que permitan disminuir a corto plazo los efectos nocivos en la población expuesta. La principal arma para combatir a las micotoxinas la constituye la difusión objetiva de la información a todos los integrantes de la cadena productiva de alimentos, las consecuentes medidas de prevención y las medidas de control que se puedan aplicar a lo largo de la misma.

En esta perspectiva, Escobar, Gallardo, Valdez, González, Ibarra, y Ceballos (2011), consideran que: “la contaminación de los alimentos con micotoxinas depende de las condiciones ambientales, que pueden propiciar el crecimiento del hongo y por ende la producción de las toxinas” (p.17). Por tanto, la mayoría de los productos agrícolas pueden ser susceptibles de contaminación en cualquier momento, desde su producción, transporte y almacenamiento. A tal efecto, los hongos que producen aflatoxinas a su vez están clasificados de acuerdo a sus diferencias en hongos de campo, de almacén y de deterioro avanzado, dependiendo del momento en que se presentan y la cantidad de agua que necesitan para producir aflatoxinas. Los de campo requieren entre 90 y 100 % de humedad, mientras que los de almacén se bastan con apenas 60 %.

Durante muchos años el hongo *Aspergillus flavus* en opinión de Hedayati, Pasqualotto, Warn, Bowyer y Denning (2007), “ha sido considerado como el único

productor de aflatoxinas, pero en realidad es un grupo de especies de hongos los que pueden producir estos metabolitos” (p.31). En tal sentido, las aflatoxinas son sin lugar a dudas las micotoxinas más importantes, ya que se caracterizan por ser sustancias hepatotóxicas, carcinogénicas, teratogénicas y mutagénicas en el ser humano. Por tanto, reglamentos relativos a las micotoxinas, se han establecido en muchos países para proteger al consumidor de los efectos nocivos de estos compuestos, uno de ellos es la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), que en el 2003, realizó un estudio titulado: “Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003” señalando que el propósito del mismo es “...El aseguramiento de la inocuidad de los alimentos...”.

Desde el punto de vista bioquímico, Lemus, Maniscalchi, Vera, De Freitas y Sangermano (2007), consideran que las aflatoxinas:

Pueden alterar el metabolismo de carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos, así como el metabolismo energético, pueden ser consideradas como inhibidores biosintéticos tanto in vitro como in vivo y en altas dosis pueden provocar una inhibición total de los sistemas bioquímicos, y dosis bajas pueden afectar diferentes sistemas metabólicos.

De acuerdo con lo expresado por los autores, las aflatoxinas, son uno de los contaminantes más tóxicos para la salud humana y se consideran cancerígenos.

Las razones expuestas conllevaron a realizar la investigación, cuyo propósito fue, explorar la presencia de AFB1 en diferentes marcas de harina de maíz blanco precocida, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida, en el Laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, en Septiembre 2018.

Una vez planteado el problema de investigación, se formuló el siguiente Enunciado Holopráxico: ¿Existe Aflatoxina B1 en las diferentes marcas de harina de maíz blanco precocida, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida en Septiembre 2018?

## **Objetivos de la Investigación**

### ***Objetivo General***

Explorar la presencia de Aflatoxina B1 (AFB1) en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida, en el Laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, en Septiembre 2018.

### ***Objetivos Específicos***

Detectar la presencia de Aflatoxina B1 en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida.

Cuantificar la Aflatoxina B1 en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida.

Comparar la cantidad de Aflatoxina B1 en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida con el límite permitido por la FAO.

## **Justificación de la Investigación**

La FAO (2003), estima que más de un 25 % de alimentos en el mundo está contaminado con cierto número de micotoxinas, y la presencia de aflatoxinas en los cereales está asociada, tanto a las condiciones de almacenamiento inadecuadas, como a la contaminación del producto en el campo, antes y después de la cosecha. Asimismo, OMS (1999), afirma que “el 25 % de los cultivos alimentarios mundiales están contaminados con micotoxinas”. En tal sentido, Marín (2010), sostiene que: “en países en desarrollo, donde los alimentos básicos como el maíz son susceptibles de contaminación, la población se afecta de forma significativa por la morbilidad y las muertes asociadas a las micotoxinas”.

Por otra parte, (la Agencia Internacional de Investigaciones sobre Cáncer, citada por Lemus y cols 2007), expone que “las aflatoxinas han sido reportadas como los contaminantes naturales de alimentos más peligrosos para la salud humana y están clasificadas como cancerígenos Clase 1”. Siguiendo las consideraciones precedentes, se realizó un estudio para explorar la presencia de Aflatoxina B1 en la harina de maíz blanco precocida, lo que podría significar un peligro para la salud.

Por lo anterior, el estudio sirve de base a futuras investigaciones encaminadas bien sea a verificar la calidad de la harina de maíz precocida, o a presentar alternativas de solución para mejorar la materia prima (maíz).

En función de lo expuesto, se justifica el presente trabajo porque las aflatoxinas se han asociado a varias enfermedades como la aflatoxicosis, tanto en animales domésticos como en seres humanos, y han recibido más atención que cualquier otra micotoxicosis, debido a su potente efecto carcinógeno. A la vez, pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (esencialmente en el maíz, trigo, arroz y sorgo). Por tanto, el desarrollo de la investigación se dirige a la exploración de la presencia de AFB1 en harina de maíz blanco precocida, de diferentes marcas que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida, en el Laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, del estado Mérida en Septiembre 2018.

### **Alcances y Limitaciones de la Investigación**

El alcance de una investigación ubica el nivel de profundidad del conocimiento sobre el fenómeno de estudio que se desea lograr. Fija la visión que posee el investigador para cumplir los objetivos. En tal sentido, Hernández, Fernández y Baptista (2010), consideran que: “del alcance depende la estrategia de investigación, por lo tanto, el diseño, los procedimientos y otros componentes del proceso varían en estudios con alcances exploratorio, descriptivo, correlacional, o explicativo”.

En tal sentido, en la presente investigación el alcance es exploratorio, por cuanto la profundidad del logro que se desea obtener es explorar la presencia de Aflatoxina B1

en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida.

En relación a las limitaciones para el desarrollo del estudio, no se encontraron suficientes antecedentes, debido a que son pocas las investigaciones en Venezuela con respecto a la Aflatoxina en harina de maíz. También, el alto costo y la dificultad para adquirir los reactivos, así como la escases de harinas de maíz blanco precocida en 2018 fueron limitantes.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

#### Trabajos Previos

En la presente investigación se tomaron como referencia diferentes estudios que aportan información de interés al tema y guardan alguna similitud con el objetivo propuesto.

López (2013), realizó una investigación titulada: “Principales micotoxicosis asociadas al consumo de maíz y sus subproductos”, cuyo propósito fue Caracterizar las micotoxinas generadas en el maíz que se consume en diferentes lugares de Colombia. En el mismo, refiere el peligro que representan las micotoxinas para la salud humana y animal, debido a que contaminan de manera natural productos agrícolas y pecuarios, presentando una alta incidencia en los alimentos para humanos y animales. Entre los principales hongos micotoxigénicos se encuentran los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. Dentro de las familias más importantes de micotoxinas se encuentran: las aflatoxinas, los tricótesenos, la ocratoxina A, las fumonisinas y la zearalenona. De estas las que representan mayor riesgo para la salud humana son la Aflatoxina B1, la fumonisinas B1 y la Ocratoxina A, que pueden causar cáncer de hígado, cáncer de esófago, alteraciones en el sistema inmune, entre otras patologías. El estudio presenta relevancia con el tema tratado puesto que sirve de base para la identificación y definición de términos pertinentes.

Padrón, Yuef, Hernández, Reyes, y Vázquez (2013), en su trabajo: “El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México. Problemática y Perspectivas”, publicado por la Revista Mexicana de Fitopatología, afirman que las condiciones de producción de maíz en climas tropicales y subtropicales, particularmente en el noreste de México, favorecen las infecciones por hongos toxígenos. Por ello, es necesario la identificación e implementación de estrategias que reduzcan la contaminación en el grano.

Entre las estrategias a tomar en cuenta destacan, el uso de híbridos de maíz con resistencia a sequía, plagas, enfermedades y altos rendimientos de grano, manejo integrado de insectos y hongos mediante tratamiento químico, cultural o biológico y la modificación del procesamiento del grano para consumo humano (nixtamalización). Dichas medidas, individualmente o en conjunto, reducirán paulatinamente los daños causados por hongos potencialmente toxígenos en la planta de maíz y el consumidor final en México.

En este trabajo evidenciaron una perspectiva de la investigación en el tema de los hongos aflatoxigénicos en maíz en México, sus implicaciones en salud humana y del ganado, las herramientas (fitopatológicas, genéticas del hospedante y el patógeno, bioquímicas, entre otras) de estudio del problema, así como las estrategias de manejo integrado utilizadas, para actualizar y ponderar la información generada a la fecha, y establecer puntos esenciales para futuras investigaciones. Lo planteado anteriormente guarda relación con el estudio, puesto que sirve de guía para abordar el problema con respecto a la presencia o no de Aflatoxina B1 en harina de maíz, definiendo algunos términos importantes relacionados con el tema.

Por su parte Morris (2011), realizó un estudio denominado “Determinación de aflatoxinas en muestras de maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) para consumo humano en cinco departamentos de la Costa Caribe Colombiana mediante cromatografía de alta eficiencia durante seis meses”. El mismo tuvo como objetivo, realizar mediciones puntuales de los niveles de aflatoxinas en arroz y maíz para consumo humano en cinco departamentos del Caribe Colombiano. Un total de setenta (70) muestras fueron colectadas en diferentes ciudades de manera aleatoria en

fábricas y comercializadoras. La metodología se fundamentó en un tipo de investigación descriptiva cuasi-experimental con apoyo de un diseño de campo transeccional. Así como la técnica de recolección de datos fue la observación directa y como instrumento una planilla diseñada para tal fin.

El análisis de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 se realizó mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). En ninguna de las muestras de arroz (n=46) se detectó la presencia de aflatoxinas. Por el contrario, en el 12,5 % de las muestras de maíz (n=24) se presentó aflatoxina B1 en niveles entre 2,4 y 12,5 ppb (con media de 7,9 ppb); la aflatoxina B2 se encontró en el 8,3 % de las muestras, con niveles inferiores a 2 ppb; las aflatoxinas G1 y G2 no se detectaron; el valor medio de aflatoxinas totales fue de 9,2 ppb, siendo el valor máximo aceptado en la mayoría de países de 20 ppb. La presencia de aflatoxinas en varias muestras de maíz evidencia la importancia de investigar en este rubro más que en otro. Además, demuestra la necesidad de contar con legislación y programas de control de estos contaminantes naturales de los alimentos, como factores de riesgo para enfermedades como el cáncer de hígado.

En el año 2010, Di Bernardo, Uzcátegui, Pérez, García, Hernández, Yáñez, y Rodríguez, publicaron en la Revista de Toxicología en línea (retel) un trabajo titulado: “Identificación de Aflatoxinas en alimentos de uso animal y vísceras de siete venados muertos súbitamente”. Los autores analizaron por cromatografía de capa fina y cromatografía líquida de alta resolución acoplada a masas, muestras de vísceras (hígado y riñón) procedentes de siete (7) venados que fallecieron súbitamente, sin patología clínica aparente. También en tres (3) muestras de alimentos comerciales de uso veterinario, Los resultados obtenidos fueron presencia de Aflatoxina B1, tanto en los alimentos concentrados como en el hígado, mientras que en riñón no se encontró, explicando su ausencia por no ser el mismo un órgano diana de la micotoxina. Este trabajo guarda relación con la presente investigación, por cuanto en él se demuestra que la presencia en alimentos de la micotoxina en estudio, puede causar daños significativos sobre todo a nivel hepático y además a elevadas concentraciones puede causar la muerte del animal casi de inmediato.

Rojas y Wilches (2009), realizaron un estudio sobre: “Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo Infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander”. El objetivo de esa investigación fue evaluar la presencia de aflatoxinas (B1, B2, G1 y G2) en muestras de alimentos de consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander, y aplicaron técnicas analíticas estandarizadas en el Laboratorio de Toxicología (Facultad de Medicina Veterinaria) de la Universidad Nacional de Colombia, basadas en técnicas reconocidas por la Asociación Oficial de Química Analítica de los Estados Unidos (AOAC) para análisis de alimentos, detectando aflatoxinas en el 10 % de las muestras, con niveles entre 18.42 µg/kg y 71.25 ug/kg de AFB1. Los niveles de aflatoxinas superan el valor máximo admisible por la legislación colombiana (10 ug/kg), y por la Unión Europea (0.10 ug/kg), para alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad. Este trabajo guarda similitud con el presente, debido a que, el mismo sustenta la problemática expuesta porque sus resultados arrojaron datos significativos que evidencian la presencia de las micotoxinas en alimentos de consumo humano.

En Santa Cruz Bolivia, Saavedra (2008), realizó una investigación titulada: “Aflatoxinas en alimentos balanceados para canes”. El objetivo fue determinar la presencia de Aflatoxina en alimento para canes en la ciudad. El autor, procedió a adquirir una muestra de 1 kg de cada marca de alimento que se expende en la ciudad, para un total de 15, y analizó dichas muestras por el método Aflatest. Los resultados obtenidos reflejan niveles en general bajos, a excepción de una muestra. Sin embargo, esto no indica que no pudieran producir problemas en la salud de los animales, pues va a depender del tiempo en que han estado consumiendo esta concentración de micotoxina, lo que causara algún problema en la salud de los mismos no detectables fácilmente, y atribuidos a otras causas. Este trabajo de investigación guarda relación con el tema, porque señala presencia de aflatoxina, y aunque fue de pequeñas dosis, igual se presume que pudiera causar un deterioro progresivo en la salud de los animales aun cuando no se evidenciara con la muerte inmediata del mismo.

En Venezuela, Fernández, Negrón, Isea y Sánchez (2000), publicaron en la Revista Científica FCV-LUZ una investigación titulada: “Reporte de análisis cuantitativo de aflatoxinas por el método Elisa en muestras de materias primas de alimento balanceado para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara del estado Zulia, Venezuela”. El objetivo fue detectar la presencia de aflatoxinas en cinco (5) materias primas de alimento balanceado para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara del estado Zulia.

Los autores utilizaron como método de determinación el test de ELISA con un detector espectrofotométrico a una longitud de onda de 650 nm, con el cual analizaron cuarenta (40) muestras, realizando un muestreo de cinco (5) diferentes materias primas utilizadas en la producción de un alimento balanceado para aves, entre ellos harina de maíz. En la investigación se obtuvo como resultado que de las cuarenta (40) muestras analizadas, diecisiete (17) resultaron positivas a la presencia de aflatoxinas entre ellas las de harina de maíz, lo que corresponde al 43 % del total de muestras analizadas. Y de las cinco (5) materias primas analizadas, la harina de maíz presentó los más altos niveles de aflatoxinas, siendo todos sus valores superiores a los permitidos en Venezuela. Existe relación entre este tema de investigación y el estudio debido a que evidencia la gran probabilidad de que exista aflatoxinas en la harina de maíz, más que en cualquier otro alimento.

Cabe destacar que los estudios descritos, representan un aporte significativo a nivel teórico y práctico al desarrollo de la presente investigación, por cuanto aplicaron métodos semejantes. Además, reseñan que algunas de las harinas de maíz almacenadas en lugares no apropiados, presentaron altos niveles de aflatoxina B1, investigada actualmente por ser la de mayor riesgo para la salud tanto humana como animal.

### **Antecedentes Históricos**

La primera descripción de una patología ocasionada por *Aspergillus* la elaboraron Meyer y Emmert en 1815, quienes descubrieron la enfermedad pulmonar en el grajo. Asimismo, en 1847, Sluyter publica la primera descripción de neumomicosis humana

causada por *Aspergillus*. A la vez Fresenius (1850), referido por González (2010), cultiva el hongo a partir de las lesiones del tracto respiratorio en pájaros y denomina a la especie aislada *Aspergillus fumigatus*, introduciendo además el término Aspergilosis. De igual modo, menciona que flavus es el responsable del inicio de la micotoxicología moderna por la producción de unos potentes carcinógenos, las aflatoxinas”.

Es importante destacar, lo reflejado en Marr y Malloy (1996), citado por González (2010), donde afirman que “las micotoxicosis han sido descritas desde la antigüedad, llegando a ser consideradas por algunos investigadores como la causa de la última de las diez plagas de Egipto”. Por otra parte, es oportuno señalar que el primer caso documentado de micotoxicosis de acuerdo con González, “data de la Edad Media en Europa, denominando a la enfermedad Fuego de San Antonio, se trataba del ergotismo, atribuido al consumo de alimentos preparados con cereales contaminados con alcaloides ergóticos, producidos por el hongo *Claviceps* del centeno.

En relación con lo expuesto, Nesterov (1951), considera que en el siglo XX, la producción de toxinas de *Fusarium* y *Stachybotrys* en cereales almacenados durante el invierno ocasionó también en Siberia y Rusia la muerte de miles de personas y animales, durante la Segunda Guerra Mundial, y diezmó pueblos enteros debido a una micotoxicosis, conocida después como “Aleucia Tóxica Alimentaria” (ATA). Sin embargo, la micotoxicología moderna no comenzaría hasta el año 1963 con el descubrimiento de las aflatoxinas y sus propiedades de acuerdo con Requena, Saume, y León (2005), “fueron inicialmente identificadas como causantes de la muerte repentina de unos cien mil pavos en el Reino Unido en 1960, en lo que se denominó enfermedad X de los Pavos”.

La posibilidad de encontrar micotoxinas en los alimentos en Venezuela es elevada, según lo señalado por Di Bernardo y Otros (2009), los cuales reportaron el caso ocurrido en el año 2005, en alimentos de la división PURINA®, de NESTLÉ VENEZUELA, S.A., para los productos DOG CHOW y CAT CHOW, que ocasionaron la muerte de cientos de mascotas caninas. Es muy posible que sean las

mismas aflatoxinas que pueden contaminar alimentos como el maíz las que hayan causado la enfermedad y muerte de tantas mascotas en Venezuela.

Por otra parte, Villa y Markaki (2009), refieren que para el año 2009, mediante un estudio se evaluaron los niveles de aflatoxina B1 (AFB1) y ocratoxina A (OTA) en cereales. Se analizaron cincuenta y cinco (55) muestras que fueron compradas en el mercado de Atenas. Los resultados arrojaron la presencia de aflatoxina B1 en el 56,3 % de las muestras examinadas (siendo una media de 1,42 ng/g). En siete (7) muestras (siendo una media de 3,5 ng/g) se detectó una contaminación mayor que el límite aceptado por la Unión Europea (UE) (2 ng/g). OTA se encontró en el 60 % de las muestras (siendo una media de 0,18 ng/g), se obtuvo contaminación por ambas micotoxinas.

Así mismo, Yazdanpanah y colaboradores en el año 2001, encontraron que en Irán, se estudió la ocurrencia natural de aflatoxinas, donde se analizaron catorce (14) muestras de cebada y nueve (9) de maíz colectadas en las provincias de Golestan y Mazandaran, al norte de la República Islámica de Irán. En las muestras analizadas de maíz se detectó la presencia de AFB1 en ocho (8) casos en un 88,8 % y aflatoxina B2 (AFB2) en seis (6) en un 66,6 %, equivalente a una media de 15,83 y 2,99 ppb respectivamente. Ninguna de las muestras de maíz tenía cantidades detectables de aflatoxina G1 (AFG1) y aflatoxina G2 (AFG2). No obstante, una de las muestras contaminada con aflatoxinas presentó ocratoxina A (OTA) en concentración de 0,35 ppb.

Por último, en el 2005 Acuña y colaboradores publicaron un caso en la Costa Atlántica sobre la presencia de aflatoxinas en maíz, en el que se demostró la ocurrencia natural de aflatoxinas en el campo, siendo inusual para este tipo de micotoxinas ya que generalmente se forman durante el almacenamiento. Los resultados obtenidos de todas las muestras analizadas fueron positivos a la contaminación por aflatoxinas en niveles que oscilaron entre 15,2 y 282,6 µg/kg. Los principales factores que condujeron a la presentación del brote incluyeron la elevada pluviosidad, la presencia de plagas y un fenotipo de maíz amarillo y blanco que se vio afectado por estos dos factores.

## **Bases Teóricas**

Las bases teóricas en opinión de Palella y Martins (2010), “es el soporte principal del estudio, en el que se amplía la descripción del problema, permite integrar la teoría con la investigación y establecer sus interrelaciones”. En otras palabras, es una revisión y análisis de conceptos para abordar el problema mediante la sustentación de puntos de vista de autores. Seguidamente, se describen aspectos importantes relacionados con las micotoxinas, las aflatoxinas, el maíz y la harina de maíz precocida.

### ***Micotoxinas***

Las Micotoxinas en afirmación de Cruz (2006), “son metabolitos secundarios tóxicos, de composición variada, producidos por organismos del reino Fungí, que incluye setas, mohos y levaduras”. De igual modo, Larrañana y Navarro (2012), consideran que las micotoxinas “son bastante resistentes a la descomposición y a la destrucción durante la digestión, por lo cual permanecen en la cadena alimentaria y en los productos lácteos, resisten incluso a la cocción y a la congelación”; asimismo, agrega, que las toxinas más comunes en los productos agrícolas son producidas por especies de los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, y *Fusarium*, entre otros. Estas micotoxinas suelen causar micotoxicosis primarias, cuando los productos contaminados se ingieren directamente, o secundarias, resultantes del consumo de carne o leche proveniente de animales contaminados.

En esta perspectiva, Díaz y Espitia (2005), sostienen que: “actualmente se conocen más de 200 diferentes micotoxinas presentes en granos como el maíz, trigo, cebada, arroz, semilla de ajonjolí, maní, etc., siendo las aflatoxinas, la ocratoxina A, la zearalenona, las fumonisinas y los tricoticenos las principalmente asociadas a problemas de toxicidad alimentaria”.

### ***Factores que Tienen Influencia sobre la Toxicidad de las Micotoxinas***

En relación con los factores que influyen en la toxicidad de las micotoxinas en humanos y animales, Kuiper-Goodman (1990), mencionan:

La biodisponibilidad y toxicidad de la micotoxina, los sinergismos entre ellas, la cantidad de micotoxina ingerida diariamente en función de la concentración de micotoxina y de la cantidad de alimento ingerido, la continuidad o intermitencia de ingestión del alimento contaminado, el peso del individuo y el estado fisiológico y de salud de éste y la edad del individuo (p.6).

### ***Aflatoxinas***

Las aflatoxinas en opinión de Martínez, Vargas del Río y Gómez (2013), “se definen como un grupo de compuestos químicos orgánicos no proteicos, de bajo peso molecular, producidos principalmente por los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*”. También se conocen como metabolitos secundarios producidos por algunas de las especies de *Aspergillus* que crecen en productos alimenticios, y que por su consumo pueden afectar a casi todos los seres vivos. Se consideran productos secundarios porque no tienen una función directa en el metabolismo vital fisiológico del moho. Al respecto, Urrego y Díaz (2006), consideran que “son químicamente estables en los alimentos y resisten a la degradación bajo procedimientos de cocción normales, por consiguiente, es difícil eliminarlas una vez que se producen”. Las aflatoxinas en opinión de estos autores:

Químicamente pertenecen a la familia de las difurano-cumarinas, es decir, su esqueleto básico es un anillo de furano unido al núcleo de cumarina y a su vez se clasifican de acuerdo a su estructura química en dos grandes grupos; la serie 1 difuro-cumaro-ciclo-pentanonas que son las AFB1, AFB2, AFB2A, AFM1, AFM2, AFM2A y aflatoxicol y la serie 2 difuro-cumaro-lactonas AFG1, AFG2, AFG2A, AFGM1, AFGM2, AFGM2A y AFB3 respectivamente (p.110)

En la figura 1, se observa la estructura química de cada uno de los compuestos mencionados.

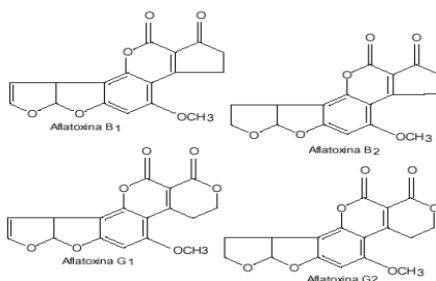


Figura 1. Estructuras de las principales aflatoxinas (fuente: FAO, 2002).

De los tipos de aflatoxinas ya mencionados se considera que las cuatro sustancias principales son B1, B2, G1 y G2 quienes se distinguen por sus colores fluorescentes B, correspondiente al color azul (Blue), y el G, correspondiente al verde (Green), Requena, Saume y León (2005).

Es importante mencionar que (Steyn 1980 referido por Morris, 2011) asevera que: “la AFB1 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 de acetil-coenzima A y malonil coenzima A, dando lugar a acetil-S Coenzima A, la cual es la molécula iniciadora de la AFB1.

Las aflatoxinas de acuerdo con afirmaciones de Perusia y Rodríguez (2001), se presentan en:

Los granos almacenados, especialmente cuando éstos están en áreas de excesiva humedad durante un largo periodo de tiempo. Los granos contaminados con mayor frecuencia son el sorgo, maíz, algodón y maní. Así como también, se han aislado estas micotoxinas en arroz, mijo, soja, trigo, girasol, sésamo, olivo, nueces, avellanas, almendras, legumbres, café, cacao, pescados, leche, fardos y rollos de alfalfa, en malta de cervecería y en algunos subproductos como harina, afrecho, etc. (p.90)

Para abordar las causas que generan a las aflatoxinas es necesario precisar una serie de circunstancias óptimas que requieren los hongos De acuerdo con Soriano y Otros (2007):

*A. flavus* y *A. parasiticus* para su crecimiento. En este sentido, las condiciones ideales son: una humedad relativa de 88 a 95%, una temperatura de 25 a 35 °C; un pH óptimo que oscila entre 3,5 y 5,5 y una actividad del agua alta. Otro aspecto relevante es la composición gaseosa ambiental en la que crece el hongo y la luz. Por ser hongos aerobios, su crecimiento es adecuado a concentraciones de CO<sub>2</sub> de 20%, mientras que concentraciones superiores al 10% detienen la producción de las aflatoxinas. (p.169)

En el mismo orden de ideas, se ha descrito que *A. flavus* puede proliferar a temperaturas de 10 a 43 °C, con una actividad del agua ( $a_w$ ) aproximada de 0,99 y la temperatura óptima para generar toxinas oscila entre 20 y 30 °C. Respecto al *A. parasiticus*, las pautas del comportamiento son similares aunque la actividad de agua óptima para su crecimiento es de 0,83 y para la producción de toxinas de 0,87 con unas temperaturas entre 30 y 28 °C. Más concretamente las aflatoxinas en maíz en afirmaciones de Soriano y Otros (2007), suelen estar más asociadas a la contaminación en campo por *A. flavus*, aunque también pueden producirse en cereales almacenados.

Luego de describir los valores necesarios de  $a_w$  cabe resaltar su importancia, pues constituye el parámetro responsable de la acumulación de aflatoxinas en alimentos, sobre todo en cereales, en pre-cosecha y post-cosecha. Además, *A. flavus* y *A. parasiticus* crecen adecuadamente a 0,99  $a_w$ , siendo la  $a_w$  mínima para su crecimiento entre 0,80 y 0,83. Por otra parte, las aflatoxinas, se producen en intervalos entre 0,95 y 0,99  $a_w$ . No obstante se ha observado para *A. flavus* un mínimo de 0,82. Respaldo lo anteriormente expuesto Santos (1999), manifiesta que:

Aunque los *aspergillus* crecen saprofiticamente, los productos alimenticios pueden servir como sustrato, favoreciendo la presencia de estos mohos. Factores como la capacidad toxigénica del hongo, la temperatura, el tiempo, el pH, la humedad, la actividad del agua ( $a_w$ ), la luz, la atmósfera de almacenamiento y factores de tipo químico como la presencia de minerales o carbohidratos, o la presencia de sustancias inhibidoras como la lactosa, pueden ayudar a crecer e incluso a producir aflatoxinas. Las condiciones para el crecimiento y desarrollo de aflatoxinas no pueden ser mejores en los países tropicales, donde las temperaturas altas (20-35 °C) y el ambiente húmedo (85 % de humedad relativa) dan las condiciones ideales para

infectar casi cualquier producto del agro, especialmente maíz, algodón, arroz y maní (p.125).

De acuerdo con lo señalado, otros elementos que pueden contribuir para infectar los productos del agro, pueden evidenciarse en las deficiencias sanitarias en el almacenamiento y distribución de cereales como maíz y arroz, por falta de protección en las bodegas y vehículos, higiene insuficiente, y además en muchos casos no se tiene acceso a pruebas de laboratorio para verificar la inocuidad de alimentos o materias primas.

Por otra parte, en relación con los efectos tóxicos que generan las aflatoxinas Gimeno (2005), asegura que “son inmunosupresoras que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica interrumpiendo la formación del ADN, ARN y proteínas en el ribosoma. La absorción de los aminoácidos se ve afectada y el almacenamiento de estos aumenta en el hígado”.

En este contexto, Bolet y Socarrás (2005), sostienen que además de los efectos tóxicos inmediatos, tiene efectos inmunosupresores, mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos. El principal órgano diana de los efectos tóxicos y carcinogénicos es el hígado, lo que indica que las aflatoxinas son metabolizadas a nivel hepático. En la medida en que la concentración de toxina aumenta puede ocurrir hepatomegalia, la estructura de este órgano se ve más firme en función de la fibrogénesis, la vesícula biliar aumenta de tamaño, hay alteraciones parenquimatosas, con necrosis, hay desaparición de hepatocitos y reducción somática del órgano. También inducen tumores en riñón, colon y pulmón.

### ***Toxicocinética***

Urrego y Díaz (2006), refieren que las aflatoxinas poseen una alta liposolubilidad, son absorbidas en el tracto gastrointestinal y son biotransformadas en el hígado por enzimas microsomales del citocromo P450. Entre ellas se encuentran CYP1A2, 3A4, 3A5 y 3A7. Las dos enzimas más importantes son CYP3A4, que interviene en la formación de los metabolitos exo-epóxido y AFQ1, y la CYP1A2, que forma en su mayoría endo-epóxido y AFM1. También refiere que en humanos se producen otros

metabolitos como aflatoxicol, AFP1, AFB2a y AFB1-2,2 dihidrodiol. De la misma forma, el citado autor, afirma que la vida media plasmática para la AFB1 es de 36.5 minutos y aproximadamente el 80 % de la dosis total de AFB1 se excreta en una semana.

### ***Efecto Tóxico***

El efecto tóxico de la aflatoxina en animales superiores es de dos tipos: agudo y crónico. El primer tipo se manifiesta como una hepatitis aguda, ya que presenta ictericia, fiebre, depresión, pérdida de apetito y diarrea; el segundo tipo se manifiesta como un hepatocarcinoma, y los síntomas como vómito, dolor abdominal y hepatitis se van presentando paulatinamente hasta causar la muerte. (Guzmán, 2007).

Farfan (1999), afirma que los síntomas más evidentes de la aflatoxicosis, en varias especies, incluyendo aves y mamíferos, son la hipolipidemia, hipocolesterolemia e hipocarotenemia. Se ha sugerido que estos signos de desbalance agudo del metabolismo de los lípidos, puede ser resultado del bloqueo de residuos de lisina claves en la proteína B-100 de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por la AFB1. Las LDLs modificadas no son reconocidas por sus receptores específicos, y de esta manera son rechazadas por las células periféricas. Una vez de regreso en el hígado, las partículas modificadas se unen a las células sinusoidales. Con este proceso se establece la deficiencia lipídica de los tejidos periféricos mientras las grasas se acumulan en el hígado.

De acuerdo con Ghosh, Chauhan y Jha (1991), el sistema inmune también se ve afectado y se alteran las respuestas inmunes específicas e inespecíficas. Se ha demostrado que en pollos alimentados con 1ppm de AFB1 se disminuyen las funciones de los linfocitos y podría afectar también a los macrófagos que los asisten.

### ***Efecto mutagénico***

Guzmán (2007), refiere que la mutagenicidad de la aflatoxina B1 se ha demostrado utilizando bacterias, levaduras, y células de mamíferos (incluyendo humanas),

concluyéndose que esta sustancia es uno de los mutágenos más potentes, ya que en *Salmonella typhimurium* se inducen 8527 mutantes por cada  $\mu\text{g}$  de AFB1.

### ***Efecto carcinogénico***

Para que la acción carcinogénica de la aflatoxina ocurra es necesario que ésta tenga un cambio metabólico, el cual ocurre cuando la AFB1 llega al hepatocito y se biotransforma en AFB1-8,9-epóxido por el sistema hepático microsomal citocromo P450, la participación del  $\text{O}_2^-$  y las enzimas dependientes del NADPH localizadas en el retículo endoplásmico de las células. Guzmán (2007).

De la misma forma, el mencionado autor señala al AFB1-8,9-epóxido, como un metabolito altamente reactivo capaz de unirse a las proteínas, al ADN y al ARN; formando un compuesto estable con uniones covalentes con los residuos de guanina, 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.

### ***Límites Permisibles de AFB1 en Alimentos***

Los límites permisibles de micotoxinas en alimentos, según la opinión de Requena, Saume y León (2005), varían según las normativas que los países o las comunidades de comercialización internacional a las que pertenecen (Unión Europea, Mercosur, otros.). Sin embargo, no existe una legislación internacional al respecto y en algunos países ni siquiera existen normativas vigentes para su control. Al respecto, la FAO (2005), manifiesta: “al menos 99 países tenían reglamentos para las micotoxinas en los alimentos, la población total en estos países representa aproximadamente 87 % de los habitantes del planeta. A la vez menciona que en América Latina se ha incrementado el control”.

En el mismo orden de ideas, la FAO (2003), señala como se observa en la figura 2, que el límite vigente actual en por lo menos 29 países para la AFB1 es de  $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ . La mayoría de estos países pertenecen a la Unión Europea (UE) y a la Asociación

Europea de Libre Comercio (AELC). Otro valor límite importante es el de 5 µg/kg, seguido por 21 países de África, de Asia/Oceanía, de América Latina y de Europa. Los Estados Unidos y Canadá no tienen un valor límite único para la aflatoxina B1.

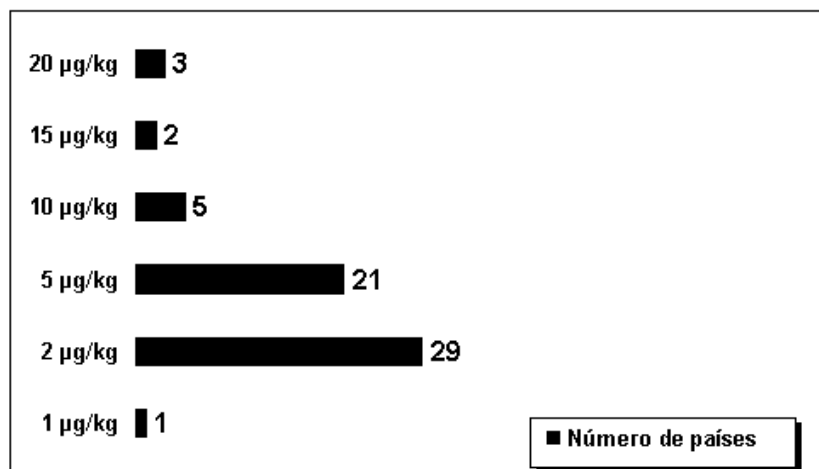


Figura 2. Límite máximo tolerado para la Aflatoxina B1 en los alimentos (fuente: FAO, 2003).

Seguidamente la FAO (2005), afirma que en Venezuela para el año 2004, solamente se encuentra reglamentado el nivel máximo de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 para el maíz, harina de maíz, maníes y manteca de maní, el cual es 20 µg/kg, el de la aflatoxina M1 para la leche de consumo es 0,5 µg/kg y para la leche en polvo es de 5,0 µg/kg.

### *El Maíz*

El maíz (*Zea mays*, L) es uno de los cereales más abundantes y populares en el mundo, y asimismo de los más consumidos. De color blanco y amarillo pero también disponible en diferentes tonos de rojos, marrones y naranjas, el maíz es actualmente la base de muchas gastronomías, especialmente las de América Latina de donde la planta es originaria, aunque también se la cultiva en Europa. El maíz o *Zea mays* de acuerdo a su nombre científico es una planta gramínea, significa que tiene un tallo cilíndrico y hojas largas y gruesas, su altura oscila entre uno y tres metros. (Salazar, 2015).

También, puede ser conocido popularmente como choclo (que sería específicamente el fruto de la planta) u olote dependiendo de la región de América Latina. Según Gallardo, Ibarra, Sánchez, Cuamea, Molina, Parra y Cortez (2006), “el uso principal del maíz es alimentario, puede cocinarse entero, desgranado (como ingrediente de ensaladas, sopas y otras comidas) y en la producción de harinas precocida”. El maíz es cultivo tradicional de los pueblos originarios de América; es en esta parte del mundo donde se consume más asiduamente, especialmente en Iberoamérica donde es parte fundamental de las cocinas de Colombia, México, Perú, Ecuador, Venezuela y Paraguay.

En Venezuela, desde la época colonial, el maíz ha sido el cultivo anual más ampliamente extendido, por ser la base de la alimentación en la mayor parte de la población y por su fácil adaptación a diversas condiciones agroecológicas, llegando a constituir la principal actividad agrícola de numerosas familias. Por esta razón, se considera de suma importancia conocer la incidencia de hongos y micotoxinas en sus granos y subproductos, ya que pueden ocasionar efectos dañinos sobre la salud humana y animal; además, las condiciones imperantes en el país, propias de áreas tropicales, son favorables para la proliferación de este tipo de microorganismos y la síntesis de sus toxinas.

### ***Harina de Maíz Precocida***

De acuerdo con las Normas COVENIN (1996), la harina de maíz precocida, “es el producto obtenido a partir del endospermo de granos de maíz (*Zea mays* L) clasificado para consumo humano, que han sido sometidos a procesos de limpieza, desgerminación, pre-cocción y molienda”. En Venezuela de acuerdo con opiniones de Arenas y Barros (2013), “se le conoce como Harina PAN por vulgarización. También existen mixturas de la misma: con harina de arroz (masa extra suave), con harina de trigo (especial para freír) y con salvado de trigo y avena (mezcla integral).

La harina de maíz, cumple una serie de procedimientos, según Rubio y Contreras (2008):

1. Acondicionar el grano de maíz completo lavando con agua rociada a sus fracciones de cáscara y germen húmedos. 2. Triturar de dicho grano de maíz completo rompiendo las porciones de cáscara allí perdidas y molido del grano triturado en primera y segundas fracciones. 3. Secar el aire y clasificar dicha primera fracción para retirar de allí una primera fracción de arenilla de harina y fracción de cáscara como un producto colateral. 4. Aspirar dicha segunda fracción para retirar de allí una segunda fracción de arenilla y fracción de cáscara, y mezclado de las primera y segunda fracciones de arenilla de harina y cáscara como un producto colateral combinado, produciendo así una fracción de endosperma-germen, acondicionar la fracción de endosperma-germen para hidratar parcialmente su endosperma de harina. 5. Precocer la fracción acondicionada de endosperma-germen en una cocina de columna de vapor y cocción adicional en un rodillo para efectuar una gelatinización parcial controlada. 6. Enfriar la fracción cocida de endosperma-germen en un secador adiabático para producir un material en hojuelas, y secar al aire y estabilizar el material en hojuelas a una deseada humedad, moliendo el material en hojuelas seco en una serie de molinos de rodillos primario y secundario y recogiendo un molido fino resultante de un molido en bruto resultante mientras el molido en bruto se procesa adicionalmente y 7. Someter únicamente el molido fino o una centrífuga en un entoleter para aislar un material sucio ligero y producir una harina integral para arepas (p.37).

De acuerdo con lo expuesto, la obtención de la harina de maíz es producto de una serie de procesos y controles. Sin embargo, la cosecha del producto, su procesamiento y almacenamiento cuando no es la más adecuada, se ve afectada por numerosas enfermedades causadas por hongos, virus y bacterias, causando problemas a la salud humana. En este sentido, Chavarría, Mazzani, Luzónb y Garridoa (2012), entre las de tipo fúngico se destacan “las podredumbres del tallo y la mazorca, las cuales tienen un efecto directo sobre la disminución del rendimiento y enormes implicaciones tanto en la calidad del grano como en la salud pública y animal, debido a la producción de metabolitos tóxicos secundarios llamados micotoxinas” .

Por otra parte, los citados autores señalan que dentro de las micotoxinas, que pueden estar presentes en granos de maíz, se destacan las aflatoxinas, fumonisinas, tricotecenos, toxinas T2, deoxynivalenol, ochratoxinas, citrinina, esterigmatocistina, patulina y zearalenona.

En consideración a lo anteriormente expuesto, en el ámbito nacional e internacional no existe suficiente información sobre la detección de hongos y

micotoxinas en harina precocida, la cual forma parte importante de la dieta del venezolano. Por ello, se consideró de interés realizar la presente investigación con el objetivo de explorar la presencia de AFB1 en harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas, que se expenden en comercios de la ciudad de Mérida, en el Laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, en septiembre de 2018.

### Operacionalización del Evento

Tabla I. Operacionalización del evento

<i>Evento</i>	<i>Definición conceptual</i>	<i>Definición operacional</i>	<i>Dimensiones</i>	<i>Indicadores</i>
Aflatoxina B1	La Aflatoxina B1 Es una micotoxina producida por algunas especies de <i>aspergillus</i> tales como <i>A. flavus</i> y <i>A. parasiticus</i> . (Rodríguez, 2010).	La presencia de Aflatoxina se determina mediante cromatografía de capa fina con el sistema T10 (cloroformo-acetona 9:1)	-Positivo -Negativo	*Color de las manchas: -Azul (positivo) -Incoloro (negativo) *Rf: desde 0,4 hasta 0,7.

Elaboración propia.

### Definición de Términos

#### *Aflatoxinas*

Para Contreras y Flórez (2009), la palabra aflatoxina “proviene de la primera letra “A” que denota al género *Aspergillus*, seguida de las tres letras “FLA” correspondiente a la especie *flavus* y el sustantivo “toxina” que significa veneno”. Por

su parte para Saavedra (2008), “es una micotoxina producida por algunas especies de *aspergillus* como *flavus* y *parasiticus*”.

### ***Aspergillus***

Las aspergillas, según Saavedra (2008), “es el grupo de hongos que produce aflatoxinas y las dos especies más importantes son el *Aspergillus flavus* y el *Aspergillus parasiticus*”.

### ***Hongos***

Los hongos son organismos eucariotas, distribuidos desde unicelulares como las levaduras hasta pluricelulares como los mohos y las setas, se adaptan a diversidad de ambientes y desarrollan complejas formas de subsistencia para asegurar la viabilidad por largos periodos de tiempo; además de acuerdo con López (2013), “producen infinidad de metabolitos que van desde metabolitos primarios hasta metabolitos secundarios”. Los hongos son comúnmente encontrados en cualquier sustrato orgánico, en virtud de ser organismos heterótrofos. Algunos de ellos dentro de su actividad metabólica en afirmación De Oliveira, Reis, Braghini, Kobashigawa, De Araujo y Correa (2012), “producen metabolitos potencialmente peligrosos para la salud y fisiológicamente activos, como alcaloides y toxinas”.

### ***Micotoxicosis***

Es una enfermedad producida por la ingestión de alimento contaminado con micotoxinas por consiguiente es una intoxicación, la que puede ser aguda o crónica, dependiendo del nivel de contaminación de los alimentos. A tal efecto, Saavedra (2008), señala que “esto ocurre, con mayor frecuencia en lugares húmedos y tropicales; afectando a todos los animales y al hombre, resultando ser las, aves domésticas las más susceptibles”.

## *Cromatografía de Capa Fina*

La Universidad Nacional Autónoma de México (2007), explica que el fundamento de la Cromatografía de capa fina consiste, en que la muestra se deposita cerca de un extremo de una lámina de plástico, aluminio o vidrio, que previamente ha sido recubierta de una fina capa de adsorbente llamada fase estacionaria. Dicha lámina, se coloca en una cubeta cerrada que contiene uno o varios disolventes mezclados, llamada fase móvil o eluyente, la cual es inmisible con la fase estacionaria. La fase móvil se hace fluir por capilaridad a través de la estacionaria; a medida que esto ocurre se produce un reparto diferencial de los compuestos presentes en la muestra entre el disolvente y el adsorbente.

Según la citada Universidad, luego de la corrida cromatográfica, la placa se deja secar y se revela con un reactivo como el yodo, ácido sulfúrico o cualquier otro revelador como luz ultravioleta, que tiñe las sustancias de interés y permite identificarlas.

En la cromatografía de capa fina en opinión de Hernández (2002), la fase estacionaria es una delgada capa de un soporte sólido granulado, tal como gel de sílica, alumina, ácido silícico u otros. Respecto a la fase móvil, la polaridad de los solventes se elige de acuerdo a la mezcla de compuestos que se desea separar.

Hernández afirma: la fase estacionaria está hidratada y es considerada como la fase polar; mientras la fase apolar es la móvil, que arrastra las sustancias apolares, y a la vez las polares quedan retenidas por la fase estacionaria dando lugar a la separación.

Una vez revelada la placa, se debe medir el Factor de Retención ( $R_f$ ), el cual tiene un valor constante para cada compuesto. En 1990 la Asociación Oficial de Química Analítica (AOAC), indica que los  $R_f$  de las AFB1 están en un rango de 0,4 a 0,7.

Dicho valor viene dado por la siguiente expresión:  $R_f = L_1 / L_2$ ; donde  $L_1$ , es la distancia recorrida por la mancha de un compuesto desde el punto de aplicación. Y  $L_2$ , es la distancia recorrida por el eluyente desde el origen de la placa; la distancia recorrida por el compuesto se mide desde el centro de la mancha. Si ésta es

excesivamente grande, se obtendrá un valor erróneo del Rf. (Lorenzo, Frías, Villa y Del Valle, 2006).

Por otro lado, es necesario destacar que la cromatografía en capa fina según la Universidad Nacional Autónoma de México (2007), presenta ventajas frente a otros métodos cromatográficos (en columna, en papel, en fase gaseosa) pues precisa de materiales más simples y el tiempo que se necesita para conseguir las separaciones es mucho menor.

En esta misma perspectiva, Izquierdo, Rojas, Rangel y Márquez (1995), refieren al sistema de solventes cloroformo-acetona (9:1) como el más apropiado para la detección de Aflatoxinas, ya que produce Rf constantes y muy aproximados a los valores indicados por el Instituto de Productos Tropicales, además de presentar una buena separación, dando como resultado manchas circulares bien definidas e independientes.

### ***Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)***

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) de acuerdo con la Universidad Nacional Autónoma de México (2007), es una técnica de análisis químico considerablemente utilizada, que admite la separación física y cuantitativa de los distintos elementos de una solución por la absorción selectiva de los componentes de una mezcla, a la vez que consta de dos etapas, una fija que suele llamarse estacionaria, y una móvil que fluye permanente durante el análisis.

Los componentes básicos de un sistema para HPLC en afirmación de la Universidad Nacional Autónoma de México (2007), son: “Depósitos para la fase móvil (disolventes), Sistema de bombeo para proporcionar presión a la fase móvil, sistema de inyección de muestras, columna cromatográfica, termostatos para las columnas, detectores y sistema para el tratamiento de datos y registrador”. Asimismo, manifiesta que siendo algunas de las fases móviles usadas en HPLC químicamente activas como ácidos, bases o líquidos corrosivos, es esencial que los componentes del sistema estén fabricados con materiales resistentes, por lo que la

mayoría de las partes en contacto con la fase móvil suelen estar fabricadas con acero inoxidable.

En esta perspectiva, Harris (2001), afirma que los disolventes más usados en HPLC son: “agua, disoluciones tampón acuosas y disolventes orgánicos como el metanol, deben ser espectroscópicamente puros, exentos de partículas sólidas y degasificados, esto se lleva a cabo con un gas inerte muy poco soluble como el helio”. A tal efecto, como fase estacionaria lo más común es usar partículas microporosas esféricas de sílice muy puro, que son permeables al disolvente.

De la misma manera, Hernández (2005), detalla de la HPLC “la muestra es inyectada en el seno de la fase móvil donde es soluble, y es transportada a través de una columna por el flujo continuo de fase móvil a alta presión. La fase estacionaria está formada por partículas de pequeño diámetro por tanto con una gran superficie de interacción, contenidas en la columna”.

[www.bdigital.ula.ve](http://www.bdigital.ula.ve)

## **CAPÍTULO III**

### **MARCO METODOLÓGICO**

#### **Tipo de Investigación**

La investigación en opinión de Hurtado (2010), comprende la exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa. El presente estudio se orientó a través de la investigación tipo exploratoria porque de acuerdo a la citada autora, “consiste en la aproximación a un evento poco conocido. Le permite al investigador familiarizarse con las situaciones y los contextos para abrir camino hacia otro tipo de investigación más compleja.” (p.132).

#### **Diseño de la Investigación**

El diseño de una investigación, de acuerdo con Arias (2012), “es la estrategia general que adopta el investigador para responder al problema planteado”. A este respecto, Hurtado (2010), el diseño de la investigación “está relacionado con las estrategias que se utilizarán para recolectar los datos y pretende explicar el dónde, el cómo y el cuándo”. El diseño que se utilizó en el presente estudio es de campo, transeccional contemporáneo y univariable.

En este sentido, el estudio es de campo, porque las muestras se obtuvieron de una fuente directa, en su contexto natural, lo que significa en expendios de alimentos de la ciudad de Mérida. Transeccional contemporáneo porque fueron tomadas en un solo momento del tiempo y en el presente, es decir, en el mes de septiembre de 2018. Y univariable porque se estudió un solo evento, el cual es la Aflatoxina B1.

## **Población y Muestra**

La población según definición de Arias (2012), es un conjunto finito o infinito de elementos con características comunes para los cuales serán extensivas las conclusiones de la investigación”.

En este caso, la población la conformaron todos los paquetes de harina de maíz blanco precocida disponible en todos los comercios de la ciudad de Mérida para el momento de la recolección de la muestra.

Para este estudio, la disposición es de una muestra de tipo no probabilística y por conveniencia. Hernández, Fernández y Baptista (2010), al respecto señalan que las muestras no probabilísticas o dirigidas son un subgrupo de la población, donde la elección de los elementos no depende de la probabilidad sino de las características de la investigación; suponen un procedimiento de selección informal; seleccionan casos típicos sin intentar que sean representativos de una población determinada. En tal sentido, es adecuado este tipo de muestra, por cuanto los estudios como el presente, con un diseño de investigación exploratorio, permiten generar datos que constituyan materia prima para futuras investigaciones.

Se considera entonces según el citado autor, una muestra por conveniencia, cuando se trabaja simplemente con los casos disponibles y a los cuales se tiene acceso.

La muestra estuvo formada por seis (6) paquetes de harina de maíz blanco precocida de diferentes marcas que se encontraron en algunos comercios de la ciudad de Mérida en el momento de la recolección.

## **Instrumento de Recolección de Datos**

El Instrumento de recolección de datos, de acuerdo con Arias (2012), “es cualquier recurso, dispositivo o formato (en papel o digital), que se utiliza para obtener, registrar o almacenar información”. La recolección de la información (datos) se llevó a cabo mediante la observación directa y fue registrada usando como instrumento una planilla en forma digital diseñada para tal fin.

## Procedimiento o Metodología

Para la realización de la presente investigación se exploraron las muestras de diferentes marcas de harina de maíz blanco precocida, que se expenden en la ciudad de Mérida, a través de Cromatografía de Capa Fina con el sistema T10 (cloroformo-acetona 9:1), el cual es un método cualitativo para Aflatoxina B1, El procesamiento de las muestras se realizó de acuerdo al Procedimiento Normalizado de Trabajo (NTP) “Determinación de Aflatoxinas B1” del Departamento de Farmacología y Toxicología, de la mención de toxicología 2007-2008, emitido por Karla Jácome y revisado por Nestor Uzcátegui, el cual consta de los siguientes pasos:

1. Pesar 50 g de harina de maíz precocida, luego colocarla en una fiola de 500 ml.
2. Agregar 200 ml de una solución metanol- agua y luego agitar por 30 minutos en agitador mecánico.
3. Tomar 40 ml de la solución sobrenadante y agregarlo a un embudo de separación, colocar 40ml de cloruro de sodio al 10% y mezclar, agregar 25 ml de N- hexano y agitar por 10 minutos.
4. Dejar separar las 2 fases, colocar la fase inferior en otro embudo de separación y descartar la fase superior.
5. Extraer las aflatoxinas de la fase inferior, en doble extracción con 25 ml de cloroformo cada una, agitando por 10 minutos, dejar separar las fases. Recolectar la fase inferior (orgánica) en una fiola con tapa, luego agregar nuevamente 25 ml de cloroformo al embudo (fase vacuosa). Agitar por 10 minutos nuevamente y dejar separar las fases, recolectar la fase inferior, mezclarla con la porción recolectada anteriormente y evaporarla a sequedad en baño de maría.

Preparación de la columna de purificación con una inyectora: (usando una inyectora de 12 o 15 cc)

- a) Colocar algodón cristalizado en la parte inferior de la columna.
- b) Adicionar 1g de silicua gel 60 para cromatografía en columna (70-230 mesh) y 1g de sulfato de sodio anhidro en la parte superior.

Utilizando vacío con un kitasato se procede de la siguiente forma:

1. Lavar la columna, con 3 ml de N- hexano y 3ml de diclorometano utilizando vacío.
2. Retomar la muestra evaporada anteriormente con 3 ml de diclorometano y adicionar a la columna sin vacío.
3. Lavar la fiola que contenía la muestra con 2 porciones de 1 ml c/u de diclorometano y adicionar a la columna.
4. Lavar la columna con 3 ml de N- hexano, 3ml de éter etílico y 3 ml de diclorometano, utilizando vacío.
5. Apagar el vacío, extraer las aflatoxinas con 2 porciones de 3 ml de cloroformo, acetona c/u, recolectándolas en tubo de ensayo.
6. Evaporar a sequedad en baño de maría, retomar con 0,5 ml de cloroformo y sembrar en la placa cromatográfica.
7. Colocar la placa de Cromatografía en el sistema T10 para las aflatoxinas (90 ml de cloroformo y 10 ml de acetona).
8. Sacar la placa del tanque, dejar secar y luego hacer el revelado con luz Ultravioleta.

La aparición de una mancha de un color azul eléctrico fluorescente para más de 254nm indica la presencia de Aflatoxina.

En la investigación solo se tomaron en cuenta harinas en su empaque original (seis paquetes cerrados), y se conservaron sin abrir hasta el momento de ser analizadas en el Laboratorio de Toxicología General “Dr. Pablo Paredes Vivas” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes, del estado Mérida. No fueron objeto de estudio las que permanecen almacenadas por tiempo prolongado en las casas, cerradas o abiertas y sin tomar en cuenta las precauciones que el caso amerita.

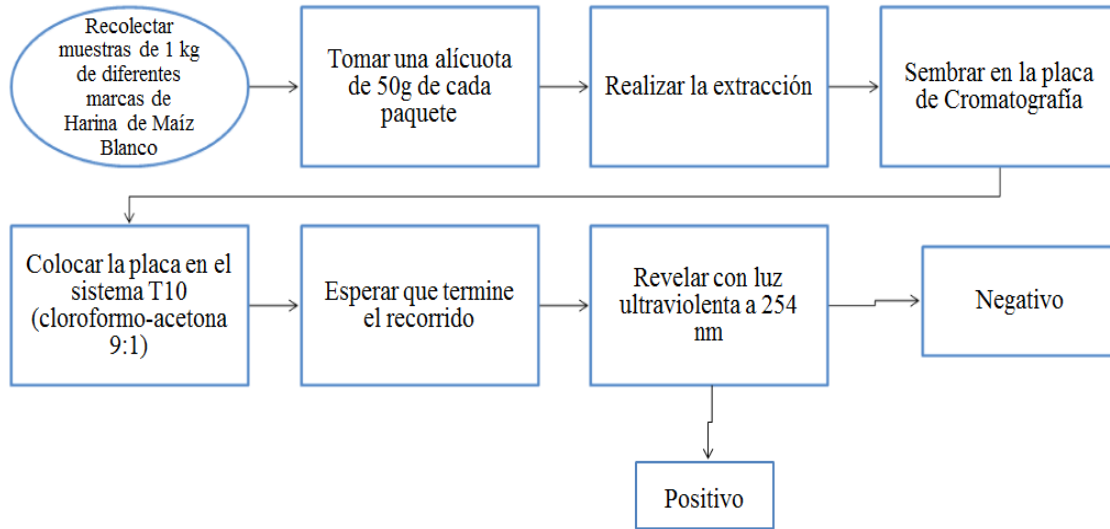


Figura 3. Procedimiento del estudio investigativo.

### Diseño de Análisis

En relación con la Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos, Arias (2012), considera que en este punto se describen las distintas operaciones a las que serán sometidos los datos que se obtengan. Los resultados del presente estudio fueron plasmados a través de registro y tabulación.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **Análisis y Discusión de los Resultados**

Esta Investigación se realizó con la finalidad de explorar la presencia de AFB1 en harina de maíz blanco precocida, y para ello, se seleccionaron seis (6) muestras en sus envoltorios originales y sin abrir de diferentes marcas que se recolectaron en comercios de la ciudad de Mérida.

En la Tabla II se detallan los resultados encontrados en la búsqueda de AFB1 mediante la técnica de cromatografía de capa fina usando el sistema T10 (cloroformo-acetona 9:1). Tal como se observa en la misma, las 6 muestras examinadas dieron un resultado negativo. Para su positividad se esperaba observar en el revelado con luz ultravioleta (UV) a 254 nm una mancha de color azul eléctrico característico de las AFB1, para luego proceder a cuantificar la cantidad a través de la técnica de HPLC. No obstante, todas las muestras se observaron incoloras tal como se aprecia en la figura 4, por lo que se reportó un resultado negativo, es decir, ausencia de AFB1 en el 100 % de las muestras analizadas.

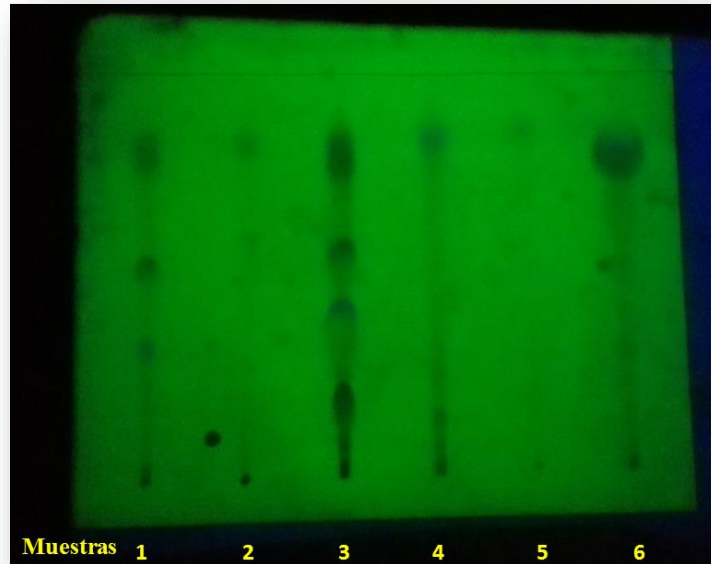


Figura 4. Revelado de la placa cromatográfica con luz Ultravioleta a 254nm.

Tabla II. Resultado de la Cromatografía de Capa Fina.

Muestra	Color de la mancha	Resultado
1	Incoloro	NEGATIVO
2	Incoloro	NEGATIVO
3	Incoloro	NEGATIVO
4	Incoloro	NEGATIVO
5	Incoloro	NEGATIVO
6	Incoloro	NEGATIVO

Elaboración propia.

## **CAPITULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **Conclusiones**

Luego de analizar y discutir los resultados, se obtienen las siguientes conclusiones:

Del total de las seis (6) muestras exploradas mediante Cromatografía de Capa Fina con sistema T10 (cloroformo-acetona 9:1) en ninguna hubo presencia de Aflatoxina B1.

Si bien los resultados fueron negativos, no se puede dar por sentada la ausencia de AFB1 en todas las marcas de harina de maíz blanco. Por el carácter exploratorio y transeccional de esta investigación, y al ser la muestra no probabilística, los resultados se aplican nada más a la muestra en sí, y no son generalizables a una población ni interesa esta extrapolación.

Es también importante mencionar que, solo se exploró la presencia de aflatoxina B1, pero no los demás metabolitos que podrían estar en combinación con ésta. Por tanto, aunque los resultados sean negativos, las muestras pueden no estar exentas de toxicidad por causa de otras micotoxinas.

La investigación hace referencia al contenido de aflatoxinas en muestras tomadas de empaques nuevos y sellados totalmente. No se incluyen los de empaque defectuoso, o los ya abiertos y que permanecen un tiempo prolongado en la casa, tal vez sin los cuidados que el caso amerita. Queda entonces abierta la posibilidad, que las condiciones de temperatura y humedad favorezcan el crecimiento de los hongos productores de diversas micotoxinas en las muestras excluidas.

## Recomendaciones

Realizar otros estudios con un muestreo más amplio e investigación longitudinal.

Expandir el muestreo a otro tipo de productos como leches para lactantes, derivados lácteos, otros cereales como trigo y arroz, derivados de maní y otros productos ricos en carbohidratos y ácidos grasos altamente susceptibles de estar contaminados con AFB1 y con otras aflatoxinas.

Desarrollar investigaciones en la búsqueda de resultados dirigidos a evitar la contaminación con dicha micotoxina en los productos mencionados en el párrafo anterior, y que sugieran tratamientos para erradicarlas.

Aplicar otros métodos para explorar Aflatoxina B1, por ejemplo, Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) que puede detectar concentraciones de hasta 100µg /100g de muestra, siendo un método altamente sensible. Sin embargo, representa costos elevados y requiere de personal especializado.

Efectuar control bromatológico y sanitario de cada lote de alimentos importados y de producción nacional, a través de los organismos pertinentes.

Continuar los estudios, abarcando los otros tipos de micotoxinas que pudieran resultar potencialmente toxigénicas para la salud humana y animal.

## BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- AC, A. (1990). Association of Official Analytical Chemists, Official Methods of Analysis. Arlington, VA.
- Arenas, A. y Barros, A. (2013). El Maíz [Documento en Línea] Disponible [https://www.google.co.ve/search?q=Arenas%2C+A.%2C+%26+Barros%2C+A.+%282013%29.+EL+MAIZ.&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b&gfe\\_rd=cr&ei=Mus1WLDrNKS w8wf-xqSQBQ](https://www.google.co.ve/search?q=Arenas%2C+A.%2C+%26+Barros%2C+A.+%282013%29.+EL+MAIZ.&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b&gfe_rd=cr&ei=Mus1WLDrNKS w8wf-xqSQBQ) [Consulta: 2016, Agosto 30.].
- Arias, F. (2012). El Proyecto de Investigación. Introducción a la Metodología Científica. Caracas: Editorial Episteme.
- Armijo, J. y Calderón, J. (2009). Esquema de acciones para evitar, controlar y desinfectar productos de hongos y aflatoxinas. *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, 12(2), 15-24.
- Bogandes, P. Bogandes, D y Bogandes, S. (2004). Aflatoxinas.[Documento en línea] Disponible [https://www.google.co.ve/search?q=existen+cuatro+tipos+de+Aflatoxinas+cu+ya+presencia+en+los+alimentos+es+m%C3%A1s+frecuente%2C+las+Aflatoxinas+B1%2C+B2%2C+G1+y+G2%2C+siendo+la+Aflatoxina+B1+la+que+posee+una+actividad+toxica+m%C3%A1s+potente+y+producidos+por+el+g%C3%A9nero+Aspergillus&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b&gfe\\_rd=cr&ei=xgE2WJCYCNCw8wfN5bKIDQ](https://www.google.co.ve/search?q=existen+cuatro+tipos+de+Aflatoxinas+cu+ya+presencia+en+los+alimentos+es+m%C3%A1s+frecuente%2C+las+Aflatoxinas+B1%2C+B2%2C+G1+y+G2%2C+siendo+la+Aflatoxina+B1+la+que+posee+una+actividad+toxica+m%C3%A1s+potente+y+producidos+por+el+g%C3%A9nero+Aspergillus&ie=utf-8&oe=utf-8&client=firefox-b&gfe_rd=cr&ei=xgE2WJCYCNCw8wfN5bKIDQ) [Consulta:2016,Septiembre 14].
- Bolet A, M y Socarrás S, M. (2005). Micotoxinas y cáncer. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 24(1), 54-59.
- Chavarría, M., Cardinalisa, C., Luzónb, O., y Garridoa, M. (2012). Artículo original Detección de hongos toxigénicos en harinas de maíz precocida distribuidas en el estado Aragua, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32, 126-130.
- Claramonte, A. D. A., la asesoría de los Prof, C., Chavarri, M., y Torres, A. (2012). Relación entre el contenido de aflatoxinas totales y aflatoxina b1 en maíz blanco de cosecha en Venezuela.

- Contreras, O. L. R., y Flórez, A. M. W. (2009). Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander. *Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 7(1).
- COVENIN. (1996). Harina de maíz precocida. Comisión Venezolana de Normas Industriales. 2135-96. Caracas. Venezuela.
- Cruz P. J. (2006). Compendio de Enfermedades Infecciosas de los animales domésticos.
- De Oliveira R, L., Reis, G., Braghini, R., Kobashigawa, E., De Araujo, J., y Correa, B. (2012). Characterization of aflatoxigenic and non-aflatoxigenic strains of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from corn grains of different geographic origins in Brazil. *European journal of plant pathology*, 132(3), 353-366.
- Di Bernardo, M., Uzcátegui, N., Pérez, L., García, M. Y., Hernández, C., Yáñez, C., y Rodríguez, L. (2009). Identificación de Aflatoxinas en alimentos de uso animal y vísceras de siete venados muertos súbitamente.
- Díaz, G. y Espitia, M. (2005). Aflatoxinas en maíz: Reporte de caso en la Costa Atlántica colombiana. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria*, 52:156-162.
- Farfan, A. (1999). Aflatoxin B1-induced hepatic steatosis: role of carbonyl compounds and active diols on steatogenesis. *The Lancet*, 353(9154), 747-748.
- FAO. (2003). Reglamentos para las micotoxinas en el año 2003 y desarrollos actuales. [Documento en línea] Disponible <http://www.fao.org/docrep/007/y5499s/y5499s07.htm> [Consulta: 2016, Octubre 09].
- FAO/OMS. (2005). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones en el año 2003. Estudio FAO: Alimentación y Nutrición 81. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. Italia. 45 pp.
- Fernández Surumay, G., Negrón-González, G., Isea-Fernández, G., y Sánchez-Camarillo, E. (2000). Reporte de análisis cuantitativo de aflatoxinas por el método Elisa en muestras de materias primas de alimento balanceado para aves provenientes de una planta ubicada en el Municipio Mara del Estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica*, 10 (001).
- Gallardo R, E; Ibarra M, G; Sánchez M, R; Cuamea C, G; Molina G, D; Parra V, N... y Cortez R, M. (2006). Micobiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y

- producción de fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenb. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(1), 27-34.
- Ghosh, R, Chauhan, H y Jha, G. (1991). Suppression of cell-mediated immunity by purified aflatoxin B1 in broiler chicks. *Veterinary immunology and immunopathology*, 28 (2), 165-172.
- Gimeno, A. (2005). Aflatoxina M1 en la leche. Riesgos para la Salud Pública, Prevención y Control. [Documento en Línea] Disponible [http://www.engormix.com/aflatoxina\\_m1\\_leche\\_riesgos\\_s\\_articulos\\_372\\_MYC.htm](http://www.engormix.com/aflatoxina_m1_leche_riesgos_s_articulos_372_MYC.htm) [Consulta: 2017, Diciembre 9].
- González, A. (2010). Diagnóstico y control de especies de "Aspergillus" productoras de ocratoxina A.
- González, M., Hernández, Y., y Moratinos, H. (1990). Incidencia de patógenos en semillas de maíz dulce. In Reunión de Maiceros de la Zona Andina, 14, Maracay (Venezuela), 17-21 Sep 1990. UCV.
- Guzmán, D. (2007). La exposición a la aflatoxina B1 en animales de laboratorio y su significado en la salud pública, Guanajuato México, Artículo de Revisión. 49, 227-235.
- Harris, D. (2001). En Términos de Número de platos Teórico la Eficiencia. [Documento en línea] Disponible <https://www.coursehero.com/University-of-Newcastle/EDUC/EDUC-2016/> [Consulta: 2016, Octubre 12].
- Hedayati, M., Pasqualotto, A., Warn, P., Bowyer, P. y Denning, D. (2007). *Aspergillus flavus*: human pathogen, allergen and mycotoxin producer. *Microbiology*, 153: 1677-1692.
- Hernández, E. (2002). Otros Tipos de Separación Cromatográfica y Electroforesis.
- Hernández, J. (2005). Cromatografía Líquida de Alta Eficacia. [ Documento en línea] Disponible <http://es.slideshare.net/DavidParedesRobledo/cromatografia-hplc> [Consulta: 2016, Octubre 22].
- Hernández S, R., Fernandez C, C., y Baptista, P. (2010). Metodología de la investigación. México: Editorial Mc Graw Hill.
- Hurtado de Barrera, J. (2010). El proyecto de investigación. Comprensión holística de la Metodología de la investigación. 6<sup>ta</sup>. Ed. Caracas, Bogotá: Ediciones Quirón. p. 45-47.
- Instituto Nacional de Nutrición. (2005). Programa de Alimentación. Controles y Estadísticas. Caracas. Venezuela.

- Izquierdo, P., Rojas, V., Rangel, L., & Márquez, E. (1996). Presencia de aflatoxinas en algunos alimentos. *Rev. Fac. Agron. LUZ*, 13, 485-492.
- Kuiper-Goodman, T. (1990). Uncertainties in the risk assessment of three mycotoxins, aflatoxins, ochratoxin and zearalenone. *Canadian journal of physiology and pharmacology* 1990; 68: 1017-1024.
- Larrañana, M. R. M., y Navarro, A. A. (2012). *Micotoxinas: Toxicología alimentaria*. Ediciones Díaz de Santos.
- Leiko, B. (2004). Principales micotoxicosis asociadas al consumo de maíz y sus subproductos.[Documento en línea] Disponible <http://docplayer.es/19801570-Principales-micotoxicosis-asociadas-al-consumo-de-maiz-y-sus-subproductos-trabajo-de-grado-para-optar-al-titulo-de.html> [Consulta: 2016, Octubre 21].
- Lemus, E., Maniscalchi, B., Vera, R., De Freitas, J., & Sangermano, A. (2007). Presencia de aflatoxinas y hongos aflatoxigénicos en maíz amarillo tipo duro clase I de la zona nororiental de Venezuela.
- López, L. M. (2013). Principales micotoxicosis asociadas al consumo de maíz y sus subproductos (Doctoral dissertation, Corporación Universitaria Lasallista).
- Lorenzo, M., Frías, A., Villa, P., & del Valle, M. (2006). Detección por cromatografía de capa fina (CCF) de metabolitos antifúngicos producidos de *Pseudomonas aeruginosa* cepa PSS. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 40(1), 27-30.
- Martínez M, M., Vargas del Río, L y Gómez Q, V. (2013). Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención. *Biosalud*, 12(2), 89-109.
- Mayorga, C. (2002). *Metodología de la Investigación*. Bogotá: Editorial Panamericana.
- Mazzani, C., Borges, O., Luzón, O., Barrientos, V., y Quijada, P. (2000). Fusarium moniliforme, fumonisinas y *Aspergillus flavus* en granos de híbridos de maíz en el Estado Guárico, Venezuela. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 17(2).
- Morris, L. (2011). Determinación de aflatoxinas en muestras de maíz (*Zea mays*) y arroz (*Oryza sativa*) para consumo humano en cinco departamentos de la Costa Caribe Colombiana mediante cromatografía de alta eficiencia durante seis meses. Maestría tesis, Universidad Nacional de Colombia. [Documento en línea] Disponible <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8318> [Consulta 2016, Septiembre 22].
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación FAO. (2013). *La Alimentación y los Controles de Calidad*. México.

- Padrón, M., Yuef, H., Hernández Delgado, S., Reyes Méndez, C. A., & Vázquez Carrillo, G. (2013). El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas. *Revista mexicana de fitopatología*, 31(2), 126-146.
- Palella, G y Martins, L. (2010). Metodología de la Investigación Cuantitativa. Caracas: Ediciones FEDUPEL.
- Perusia, O. R., y Rodríguez, R. (2001). Micotoxicosis. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 87-116.
- Requena, F., Saume, E., y León, A. (2005). Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical*, 23(4), 393-410.
- Rodríguez, B. (2009). Evaluación de la Micoflora y Biocontrol de Aflatoxinas en Alimentos Concentrados para Pollos de Engorde.
- Rodríguez, H. (2010). Micotoxinas y Aflatoxina B1, un problema en salud animal. *Teoría y praxis investigativa*, 5(2), 71-78.
- Rojas, O y Wilches, A. (2009). Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander. *Bistua*, 7, 1-11.
- Rubio, M y Contreras, R. (2008). Método para la producción de harina de maíz precocida y pelada para arepas y tortillas [Documento en línea] Disponible <http://www.patentesonline.com.ve/metodo-para-la-produccion-de-harina-de-maiz-precocida-y-pelada-para-arepas-y-tortillas-40949co.html>. [Consulta: 2016, Octubre 11].
- Saavedra S, N. (2008). Aflatoxinas en alimentos balanceados para canes (Santa Cruz-Bolivia) (Doctoral Dissertation), UAGRM.
- Salazar, D. (2015). Facultad de ciencias agropecuarias ingeniería agroindustrial (doctoral dissertation, universidad laica “eloy alfaro” de manabí). [Documento en línea] Disponible <https://core.ac.uk/download/pdf/157800259.pdf> [Consulta: 2018, Abril 19].
- Santos, O. (1999). Importancia y Efectos de la Aflatoxina en los Seres Humanos. *MedUNAB*, 2(6), 124-129.
- Soares, C. (2013). Mycotoxins production by *Aspergillus Niger* aggregate strains isolated from harvested maize in three Portuguese regions. *Revista Iberoamericana Dr. Micología*, 30(01), 9-13.
- Soriano del Castillo, J. M., Abarca Salat, M. L., Berrada Ramdani, H., Bragulat Arara, M. R., Pérez, B., Cabañas Sáenz, F. J.,... y Fernández Franzon, M. (2007). Micotoxinas en alimentos.

- Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Química. Química Analítica Instrumental II. Técnicas Cromatográficas (2007). [Documento en línea] Disponible [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos\\_6700.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos_6700.pdf). [Consulta: 2016, Octubre 21].
- Urrego José R., Díaz Gonzalo J. (2006). Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad, en la etiología de cáncer hepático celular. Rev. Fac. Med. Univ. Nac. Colombia. 2006; 54: 108-116.
- Villa, P y Markaki, P. (2009). Aflatoxin B1 and ochratoxin A in breakfast cereals from athens market: Occurrence and risk assessment. Food Control 2009; 20: 455-461.
- Yazdanpanah Hassan, Miraglia Marina, Calfapietra Francesca, Brera Carlo. (2001). Natural occurrence of aflatoxinas and ochratoxin A in corn and barley from Mazandaran and Golestan in north provinces of I.R. Iran. Mycotox. Res. 2001; 17: 21-30.

www.bdigital.ula.ve