

EVALUACION DE CUATRO METODOS DE MUESTREO PARA DETERMINAR AFLATOXINAS EN MAIZ (*Zea mays* L.) ALMACENADO EN SILOS¹

Renán Molina²

RESUMEN

Evaluación de cuatro métodos de muestreo para determinar aflatoxinas en maíz almacenado en silos.

Se evaluó la representatividad del contenido de aflatoxinas de muestras de maíz blanco tomadas en silos con sonda neumática, calador, durante la recirculación y el trasiego. Además, se determinó la variabilidad y el tipo de distribución que presentaron las aflatoxinas en los lotes. Los muestreos se realizaron en cinco silos de tres plantas procesadoras de granos del Consejo Nacional de Producción. Todos los promedios de aflatoxinas correspondientes al despacho fueron superiores a los conseguidos con los otros métodos de muestreo, con excepción del silo 5, de la planta Terraba. En todos los casos, los promedios de aflatoxinas obtenidos con la sonda neumática y mediante la recirculación fueron iguales. Aunque no se pudo comprobar estadísticamente, los promedios de aflatoxinas obtenidos con el calador fueron siempre menores que los obtenidos al muestrear durante el despacho. En los silos de la planta Horticoop y Terraba, los promedios de aflatoxinas obtenidos con la sonda neumática, el calador y mediante la recirculación fueron muy parecidos. Estos resultados demuestran que el muestreo durante el despacho del grano es más representativo. La distribución de las aflatoxinas, la violación de los supuestos en que se basa el ANDEVA, los coeficientes de variación altos y los valores obtenidos para las curtosis, confirmaron que esta micotoxina se distribuye en forma muy variable dentro de un mismo lote de maíz.

Palabras clave: métodos, muestreo, aflatoxinas, almacenamiento, silos, granos, *Zea mays*, Costa Rica.

ABSTRACT

Evaluation of four sampling methods to determine aflatoxins of stored maize in silos.

Representativeness of white maize samples containing aflatoxins, taken from silos with pneumatic grain sampler, grain probe, during grain recirculation and grain unloading was evaluated. Also, the variability and the distribution type of the aflatoxins in the lots was measured. Samples were taken from five silos at three processing plants owned by the Consejo Nacional de la Producción. All samples taken during unloading had higher values than those obtained with other sampling methods, except for silo 5 at the Terraba plant. In all cases, the average with the pneumatic sampler and during grain recirculation were statistically the same. Eventhough no significant differences were found, the values obtained with the grain probe were always lower than those obtained during unloading. The values obtained with the pneumatic sampler, the grain probe and during recirculation were quite similar in the silos at the Horticoop plant and at Terraba. These results demonstrate that sampling during unloading is more accurate. The distribution of the aflatoxins, the violation of the precepts in which ANOVA is based, the high variation coefficients and the high kurtosis values, showed that the distribution of the micotoxins is quite variable in a single maize lot.

Key words: methods, sampling, aflatoxins, storage, silos, grain, *Zea mays*, Costa Rica.

¹ Ing. Agr., Programa de Manejo Poscosecha de Granos, Centro para Investigaciones en Granos y Semillas, Facultad de Agronomía, Universidad de Costa Rica.

INTRODUCCION

Experiencias en Costa Rica sobre la contaminación de los granos por aflatoxinas, indican que el maíz es la especie más afectada por esta micotoxina. Esto representa un grave problema para la salud humana, ya que en nuestro país la mayor parte del maíz blanco es utilizado para el consumo humano (Mora 1988).

Uno de los principales problemas que presentan los programas orientados a disminuir los niveles de aflatoxinas a límites aceptables, es la dificultad de obtener muestras representativas en granos almacenados en silos. Esto se debe a que esta micotoxina no se distribuye uniformemente en un mismo lote de granos y al impedimento físico para muestrear uniformemente todas las partes del silo (Davis *et al.* 1980).

Bradbum y Sharkey (1988) encontraron que uno de los principales problemas que presenta la obtención de muestras representativas en granos almacenados, es que relativamente pocos granos individuales en un lote son los que están contaminados; el nivel de aflatoxinas de un grano a otro pueda variar desde 0 hasta 500.000 ng/g o más.

Además, los niveles de contaminación por aflatoxinas y el porcentaje de granos contaminados varían concomitantemente. En muestras con baja contaminación, cerca del 0,24% de los granos individuales se encuentran infestados y en muestras con alta contaminación, esta proporción puede llegar a 5% (Jewers y Coker 1986).

Bradbum y Sharkey (1988) encontraron en 48 muestras provenientes de un lote de maíz de 4 toneladas, una media de 123,0 ng/g, una desviación estándar de 82,0 ng/g, un coeficiente de variación del 66,7% y un rango de 20,8 a 385,0 ng/g de aflatoxinas; además lograron confirmar que los datos no estaban distribuidos normalmente.

Aunado a este problema de la distribución heterogénea de las aflatoxinas, también se ha informado de inconvenientes para tomar muestras representativas en lotes a granel, principalmente en silos, debido a la restringida accesibilidad a las diferentes partes del silo (Davis *et al.* 1980).

Los métodos que se utilizan en nuestro país para obtener muestras de maíz en silos son: el muestreo con sonda neumática y con calador y la toma de muestras a intervalos regulares de tiempo, durante la recirculación y el trasiego del grano. El muestreo con sonda neumática y con calador no es un procedimiento confiable debido a que se recomienda únicamente cuando los lotes han sido mezclados previamente por operaciones de poscosecha u otro tipo de manejo (Davis *et al.* 1980). Estos autores señalan que la mayoría de las muestras tomadas con métodos inapropiados de muestreo, muestran contenidos menores de aflatoxinas que la concentración verdadera del lote muestreado.

Contrario al método descrito anteriormente, el muestreo durante el trasiego, ya sea al pasar el maíz de un silo a otro, o durante el vaciado del silo para la venta del grano, puede suministrar muestras representativas y servir de referencia para evaluar la confiabilidad de los otros métodos de muestreo. Esto porque generalmente durante el muestreo por trasiego se toma un número considerable de muestras de todos los lugares del silo, aspecto que puede favorecer significativamente la precisión de las estimaciones.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la variabilidad y el tipo de distribución que presentan las aflatoxinas en lotes de maíz almacenados en silos; así como evaluar la representatividad en cuanto al contenido de aflatoxinas, de las muestras de maíz blanco tomadas en silos con sonda neumática, con calador, por recirculación y por trasiego.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizó maíz blanco de la cosecha nacional, almacenado en silos del Consejo Nacional de Producción (CNP). Los silos seleccionados para esta investigación, sus dimensiones, las plantas del CNP donde estaban ubicados y la cantidad aproximada de maíz que contenían se observan en el Cuadro 1. De acuerdo con los registros de calidad del CNP, se trató de trabajar con lotes de maíz que representarían tres niveles de aflatoxinas: bajo, medio y alto.

El tamaño de las muestras de maíz para el análisis fue de 5 kg y los trabajos se realizaron en el Centro para Investigaciones en Granos y Semillas de la Universidad de Costa Rica. Las muestras se analizaron rápidamente después de tomadas, para impedir que los niveles originales de aflatoxinas se alteraran y para evitar una posible infestación con insectos. Los análisis de aflatoxinas se hicieron de acuerdo con el método descrito por Velasco (1985).

Los métodos de muestreo que se evaluaron fueron la sonda neumática, el calador, la recirculación y el trasiego (despacho). Para el muestreo con sonda neumática se utilizó un equipo marca Probe-A-Vac, Cargill. El muestreo con calador se hizo con una sonda bastón de aluminio de 1,8 m de longitud y con 11 aberturas independientes. Los muestreos por recirculación y por despacho consistieron en tomar muestras de grano a intervalos regulares de tiempo, del tomillo sin fin de salida de los silos. En

el despacho se tomaron muestras de grano cada 60 minutos durante el vaciado de los silos para la venta y por recirculación se tomaron muestras cada 5 minutos, mientras el grano era trasegado dentro del mismo silo.

Los muestreos con sonda neumática y con calador se hicieron introduciendo los respectivos equipos en diferentes puntos de la parte superior de la masa de grano. Estos puntos se distribuyeron sobre una circunferencia imaginaria, en forma equidistante, partiendo de un punto arbitrario, colocado aproximadamente a 2,0 m de la pared del silo. Con la sonda neumática se utilizaron 8 extensiones de 0,9 m de longitud cada una, para obtener muestras a todas las profundidades del granel.

El silo 5 de la planta La China no fue muestreado con calador, ya que al momento del estudio el silo contenía 1.840 t (40.000 quintales). Según Devis *et al.* (1980) esta es una cantidad muy grande para muestrear con calador.

En total, se tomaron 313 muestras de maíz, distribuidas por métodos de muestreo, plantas y silos, según se muestra en el Cuadro 2.

Los resultados de los análisis de aflatoxinas se expresan en nano gramos por gramo (ng/g).

Se utilizó un diseño irrestricto al azar, con diferente número de repeticiones. No se incluyó den-

Cuadro 1. Plantas de procesamiento, dimensiones y cantidad aproximada de maíz que contenían los silos del CNP estudiados.

Planta	N° de silo	Cantidad (quintales)	Altura (m)	Diámetro (m)
La China	5	40.000	17,0	18,0
Horticoop	5	6.500	8,0	6,5
Hoorticoop	6	6.500	8,0	6,5
Hoorticoop	7	6.500	8,0	6,5
Térraba	1	17.000	17,0	18,0

Cuadro 2. Distribución de las 313 muestras recolectadas en el proyecto, por métodos de muestreo, plantas y silos.

Planta y silo	Métodos de muestreo y número de muestras				Total por silo
	Sonda	Calador	Recirculación	Despacho	
La china					
Silo 5	28	0	8	141	177
Hoticoop					
Silo 5	15	1	5	12	33
Silo 6	15	1	6	3	25
Silo 7	15	1	5	17	38
Térraba					
Silo 1	18	1	8	13	40
Total muestras	91	4	32	186	313

tro del análisis de variancia (ANDEVA) el muestreo con calador, ya que con este método no fue posible lograr repeticiones. La comparación estadística de las medias de tratamientos se hicieron por Diferencias Mínimas Significativas (D.M.S). Por último, se calculó el coeficiente de variación y la curtosis (para una población normal la curtosis es 3), para determinar la variabilidad y el tipo de distribución que presentaba el contenido de aflatoxinas en los lotes de maíz.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antes de hacer el análisis estadístico se probaron los supuestos sobre los que se basa este tipo de análisis, debido a que se tenían evidencias de que las aflatoxinas no se distribuyen normalmente en un lote de maíz (Bradburn y Sharkey 1988). De esta forma, se determinó que los datos originales de aflatoxinas violaban los supuestos sobre los que se basa el ANDEVA, por lo que en primera instancia, los datos se transformaron mediante la fórmula

$\sqrt{(x+0,5)}$ y luego por transformación logarítmica. Se encontró que la transformación logarítmica es más efectiva en aproximar los datos a una distribución normal, ya que corrige mejor los supuestos que se infringen con más intensidad en este tipo de situaciones, a saber, la independencia de las medias y de las variancias (Litde y Jackson 1976).

Los contenidos de aflatoxinas en general, mostraron coeficientes de variación altos con todos los métodos de muestreo (Cuadro 3). Esto pone en evidencia que esta micotoxina se distribuye en forma muy irregular en granos almacenados a granel, como se ha descrito por otros investigadores (Bradburn y Sharkey 1988; Jewers y Coker 1986). Además, las muestras tomadas al momento de la entrega para la venta del grano (despacho), en el silo 5 de la planta La China, presentaron un coeficiente de variación alto (73,45%), el cual fue calculado con base en 141 muestras y un promedio de aflatoxinas de 97 ng/g; valores muy parecidos a los encontrados por Bradburn y Sharkey (1988).

Cuadro 3. Coeficientes de variación, tamaños de muestra y curtosis para los datos originales de aflatoxinas, por métodos de muestreo, plantas y silos.

Plantas y silos	Despacho		Sonda neumática		Recirculación		Curtosis por silo	
	n	cv (%)	n	cv (%)	n	cv (%)	n	k
La china								
Silo 5	141	73,45	28	33,10	8	34,28	173	3,0
Horticoop								
Silo 5	12	36,35	15	23,33	5	30,28	29	0,8
Silo 6	3	14,61	15	17,87	6	3,77	26	0,7
Silo 7	17	35,68	15	17,87	5	34,85	34	2,2
Térraba								
Silo 1	13	24,86	18	13,26	8	8,84	39	0,5

n = Número muestras; cv = Coeficiente variación; k = Curtosis

El análisis de las curtosis indicó que a excepción del lote de maíz del silo 5 de la planta La China, la distribución de las toxinas no siguió una distribución aproximada a la normal, como lo han demostrado otros investigadores (Bradbum y Sharkey 1988).

La tendencia hacia la normalidad que presentaron los datos de aflatoxinas en este silo de la planta La China, se debió, posiblemente, al gran número de muestras que se tomaron y no a que la variable esté distribuida normalmente (Cuadro 3). A estos resultados se les debe prestar más atención en otras investigaciones, ya que Yamane (1977) menciona que aunque la distribución de una variable tienda a la normalidad cuando se aumenta el número de observaciones de la misma, esto no prueba que su distribución sea normal.

Los promedios de aflatoxinas obtenidos durante el despacho fueron mayores que los obtenidos con la sonda neumática y durante la recirculación, en el silo 5 de la planta La China y en los silos 5, 6 y 7 de la planta Horticoop (Figuras 1, 2, 3 y 4). Además, estas diferencias fueron significativas

($P \leq 0,05$), en el silo 5 de la planta La China y en el silo 5 de la planta Horticoop (Figuras 1 y 2).

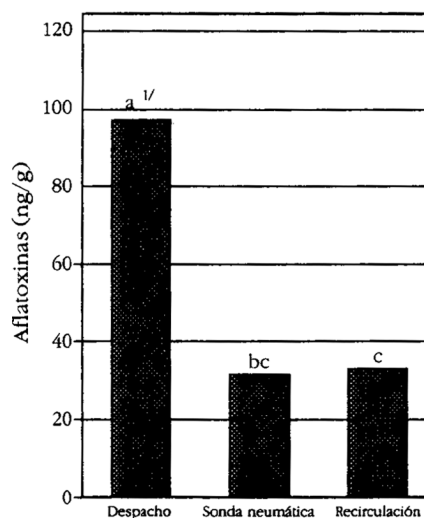


Fig. 1. Promedios de aflatoxinas de las muestras de maíz tomadas durante el despacho, la recirculación y con sonda neumática, en el silo 5, de la planta La China.

^{1/} Medias con igual letra entre sí presentan diferencias no significativas según prueba DMS 5%.

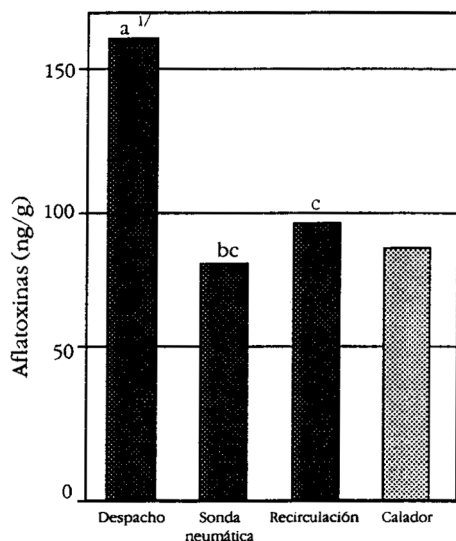


Fig. 2. Promedios de aflatoxinas de las muestras de maíz tomadas durante el despacho, la recirculación, con sonda neumática y con calador, en el silo 5, de la planta Horticoop.

^{1/} Medias con igual letra entre sí presentan diferencias no significativas según prueba DMS 5%.

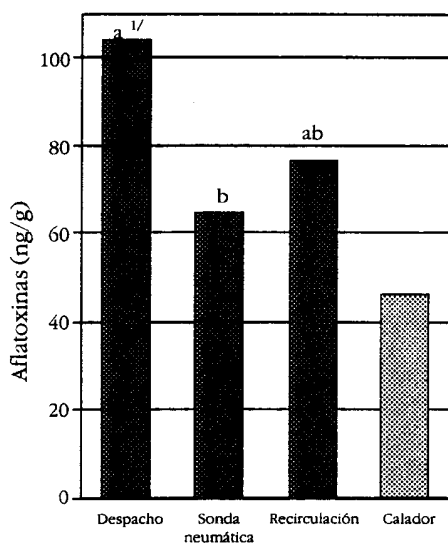


Fig. 4. Promedios de aflatoxinas de las muestras de maíz tomadas durante el despacho, la recirculación, con sonda neumática y con calador, en el silo 7, de la planta Horticoop.

^{1/} Medias con igual letra entre sí presentan diferencias no significativas según prueba DMS 5%.

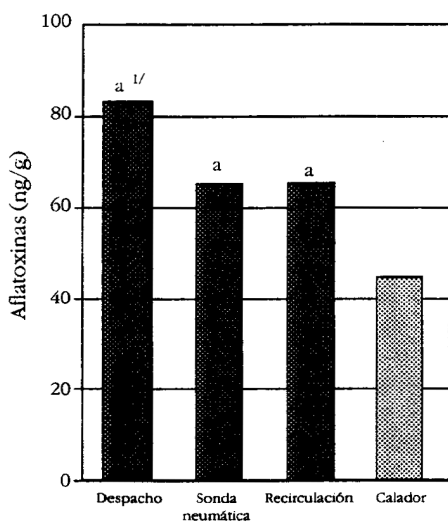


Fig. 3. Promedios de aflatoxinas de las muestras de maíz tomadas durante el despacho, la recirculación, con sonda neumática y con calador, en el silo 6, de la planta Horticoop.

^{1/} Medias con igual letra entre sí presentan diferencias no significativas según prueba DMS 5%.

Aunque no se confirmó estadísticamente las diferencias entre los promedios de aflatoxinas de las muestras tomadas al despacho y con calador, se observó en todos los casos, que los promedios de toxinas obtenidos con el calador fueron los más bajos y siempre menores que los promedios del despacho (Figuras 1, 2, 3, 4 y 5).

Estas distribuciones asimétricas encontradas en los lotes de maíz estudiados, afectaron negativamente la precisión de los métodos de muestreo, principalmente de la sonda neumática, del calador y de la recirculación. No ocurrió lo mismo con el método de muestreo al momento del despacho. El otro factor importante que afectó la eficiencia del muestreo con la sonda neumática, con calador y por recirculación, fue el acceso limitado que se logró a las diferentes partes de los silos, como ha sido observado por otros investigadores (Davis *et al.* 1980).

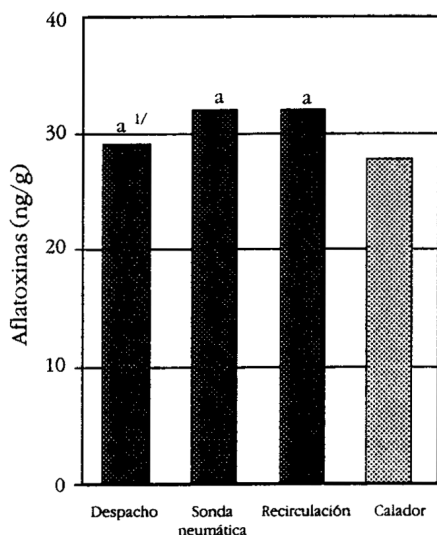


Fig. 5. Promedios de aflatoxinas de las muestras de maíz tomadas durante el despacho, la recirculación, con sonda neumática y con calador, en el silo 1, de la planta Terraba.

^{1/} Medias con igual letra entre sí presentan diferencias no significativas según prueba DMS 5%.

A pesar de que la representatividad de las muestras se vio afectada por los factores antes mencionados, la tendencia de los promedios de aflatoxinas correspondientes al muestreo durante el despacho, a ser mayores que los promedios de los otros métodos de muestreo y el buen acceso que se logró a todas las partes de los silos con el muestreo durante el despacho, permitieron considerar a los promedios obtenidos con este método, como los más representativos de los niveles reales de aflatoxinas que tuvieron los lotes de maíz estudiados.

Esta tendencia de los promedios del despacho a ser mayores que los obtenidos con los otros métodos de muestreo, concuerdan con lo informado por Davis *et al.* (1980), en el sentido de que más de la mitad de las muestras tomadas con métodos inapropiados de muestreo, tienden a subestimar la concentración verdadera de toxinas en el lote muestreado.

El muestreo durante el despacho, a pesar de su confiabilidad, tiene dos inconvenientes. Primero, cuando el muestreo se hace durante el despacho para la venta del grano, se requiere de varios días o semanas para muestrear totalmente un silo. Segundo, cuando el muestreo se hace al transportar el grano de un silo a otro, se requiere disponer de un silo vacío (extra) para llevar a cabo el trasiego, lo cual aumenta el costo de almacenamiento.

A pesar de que el muestreo por recirculación es utilizado en el país como un método de referencia, los resultados indicaron que los promedios obtenidos con este método son iguales ($\alpha = 0,05$) a los promedios conseguidos con la sonda neumática. También se encontró una similitud entre los promedios obtenidos por recirculación y con el calador (Figuras 1, 2, 3, 4, y 5). Esto sugiere que el muestreo por recirculación no aporta muestras representativas, probablemente porque el trasiego del maíz dentro de un mismo silo no permite que el grano se mezcle adecuadamente y con este método solo se muestrea una pequeña porción del granel.

La similitud que se encontró entre la sonda neumática, el calador y la recirculación, en cuanto a los promedios de aflatoxinas, se debió, posiblemente, a que una proporción muy importante del grano muestreado por recirculación es el que se encuentra en la parte superior del silo; esta sección fue la misma parte que se muestreó previamente con la sonda neumática y con calador.

En el caso de la planta Terraba, los promedios de aflatoxinas durante el despacho, de la sonda neumática y durante la recirculación fueron iguales ($\alpha = 0,05$). Es probable que esto se deba a que el silo que se muestreó en esta planta estaba por debajo de su capacidad máxima de almacenamiento, lo cual permitió extraer muestras de todas las partes del granel con los cuatro métodos de muestreo evaluados, lo que favoreció la representatividad de las muestras.

Conclusiones:

La violación de los supuestos en que se basa el ANDEVA, los coeficientes de variación altos y los valores obtenidos para las curtosis, corroboraron lo informado por Bradburn y Sharkey (1980), en el sentido de que las aflatoxinas se distribuyen en forma muy variable dentro de un mismo lote de maíz.

Este tipo de distribución que presentaron las aflatoxinas, el limitado acceso que se logró a las diferentes partes de los silos, o la combinación de ambos factores, afectó la representatividad de las muestras tomadas con sonda neumática, con calor y por recirculación. Esto provocó que los promedios de aflatoxinas obtenidos con base en estos métodos, fueran inferiores a los promedios verdaderos que tenían los lotes muestreados (Davis *et al.* 1980).

La tendencia de los promedios de aflatoxinas detectados al muestrear durante el despacho, a ser mayores que los obtenidos con base en las muestras tomadas con los otros procedimientos de muestreo, como lo señalan Davis *et al.* (1980), y el mejor acceso que se logró todas las partes de los silos con este procedimiento, permitió considerar como más representativas las muestras tomadas con este método de muestreo. A pesar de esta ventaja, es necesario continuar los estudios en este campo, para identificar otros procedimientos de muestreo que sean confiables, pero que no presenten los inconvenientes de infraestructura y tiempo que conlleva el muestreo de granos durante el despacho.

LITERATURA CITADA

- BRADBURN, K.J.; SHARKEY, A. J. 1988. Aflatoxin distribution studies on a four tonne batch of maize. *International Biodeterioration* 24:393-398.
- DAVIS, N.; DICKENS, J. W.; FREIE, R.L.; HAMILTON, B.; SHOTWELL, O. L.; WYLLIE, T.D.; FULKERSON, J. F. 1980. Protocols for surveys, sampling, postcollection handling, and analysis of grain samples involved in mycotoxin problems. *Association of Official Analysts Chemistry* 63 (1):95-102.
- JEWERS, K.; COKER, R.D. 1986. Problems involved in the determination of aflatoxin levels in bulks commodities. *International Biodeterioration* 22:83-88.
- LITTLE, M.T.; JACKSON HILLS, F. 1976. Métodos estadísticos para la investigación en la agricultura. México, D.F, Trillas. 270 p.
- MORA, M. 1988. Contaminación de granos con aflatoxinas: una metodología para realizar un diagnóstico y resultados encontrados en Costa Rica en maíz blanco. Universidad de Costa Rica, Centro para Investigaciones en Granos y Semillas. 60 p.
- VELASCO, J. 1985. Fluorometric measurement of aflatoxin adsorbed on florisol in minicolumn. *Journal of Association of Official Analytical Chemists* 58:757-763.
- YAMANE, T. 1977. Estadística. 3 ed. México, D.F., Harla. 573 p.