



**Convenio entre Federación de Centros y Entidades  
Gremiales de Acopiadores de Cereales de la República  
Argentina y Comisión Técnica Ejecutora del Plan Nacional  
de Silos de la República Oriental del Uruguay**

**Estudio sobre Fusarium spp**

## 1. INTRODUCCIÓN.

En el marco del Convenio de la Federación de Centros y Entidades Gremiales de Acopiadores de Cereales de la República Argentina y la Comisión Técnica Ejecutora del Plan Nacional de Silos de la República Oriental del Uruguay, se acordó estudiar la situación del trigo a nivel del acopio a causa de la problemática generada por el hongo *Fusarium spp.* y la posible contaminación con la toxina Deoxinivalenol (DON) en la cosecha 2002/2003.

Son bien conocidas las pérdidas económicas que se producen a nivel del producto cosechado, por disminución en la producción, por causa de mermas en volumen, y en disminución de la calidad comercial e industrial. Lamentablemente debemos agregar a estas, la pérdida de inocuidad causada por la toxicidad de metabolitos del *Fusarium*, liberados en determinadas condiciones.

Las zafras 2001/2002 y 2002/2003 fueron especialmente características por las condiciones climáticas en una vasta zona del Río de la Plata (litoral uruguayo, norte de Buenos Aires, Entre Ríos, sur de Santa Fe); esa situación de altas temperaturas y humedades dio lugar a un severo ataque del hongo *Fusarium* en el cultivo de trigo. Particularmente en países como Uruguay donde la zona de producción de este cultivo es muy pequeña (litoral oeste) en comparación con la zona de producción argentina, la situación climática abarcó la totalidad del área cultivada. Esta gran epifitia perjudicó de tal manera la cosecha que no fue posible utilizar el trigo en forma directa por su contenido de DON y hubo que importar trigo para poder cubrir las necesidades del consumo mediante mezclas.

La contaminación con toxinas es un grave problema que se agrega al de la pérdida de calidad y que tiene el agravante de no poder cuantificarse a simple vista. Su evaluación a través de análisis específicos es onerosa y lleva tiempo, lo que impide su realización en el momento del recibo en el acopio y en lotes pequeños.

Según Canadian Wheat Board existe determinada correlación entre el número de granos con micelio (bajo lupa 8X) y la concentración (en ppm) de DON. A los efectos de poder contar con una herramienta práctica y económica que pudiese utilizarse durante el recibo y en pequeños lotes, y que permitiese segregar los mismos según su concentración, se intentó verificar dicha correlación. Cabe resaltar que esta sería alta para una concentración de toxina de hasta 2 ppm y un nivel de daño por *Fusarium* de 1% (bajo lupa), lo que implica que muchos de estos granos no presentan daños a ojo desnudo, es decir, en un análisis comercial convencional no estarían considerados como granos dañados por *Fusarium*. La posibilidad de ingresar a molienda trigos con hasta 2 ppm de DON reside en el hecho de que durante ese proceso la fracción harina lograría niveles de hasta 1ppm de la toxina.

¿Porqué utilizar harinas de trigo solamente con hasta 1 ppm de DON?. Si bien no existe un nivel máximo seguro, a nivel mundial muchas reglamentaciones, guías y resoluciones estarían de acuerdo que el nivel máximo en harinas destinadas a consumo humano no debería exceder de 1 ppm (se entiende que este nivel está relacionado con la dieta y el consumo promedio de los sectores de población mas expuestos). De la misma manera, los subproductos del trigo destinados a consumo

animal tendrían a su vez distintos niveles, con un máximo de 5 ppm para vacunos de carne.

La segregación de los trigos al recibo por su posible concentración a través de un análisis sencillo, y posterior verificación con un análisis químico cuantitativo mucho más efectivo - en lotes de mayor volumen -, implica un costo de análisis menor y sería una práctica cuyos resultados económicos serían obvios. La práctica de la mezcla de trigos para disminuir su concentración a niveles de inocuidad, es la herramienta válida al momento, pero el no conocer la concentración de la toxina y su distribución en el granel, en los diferentes lotes, implica que esa mezcla puede ser aún mas cara. *No debemos olvidar la complicación de disminuir toxinas mezclando diferentes concentraciones y a su vez tener en cuenta las calidades comerciales y/o industriales.*

Otro elemento que se intentó verificar fue la dispersión de la toxina al momento de la molienda, en sus diferentes fracciones, para poder tener un parámetro que nos indique que disminución o aumento podemos esperar a priori de su concentración. Si bien la molienda del trigo y su separación en las diferentes fracciones es altamente dependiente del tipo de molino y de la regulación de la molienda, se puede esperar que la dispersión de la toxina tenga cierta correlación en términos de porcentaje.

## **2. ANTECEDENTES.**

La enfermedad llamada “golpe blanco” ó “fusariosis de la espiga” es causada por una o más especies del hongo *Fusarium*. La especie más frecuente en trigo, tanto en Uruguay como en Argentina es el *Fusarium graminearum* Shawbe, forma imperfecta de *Giberella zea* (1).

Por su frecuencia creciente y severidad se ha convertido en una de las principales enfermedades del trigo tanto en Uruguay como en Argentina, principalmente norte de la provincia de Buenos Aires, sur de Santa Fe, Entre Ríos y sur de Córdoba. Cabe aclarar que la misma se halla difundida en numerosos países afectando no solo al trigo sino también a otras especies de gramíneas.

La “fusariosis de la espiga” puede producir mermas en el rendimiento del cultivo debido a la presencia de espiguillas vanas o con llenado incompleto lo que se traduce en menor peso hectolítrico y aumento del porcentaje de granos dañados, afectando también su poder germinativo, vigor de las semillas y tenor proteico. Pero, la característica más preocupante de este hongo más allá de cómo afecta la funcionalidad tecnológica del grano (posibilidad de extraer harina panificable de los mismos) es la capacidad de generar toxinas nocivas tanto para el hombre como para los animales. Las micotoxinas más frecuentes generadas por *Fusarium graminearum* son la Zearalenona (ZEA) y el Deoxinivalenol (DON) (1).

La epidemia de *Fusarium* se asocia con abundante inóculo y condiciones de temperatura, humedad y pH favorables entre las etapas de espigazón y llenado de grano, principalmente entorno a la floración ya que la infección ocurre a través de las anteras. Las condiciones para la formación y producción de inóculo se dan cuando el substrato está húmedo con temperatura ambiente entre 20 y 30°C con un rango óptimo, para el crecimiento del *Fusarium graminearum*, entre 24-26°C. Se ha

encontrado que el tiempo de duración de la lluvia (mojado) es más crítico que la cantidad de agua caída (2).

La enfermedad, en trigo se evidencia como una decoloración en las espiguillas infectadas. La coloración depende de la época de infección y de las condiciones climáticas durante el desarrollo de la enfermedad. Si las espiguillas han sido afectadas tempranamente se desarrollan masas de esporas rosado salmón y eventualmente estructuras oscuras (peritecios) al momento de cosecha (3).

Las infecciones que ocurren tempranamente generalmente matan a las florecillas y el grano no se desarrolla, mientras que en aquellos trigos infectados más tardíamente, los granos son más o menos arrugados (chuzos) con apariencia áspera debido al crecimiento superficial del micelio y con coloración blanco rosado a pardo claro. Si el ataque se produce luego del llenado del grano el tamaño del mismo no es afectado, incluso su aspecto y coloración, pero el hongo está presente y los niveles de DON pueden ser significativos (3).

Muchas especies de hongos son bioquímicamente más activas y pueden elaborar un espectro amplio de moléculas orgánicas. Las micotoxinas son definidas como metabolitos secundarios, es decir, no son esenciales para el funcionamiento de las células, son contaminantes naturales de difícil prevención y detección responsables de cuadros de variada naturaleza. Estudios toxicológicos han demostrado que el DON produce dos efectos tóxicos agudos característicos como vómitos y disminución de la ingesta de alimentos. En estudios a corto y largo plazo se evidencia en la mayoría de las especies un retardo del crecimiento así como lesiones en timo, bazo, hígado y miocardio

Las micotoxinas son parte de los mecanismos de defensa y de supervivencia de estos hongos una vez instalados en la planta, las situaciones de estrés que afectan a la planta huésped y comprometen la proliferación y supervivencia del hongo actúan como promotores de la generación de micotoxinas. Es por esto que la presencia de hongos no implica necesariamente la presencia de micotoxinas, pero sí una posible contaminación.

### **3. OBJETIVOS.**

#### **ZAFRA 2002-2003.**

La alta incidencia del hongo *Fusarium* principalmente *Fusarium graminearum* en trigo y cebada en las últimas campañas genera inquietud de conocer los niveles de la toxina Deoxinivalenol (DON) producidas por dicho hongo, y de generar elementos que ayuden a tomar decisiones en momentos problemáticos, que sirvan de antecedentes frente a la repetición de este fenómeno en futuras campañas.

El estudio que se presenta, intenta además de realizar una caracterización del daño, encontrar herramientas que de alguna manera puedan ayudar al manejo de poscosecha, clasificación y segregación previa al recibo, importancia de prelimpieza en cosecha, acopio e industria, historia de los lotes y forma de muestreo.

- Conocer cual es la situación con respecto al material seleccionado para los análisis (zona de Entre Ríos y Provincia de Buenos Aires) y obtener una base de datos para discutir los pasos a seguir.
- Determinar mediante análisis físico el porcentaje de granos con micelio visible bajo lupa de 8x.
- Detectar y cuantificar mediante un método analítico rápido la presencia de la toxina DON (ppm) en las muestras de grano de trigo entero seleccionadas.
- Determinar la posible existencia de una alta correlación entre las variables porcentaje de granos con micelio bajo lupa 8x y la concentración de DON (ppm).
- Cuantificar la diferencia de pesos de las fracciones de granos sanos y con micelio.
- Conocer la distribución de la toxina en la fracción de granos sin micelio “sanos” y en la fracción de granos con micelio.
- Conocer la distribución de la toxina en las diferentes fracciones del grano, harina, afrechillo y sémola.

#### **4. METODOLOGÍA.**

##### **4.1. Muestreo.**

El muestreo se realizó en toda la zona de producción triguera de Entre Ríos y Provincia de Buenos Aires, el número de muestras fue de 400, 300 de la Provincia de Entre Ríos y 100 de Provincia de Buenos Aires con iguales características de tamaño y condición de extracción y muestreo que las obtenidas en Uruguay. También se identifican localidad y volumen que representan las muestras.

Cada muestra es de aproximadamente 2 kgs. de peso, obteniendo muestras significativas del lote recibido. Estas se seleccionan del recibo de chacra sin tener en cuenta si son de una o más chacras, identificando localidad y volumen total del lote. Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de semillas y el laboratorio químico de la Cámara Arbitral de la Bolsa de Cereales de Buenos Aires.

A los efectos de unificar criterios metodológicos, los técnicos del Plan Nacional de Silos (Uruguay) y del Laboratorio de Alimentos de la División Protección de Alimentos Vegetales (Uruguay) realizaron los ajustes necesarios con los técnicos y analistas argentinos.

##### **4.2. Metodología de análisis.**

###### **4.2.1. Análisis físico.**

Luego de homogeneizar la muestra general de 2 kgs. se procede al cuarteo de la misma hasta obtener una muestra de aproximadamente 50 gramos. De la muestra reducida para análisis se observan todos los granos de trigo de la misma realizando una segregación inicial de todos aquellos granos que presentan alteraciones visibles o

de aspecto diferente a lo normal por alguna de sus características, ya sea color, textura, etc. sin ser daños visibles.

Una vez separados los granos visiblemente dañados y aquellos de aspecto “dudoso” se realiza una segunda inspección de cada grano segregado inicialmente bajo una lupa de 8x. Allí se verifica la presencia o ausencia de micelio del hongo sobre el grano, con especial atención en la zona del surco, donde se lo puede observar con mayor nitidez ya que presenta un pliegue que lo conserva más protegido de los choques, rozamientos, fricciones y otros movimientos de los granos entre sí o con otras superficies durante el manipuleo y que puedan resultar abrasivos para el grano y el micelio del hongo presente en este.

El uso de la lupa implica la detección de granos con micelio que a simple vista no es posible detectar. El resultado de este análisis se expresará en porcentaje al décimo de granos con micelio en la muestra (%).

#### 4.2.2. Análisis químico.

Para la determinación y cuantificación de la micotoxina deoxinivalenol (DON) se utilizó la técnica ELISA, con kit cuantitativo de tipo inmunoenzimático de la firma Veratox (NEOGEN®), siguiendo las instrucciones del fabricante con una pequeña modificación en la etapa de extracción.

##### 4.2.2.1.Preparación de la muestra.

Mediante la utilización del homogeneizador y divisor de muestras Boërner, se obtiene a partir de la muestra general, 1 kg aproximadamente; que se muele y se homogeniza y se divide nuevamente toda la muestra molida, conservándola posteriormente en un frasco seco y cerrado herméticamente.

##### 4.2.2.2. Extracción.

- Se pesan 50 gramos de muestra molida
- Se coloca en un vaso de licuadora y se le adiciona 250 ml de solución buffer fosfato (0.025M pH=7.4).
- Licuar 3 minutos.
- Se deja decantar la muestra y se filtra la parte soluble superior (sobrenadante) con papel Whatman n° 1.
- Se mide el pH del extracto, en caso de detectarse ácido o alcalino se ajusta a neutro con solución NaOH (0.4M) ó HCl (0.1M) respectivamente.

##### 4.2.2.3.Determinación.

- Extraída la toxina de la muestra se la mezcla con la solución conteniendo toxina químicamente identificada con una enzima, esta toxina marcada recibe el nombre de “conjugado”.
- Se transfiere la solución mezclada a los vasos cubiertos con el anticuerpo. La toxina libre (del extracto) y la “marcada” buscan adherirse a los sitios

ocupados por anticuerpos en las paredes de las celdas. Se enjuagan las celdas para eliminar el exceso de conjugado y demás.

- Se agrega el sustrato, cuyo color cambia en presencia del conjugado.
- Finalmente se agrega el reactivo estabilizador de color.
- Los resultados se obtienen midiendo la intensidad de color con un lector de densidad óptica o absorbancia a una longitud de onda de 650nm (lector de ELISA).

Las características de performance del kit utilizado para la determinación de DON son:

- Límite de detección: 0.1 ppm.
- Límite de cuantificación: 0.25 ppm.
- Rango de cuantificación: 0.25-2.5 ppm.

Cuando se obtienen valores superiores a 2.5 ppm se debe cambiar la relación muestra /solvente en la extracción ó realizar dilución en el extracto obtenido con la misma solución buffer y obtener así datos que se ubiquen dentro del rango de linealidad.

Los análisis se realizan por duplicado y su resultado se expresa en ppm (partes por millón) (mg/kg ó µg/g).

#### 4.2.3. Molienda y detección de DON en diferentes fracciones.

##### 4.2.3.1. Descripción del molino.

El molino Chopin CD1 es un molino de laboratorio de dos etapas (trituration y compresión) utilizado para obtener harinas de laboratorio para hacer análisis como ser alveograma, farinograma, gluten, falling number etc.

##### 4.2.3.2. Procedimiento de molienda.

Limpieza: Limpiar cuidadosamente el grano manualmente o con ayuda de tamices o limpiador automático. Eliminar granos extraños o partículas que puedan dañar al molino.

Acondicionamiento: La humedad y su repartición en el grano, tiene suma importancia sobre los resultados de la molienda. Para el caso de trigo pan, la humedad debe ser llevada a aproximadamente 16%, para lo cual se calcula la cantidad de agua a agregar a una determinada cantidad de trigo, se lo agita para homogeneizar y luego se lo deja reposar 24 horas antes de molerlo.

Molienda: Verter el grano en la tolva derecha (trituration). El grano pasa a través de rodillos ranurados. Se obtienen tres productos:

Residuos de molienda (salvado fino y grueso que no pasan a través de ningún tamiz), las sémolas (pasan tamiz de 800 micrómetros) y la harina de trituration (pasa tamiz de 150 micrómetros).

Compresión: Verter las sémolas en la tolva de compresión.

Las sémolas pasan a través de rodillos lisos.

Se obtienen dos productos: El residuo de compresión (que no pasa por tamiz) y la harina de compresión, que pasa por tamiz de 180 micrómetros.

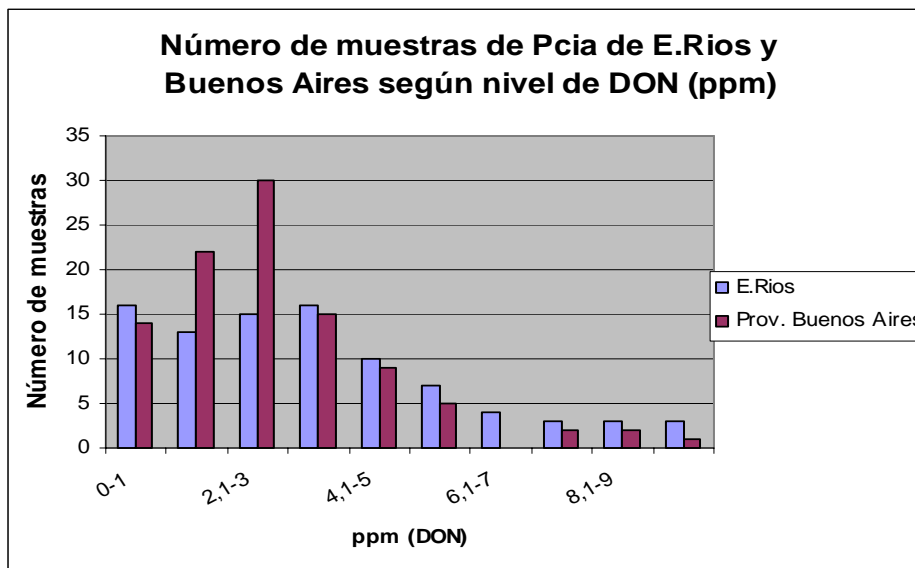
El residuo de compresión, se pasa una vez mas a través de los rodillos de compresión.

Finalmente se obtienen 3 fracciones como producto de la molienda:

- Harina: mezcla de la harina de compresión harina de trituración.
- Sémola: residuo de la compresión, tiene una pequeña fracción de cáscara.
- Afrecho: residuo de la etapa de trituración

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 5.1. Distribución de Deoxinivalenol.



**Figura 1.** *Número de muestras según nivel de DON (ppm).*

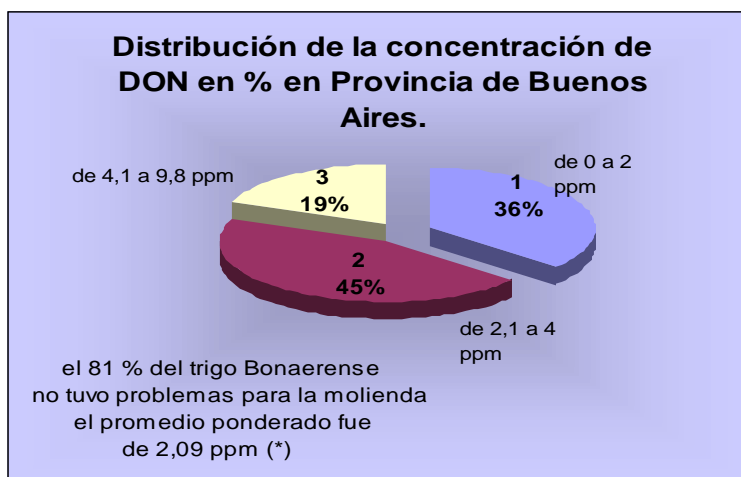
Nivel de DON (ppm)	Prov. Entre Ríos.	Prov. Buenos Aires.
0-1	16	14
1.1-2	13	22
2.1-3	15	30
3.1-4	16	15
4.1-5	10	9
5.1-6	7	5
6.1-7	4	0
7.1-8	3	2
8.1-9	3	2
9.1-10	3	1
<b>Total de muestras analizadas</b>	<b>90</b>	<b>100</b>

**Tabla 1.** Número de muestras de trigo de Provincia de Entre Ríos y Buenos Aires según nivel de DON (ppm).

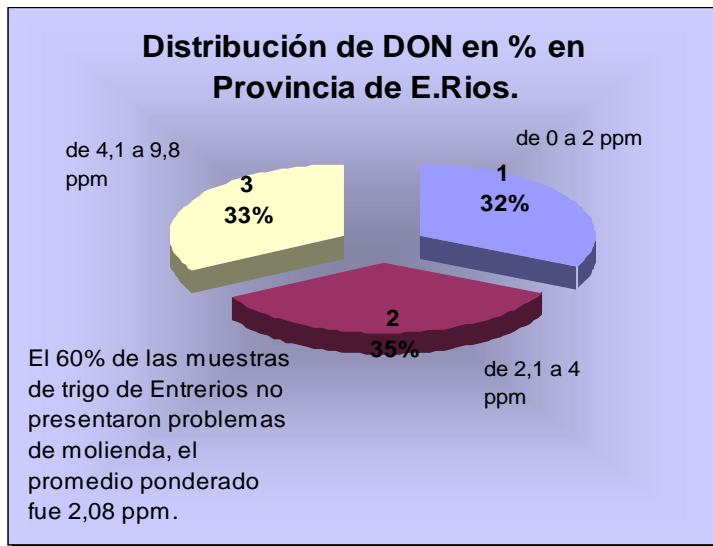
Cómo podemos observar en el caso de la Provincia de Entre Ríos, en la **figura 1** así como en la **tabla 1**, el 66,6% de las muestras presentaron resultados entre 0 y 4 ppm de DON , mientras que las mayores concentraciones tuvieron una distribución bastante uniforme.

En el caso de Provincia de Buenos Aires si bien también se observa una notoria concentración del número de muestras en el rango 0-5 ppm (90%) es notorio que la mayor cantidad de muestras arrojaron resultados entre 1.1 y 3.0 ppm de DON concentrando en ese rango el 52% de las muestras.

Si consideramos que en la molienda es posible reducir el nivel de DON (ppm) a la mitad como afirma la bibliografía, basándonos en ello podríamos afirmar que en el caso de la Provincia de Buenos Aires según los resultados analíticos de esta zona el 81% de las muestras no presentaron un problema para la molienda tomando como nivel crítico a 1.0 ppm de DON/kg en harina, máximo establecido en muchas reglamentaciones internacionales para harina de consumo humano. El promedio ponderado fue de 2.09 ppm (81% en el rango de 0.2-4.0ppm), como se representa en la **figura 2**.

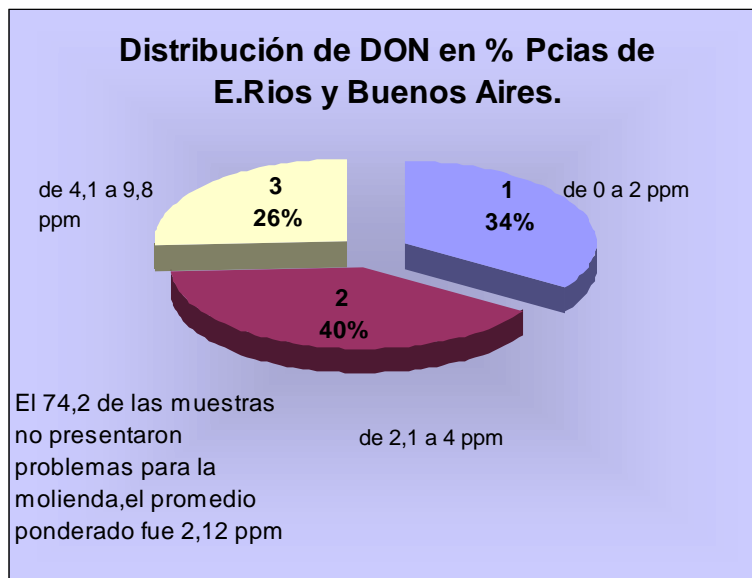


**Figura 2.** Distribución de resultados de DON (ppm) de muestras de Provincia de Buenos Aires.



**Figura 3.** *Distribución de resultados de DON (ppm) de muestras de Provincia de Entre Ríos.*

Mientras el 81% de las muestras de la Provincia de Buenos Aires analizadas no presentaron problemas en la molienda este porcentaje disminuye al 60% en el caso de Provincia de Entre Ríos con un promedio ponderado de 2.08 ppm en el rango comprendido entre 0 y 4.0 ppm (**figura 3**).



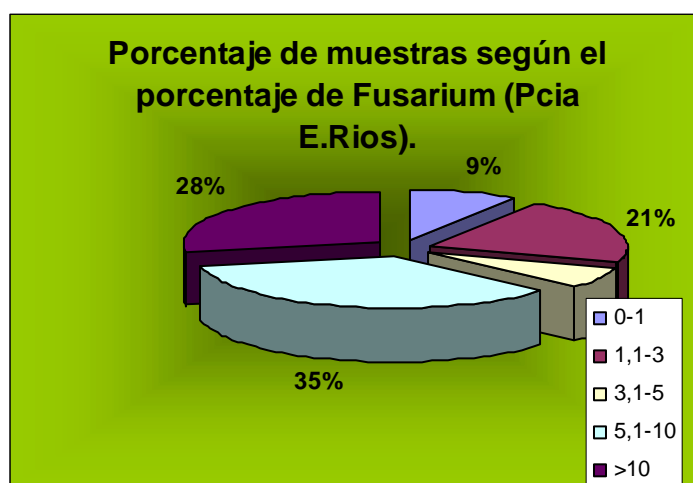
**Figura 4.** *Distribución de resultados de DON (ppm) de muestras de Provincia de Entre Ríos y Buenos Aires.*

En caso de tomar los resultados analíticos de ambas provincias en forma conjunta vemos que el porcentaje de muestras que no presentaría problemas en la molienda es de 74.2% con un promedio ponderado de 2.12 ppm (**figura 4**).

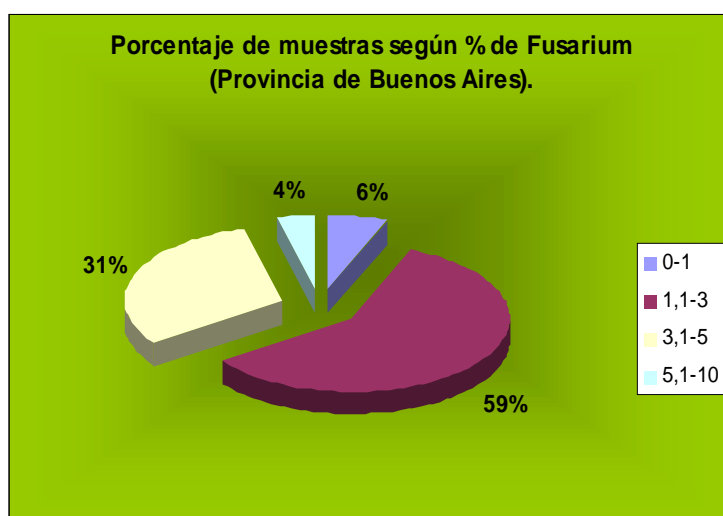
*Es importante dejar claro que cuando hablamos de promedios ponderados - y que los mismos permiten teorizar sobre la posibilidad de utilizar un determinado porcentaje de esa materia prima sin riesgo para la salud humana o animal - estamos conscientes que llevarlo a la práctica es difícil y depende de la posibilidad de encontrar y mezclar lotes, de las distancias (fletes y movimientos) y lo mas importante de la disposición de los actores ha hacerlo.*

## 5.2. La distribución del daño por Fusarium.

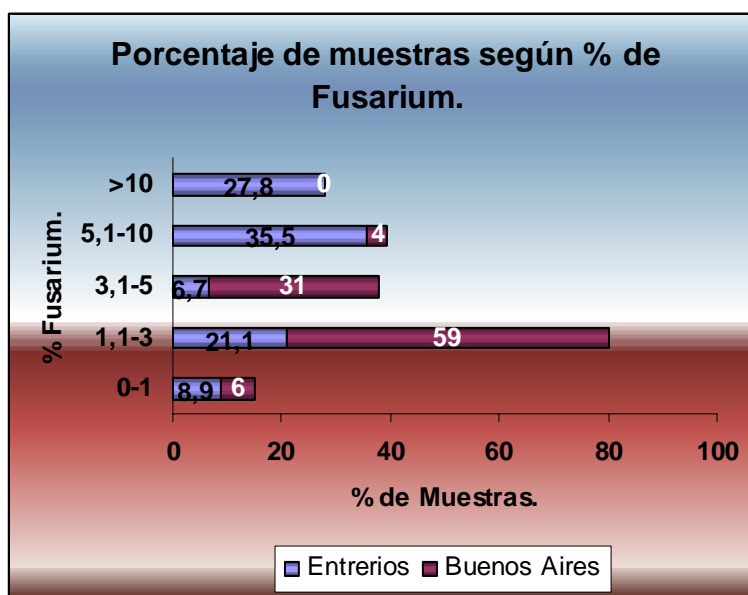
Si observamos la problemática desde el punto de vista de la comercialización según norma oficial y la funcionalidad tecnológica del grano para la molienda y la panificación los resultados se observan en los gráficos siguientes:



**Figura 5.** *Porcentaje de muestras de Provincia de Entre Ríos según porcentaje de granos con micelio (abarca el dañado comercial) (%Fusarium).*



**Figura 6.** *Porcentaje de muestras de Provincia de Buenos Aires según porcentaje de granos con micelio (abarca el dañado Comercial) (%Fusarium).*



**Figura 7.** Porcentaje de muestras de Provincia de Buenos Aires y Entre Ríos según porcentaje de granos con micelio (abarca el dañado Comercial) (%Fusarium).

% Fusarium	Prov. Entre Ríos		Prov. Buenos Aires	
	n° muestras	% muestras	n° muestras	% muestras
<b>0-1</b>	8	9	6	6
<b>1.1-3</b>	19	21	59	59
<b>3.1-5</b>	6	7	31	31
<b>5.1-10</b>	32	35	4	4
<b>&gt;10</b>	25	28	0	0
<b>Total</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

**Tabla 2.** Número y porcentaje de muestras agrupadas según rangos de % de granos con micelio (%Fusarium) Provincias de Entre Ríos y Buenos Aires.

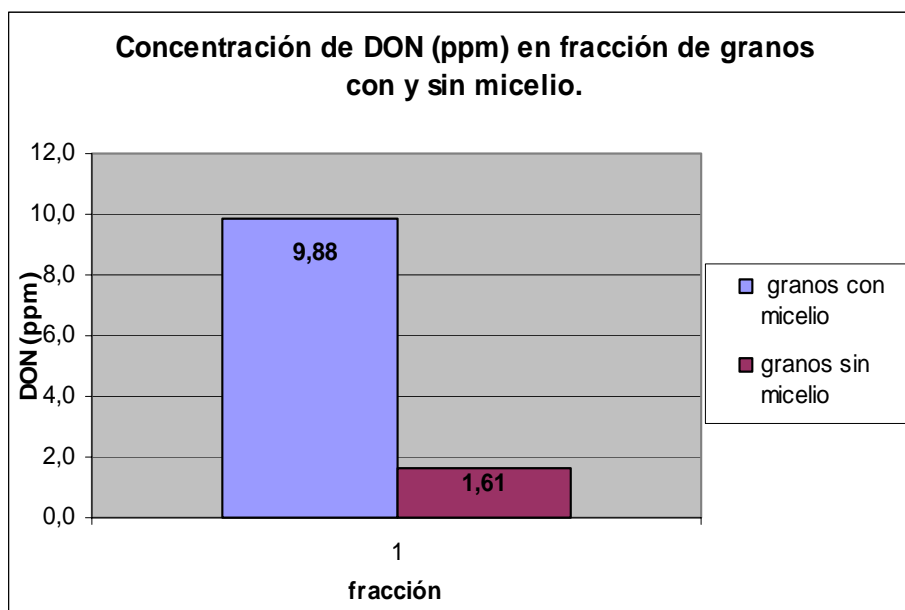
En la **tabla 2** se presenta un resumen de los resultados obtenidos de muestras que presentaron cierto porcentaje de granos con micelio en las Provincias de Entre Ríos y Buenos Aires.

Es importante resaltar que mientras el mayor número de estas se concentró en los rangos de 1.1 a 5 % representando el 90% de las muestras de la Provincia de Buenos Aires, en el caso de Entre Ríos la mayor concentración se observa en los rangos mayores a 5.1% de Fusarium, significando un 57% de las muestras analizadas. Esto permite inferir que la Provincia de Entre Ríos presenta mayor nivel de granos dañados por Fusarium que la Provincia de Buenos Aires, comportamiento similar al observado al analizar la situación de las muestras de ambas provincias según el nivel de DON (ppm) que presentaron en los análisis.

Las muestras bonaerenses mostraron valores extremos de **0.36 y 7.38% de Fusarium** y 0.2 y 9.3 ppm para la variable DON, mientras que para Entre Ríos los valores fluctuaron entre **0.54 y 24.7% de Fusarium** y 0-9.8 ppm de DON.

### 5.3. Distribución de la toxina DON en fracción de granos con y sin micelio.

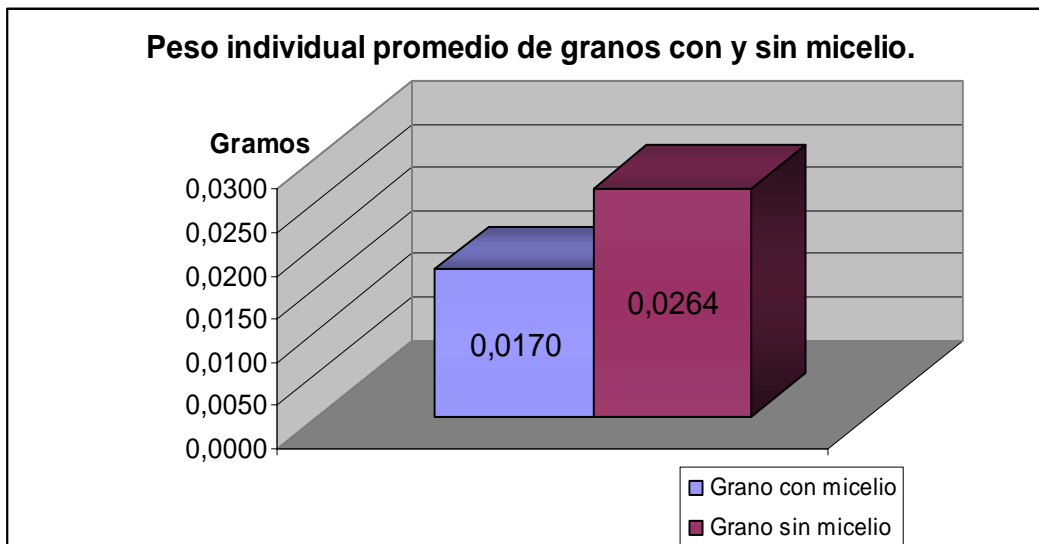
Un total de 92 muestras de la Provincia de Entre Ríos fueron analizadas físicamente segregando la fracción de granos con presencia de micelio (bajo lupa), de aquellos que no lo presentaban (*granos sanos*). Luego se procedió a realizar los análisis necesarios para determinar la concentración de DON (ppm) presente en cada fracción mencionada.



**Figura 8.** Concentración de DON (ppm) promedio en fracción de granos con micelio (*granos dañados*) y sin micelio (*granos comercialmente sanos*).

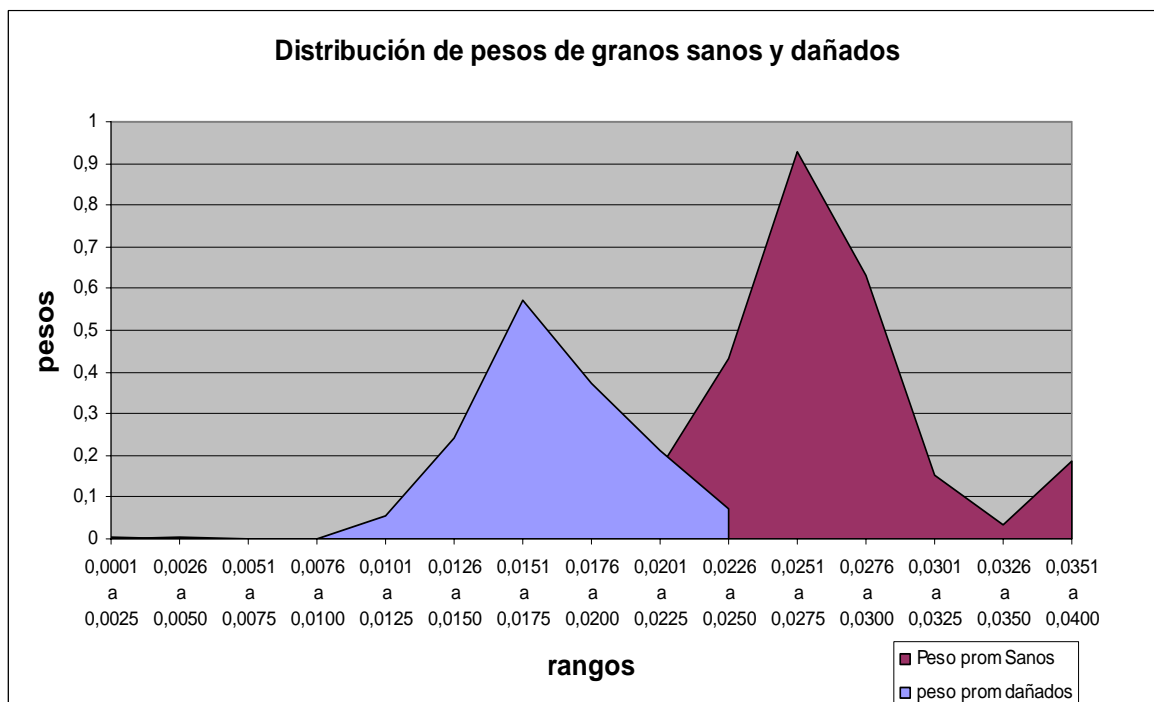
Estos análisis, arrojaron resultados que variaron entre 1.6 a 140 ppm de DON en la fracción con micelio, y 0.1 a 7 ppm en la fracción sin micelio visible. El promedio en granos con *Fusarium* fue de 9.88 ppm de DON y 1.61 ppm para la fracción limpia. Es decir que entre granos con micelio y sin él se presenta una relación de la concentración de la toxina 6.14 veces superior, a pesar de la gran dispersión que presentaron los resultados analíticos en la primera.

Se pesaron 19.900 granos, y se observó una notoria diferencia de peso entre la fracción de granos con micelio y aquella que no lo presenta. La fracción sin micelio es mas pesada y los granos con micelio visible muestran un menor tamaño y peso individual, debido a que en muchos casos el desarrollo del hongo afectó el normal llenado del grano. Se observa en muchos casos presencia del micelio en el interior del grano, sustituyendo parte de su estructura por la masa del hongo provocando también disminución de peso.



**Figura 9.** *Peso individual promedio de granos con y sin micelio visible con lupa 8x.*

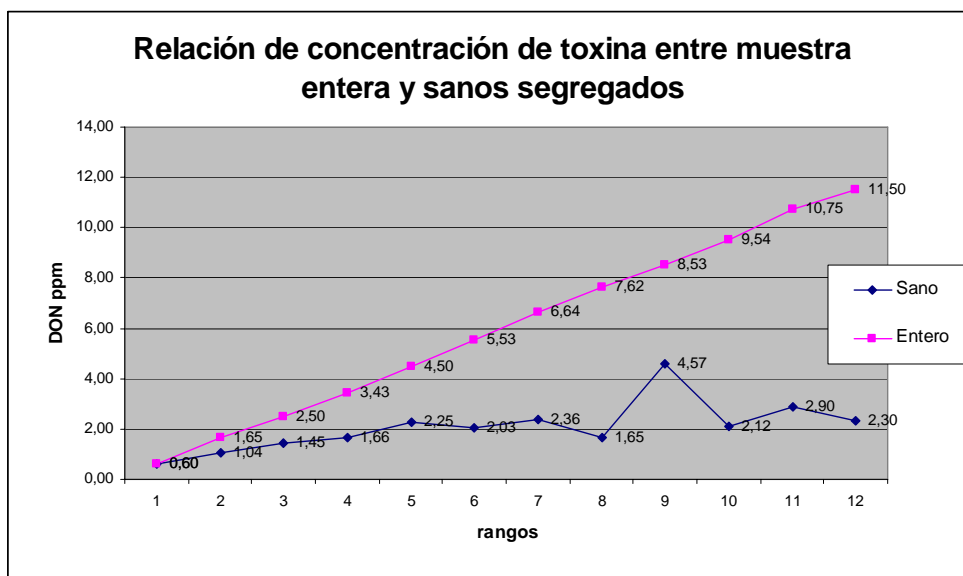
La **figura 9** se representa el peso individual de granos visiblemente afectados por el hongo, con micelio apreciable mediante el uso de una lupa de 8x y el de otros que no lo presentan. Se observa una diferencia de 9.4 mg es decir 0.0094 gr. siendo el peso promedio de granos con micelio 0.0170 gramos y 0.0264 el de los granos sin micelio visible.



**Figura 10.** *Distribución de las poblaciones de dañados (nos con micelio visible con lupa 8x) y sanos.*

En la **figura 10** podemos observar la distribución de esa población de granos de muestras con micelio y sin micelio. Aquí se dividió la población por rangos y se realizaron pesos promedios de esas categorías y sus frecuencias. Se advierte de todas maneras una clara dispersión.

Esta situación nos estaría indicando la posibilidad de una segregación con equipos convencionales o mesas vibradoras aunque si bien con una merma en peso muy importante. No obstante, la posibilidad de disminuir la concentración de la toxina puede llegar a ser interesante logrando salvar lotes en esas condiciones, que no pueden entrar como tales en la cadena de comercialización o ponerlos en situación de mejorarlos fácilmente con una mezcla permitiendo incluso su molienda.



**Figura 11.** Relación entre la concentración de DON en ppm de la muestra tal cual y la fracción de sanos.

En la **figura 11** podemos ver los resultados de 106 muestras donde la concentración de DON se mantiene prácticamente constante en granos sanos frente al aumento creciente de la toxina en la muestra entera. Esta situación estaría reforzando la idea de resultados positivos en la segregación de los trigos.

A los efectos de ajustar los resultados graficados se intentó evaluarlos en forma estadística.

#### 5.4. Distribución de toxina en fracción de granos sin micelio “limpio” y muestra de grano “tal cual”.

**Hipótesis de nulidad:** el contenido de toxina DON en la fracción de grano “limpio” varía en igual forma que en la muestra “tal cual” por lo que ambas poblaciones no se comportan significativamente diferente.

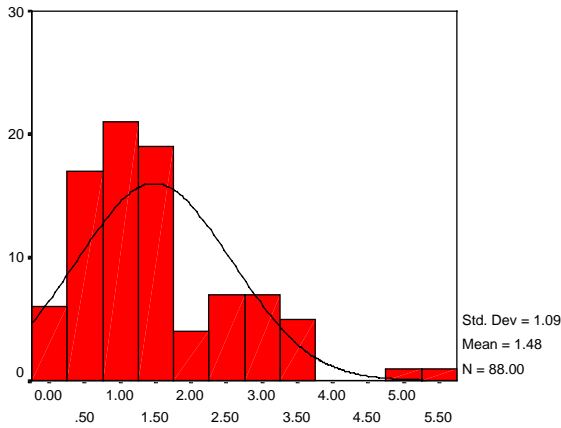
**Hipótesis de investigación:** la toxina en la fracción de grano “limpio” tiene un comportamiento diferente (no correlaciona) a la muestra “tal cual”, lo que justificaría la decisión de segregar el grano con micelio.

Luego de revisar la muestra inicial de 100 casos y depurarla, se trabajó con 88 casos válidos.

		Statistics	
		Grano limpio	Grano tal cual
N	Valid	88	88
	Missing	0	0

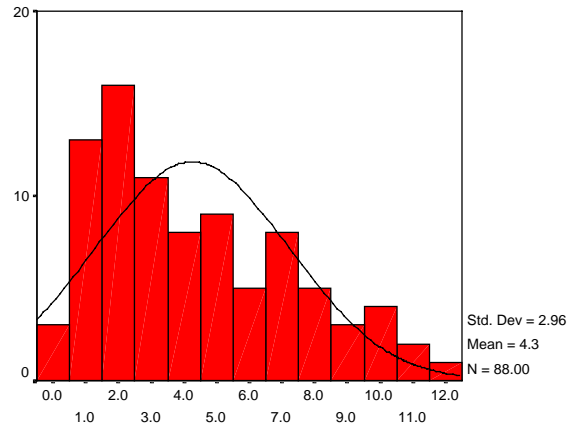
Los gráficos de barras (**figuras 11 y 12**) muestran la dispersión de los casos para ambas poblaciones. Comparando ambas muestras, los niveles de DON (ppm) de la

fracción “limpia” asume valores más bajos, con una media de 1,48 (contra una media de 4,3 en la muestra “tal cual”); y así mismo una dispersión menor que en caso del grano tal cual. La desviación estándar de la fracción “limpio” es 1.09 mientras que en la muestra “tal cual” es 2.96.



Grano limpio

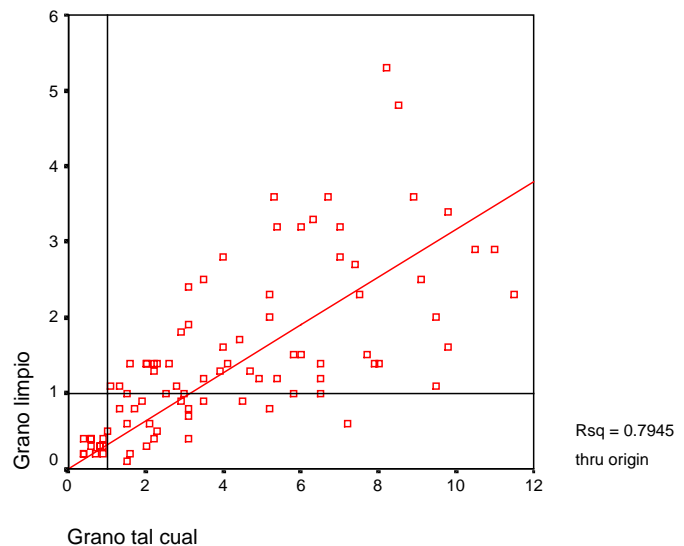
figura 12



Grano tal cual

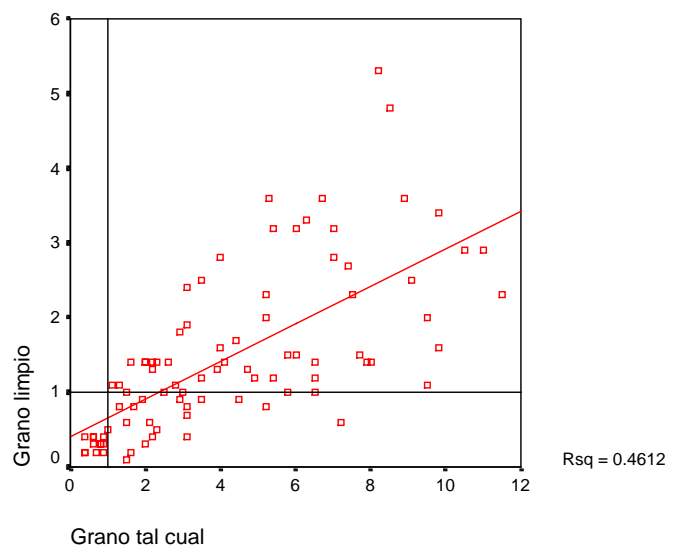
figura 13

El gráfico de puntos (Scatter) (figura 14), muestra la dispersión de las muestras, con un valor de  $R^2$  (Coeficiente de asociación de Pearson) de 0.7945. Este guarismo sugiere correlación en la varianza ajustando al punto medio en el origen, el gráfico presenta una asociación mayor cuanto más nos acercamos al cero; las medias tienden a separarse al alejarse de cero.



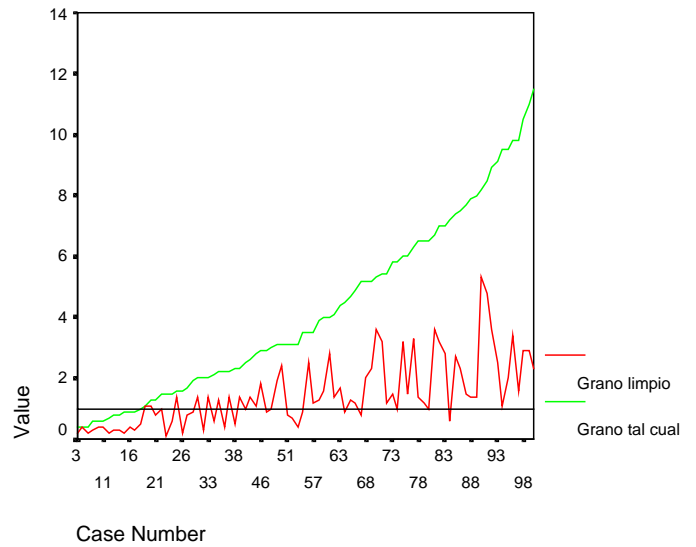
La línea del centro del gráfico representa la constante teórica, mientras las otras dos líneas representan las medias de las poblaciones. Éstas tienden a separarse al alejarse del origen. En el cuadrante inferior derecho del gráfico aparece el grano no apto para consumo humano en condición de “tal cual” pero que sí lo sería de limpiarse.

La figura 15, presenta el coeficiente de correlación  $R^2$ , para las mismas poblaciones, pero dejando la ecuación constante, sin ajustar. En este caso dicho coeficiente se reduce a un valor de 0.4612. Esto sugiere que la asociación es más fuerte en algunos segmentos de la población, pero que



esa correlación no es constante y que, al alejarse del origen la muestra *tal cual* presenta una mayor dispersión que la muestra *limpia*.

En la **figura 16**, se presentan ambas poblaciones en un gráfico de líneas para mostrar el comportamiento *individual* de cada una. Es otra forma de ver la evolución de cada muestra. A mayor valor de la toxina en la muestra de grano “tal cual”, el grano “limpio” tiende a permanecer constante o al menos su nivel de varianza correlaciona en menor medida con el del grano “tal cual”. Esto sugiere entre las mismas comportamientos independientes.



**figura 16**

El cuadro final (**tabla 3**) permite observar la frecuencia y porcentaje de grano no apto para consumo (más de 1 DON ppm) en su original (*tal cual*) que pasa a ser apto para consumo luego de limpio. En una muestra en que solo el 14.8% de los granos está apto para consumo en la muestra “tal cual”, este guarismo sube a 40,9% una vez *limpio*.

		Grano tal cual recodificado en categorías		Total
		Apto consumo	No apto consumo	
Grano limpio recodificado en categorías	Apto consumo	Count 13	23	36
		% of Total 14.8%	26.1%	40.9%
	No apto consumo	Count 52	52	52
		% of Total 59.1%	59.1%	59.1%
Total	Count	13	75	88
	% of Total	14.8%	85.2%	100.0%

**Tabla 3**

El **Test de Significación de Chi Cuadrado** permite observar que la correlación entre la poblaciones es significativa al 95% de los casos (**tabla 4**).

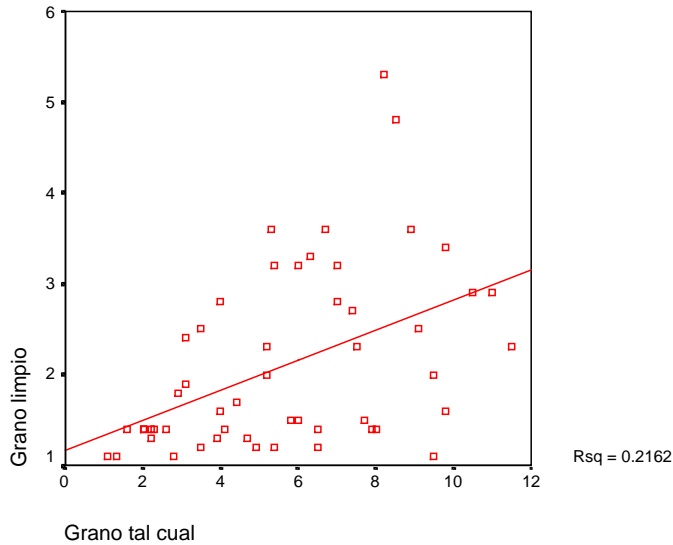
**Chi-Square Tests**

**Tabla 4.**

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	22.033 <sup>b</sup>	1	.000		
Continuity Correction <sup>a</sup>	19.258	1	.000		
Likelihood Ratio	26.607	1	.000		
Fisher's Exact Test				.000	.000
Linear-by-Linear Association	21.782	1	.000		
N of Valid Cases	88				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.32.

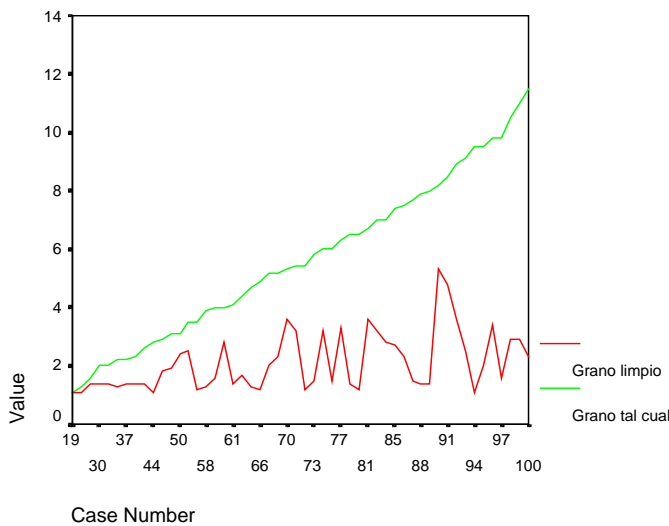


Este gráfico de puntos (Scatter) con R pearson muestra la correlación de todos aquellos casos que no son aptos para consumo ni “*tal cual*” ni “*limpio*”, el 59.1% de la muestra original (**figura 17**).

La correlación se debilita fuertemente hasta hacerse verdaderamente insignificante.

**Figura 17.**

El gráfico de líneas, muestra la distribución de los puntos en esta sub muestra



Distribución de DON en “*grano limpio*” y muestra “*tal cual*”

**Figura 18:** Distribución de los puntos en grano “*limpio*” y muestra “*tal cual*”

J. A. Bogliaccini

5.5. Relación entre el % de granos dañados por *Fusarium* y la concentración de DON.

Analizados los datos de la Provincia de Buenos Aires sobre 100 muestras representativas de 4.238.000 tt de Trigo con un promedio ponderado de 2,72 de % de daños por *Fusarium* y 2,70 ppm de DON respectivamente, no se encontró correlación significativa, no pudiéndose corroborar la tesis canadiense.

## DON vs. Micelio

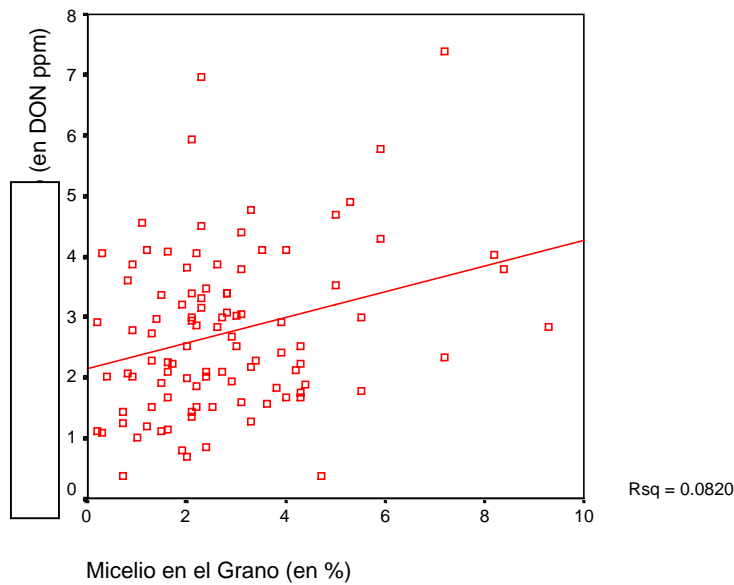


Figura 19

No hay correlación significativa entre las variables. Es decir, los % de Micelio y las ppm. de DON en la misma muestra no varían en forma asociada.

## Residuo

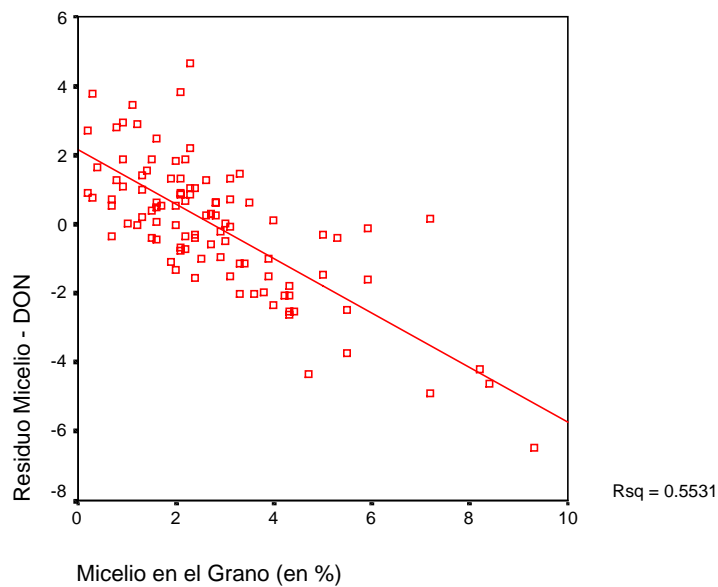


Figura 20

Al analizar el residuo de la resta de (Micenio – DON) y % de Micenio tienden a obtener una covariación mayor, aunque no en un grado significativo.

## Crosstab y Chi

**DON recodificada en categorías \* Micelio Recodificada en categorías Crosstabulation**

			Micelio Recodificada en categorías		Total
			0,6 a 4 %	Más de 4 %	
DON recodificada en categorías	Hasta 2 ppm	Count % within Micelio Recodificada en categorías	26 34.2%	5 26.3%	31 32.6%
	Entre 2.01 y 4 ppm	Count % within Micelio Recodificada en categorías	39 51.3%	8 42.1%	47 49.5%
	Más de 4 ppm	Count % within Micelio Recodificada en categorías	11 14.5%	6 31.6%	17 17.9%
Total		Count % within Micelio Recodificada en categorías	76 100.0%	19 100.0%	95 100.0%

### Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	3.036 <sup>a</sup>	2	.219
Likelihood Ratio	2.725	2	.256
Linear-by-Linear Association	1.944	1	.163
N of Valid Cases	95		

a. 1 cells (16.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 3.40.

### El test de Chi cuadrado

señala que la distribución de la varianza de ambas poblaciones no varía en forma conjunta (Pearson Chi square)

El Test ANOVA para 3 grupos, a partir de la categorización de las variables en tres rangos demuestra que existe más varianza al interior de cada grupo que entre los grupos, por lo que no es esperable que exista asociación en las variables.

J. A. Bogliaccini

- **La molienda**

Se tomaron 40 muestras conjunto de los grupos analizados anteriormente y se molieron en el molino Chopin.

De cada muestra se tomaron las fracciones correspondientes se pesaron y se analizó su contenido de DON.

Los resultados en promedio del total de las muestras fueron los siguientes

Producto	Porcentaje en peso	Distribución DON
<b>Harina</b>	62,22 %	39,69
<b>Afrechillo</b>	24,60 %	40,70
<b>Semolín</b>	13,18 %	19,60
	100 %	100 %

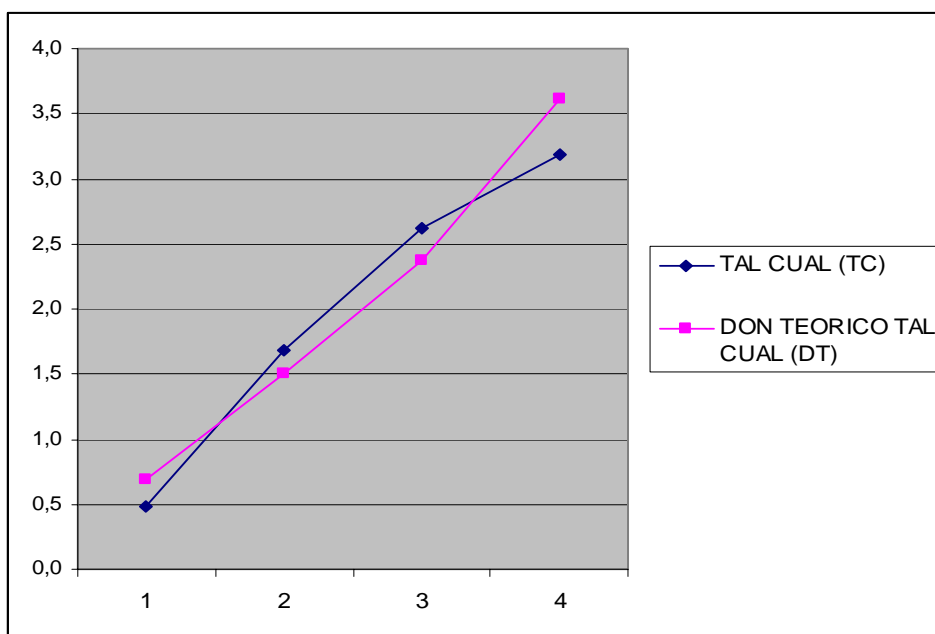
**Tabla 3:** *Diferentes productos de la molienda y su peso. Se adjuntó el resultado de la concentración de DON en los diferentes componentes de la molienda.*

A primer vista observamos que las fracciones periféricas de grano concentran el mayor porcentaje de la toxina (60,3%), quedando en la fracción harina el 39,69%. Se realizó el estudio por de cada muestra y sus fracciones correspondientes. El total de las muestras se agruparon en cuatro grupos de acuerdo a la concentración de DON en “DON teórico tal cual” (Sumatoria de los promedios ponderados de las fracciones correspondientes a cada muestra en su grupo) en orden creciente.

ANÁLISIS POR GRUPOS						
NÚMERO	DON tal cual	Fusarium	Afrecho grueso	Sémola + Afrecho fino	Harina	DON teórico Tal cual
A	0,5	2,7	1,3	0,8	0,4	0,7
B	1,7	6,3	2,5	1,9	1,0	1,5
C	2,6	13,3	3,7	3,9	1,5	2,4
D	3,2	12,8	6,5	6,2	1,9	3,6

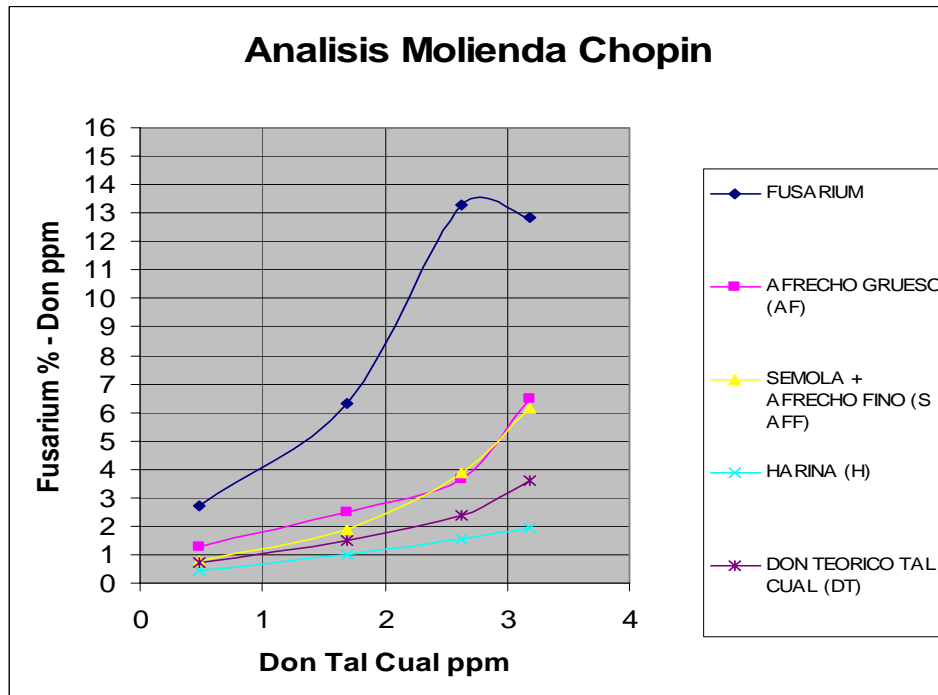
**Tabla 4:** *Resultados de las diferentes concentraciones en ppm. En las fracciones de la molienda.*

\*La columna de la derecha es el promedios ponderados de los diferentes productos de la molienda.



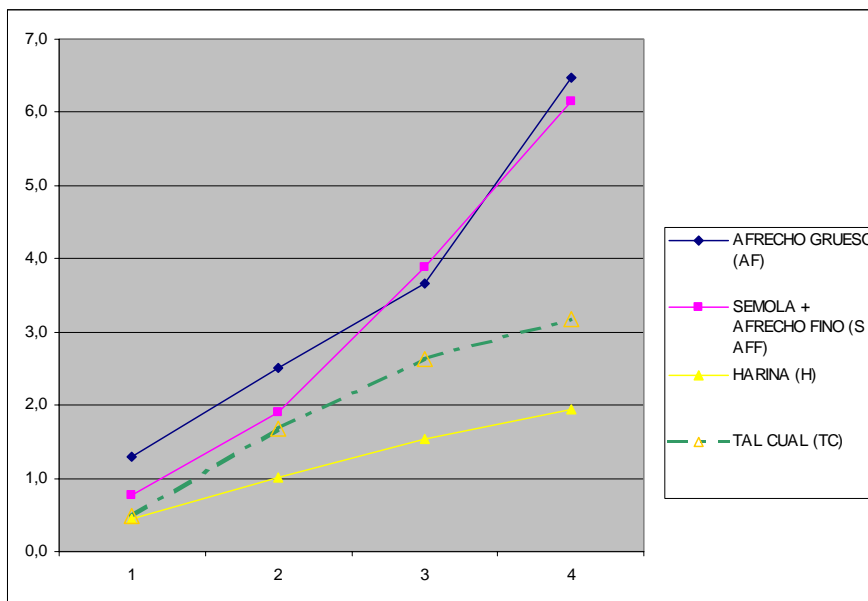
**Figura 21.** *Gráfico comparativo del cálculo de concentración de DON (ppm) en los diferentes componentes (teórico tal cual) y del grano entero (tal cual).*

En la **figura 21**, se compararon los resultados por grupo de la concentración de DON en las muestras sin moler y la sumatoria ponderada del DON en las fracciones “DON teórico tal cual”. Se puede inferir que la recuperación en las diferentes fracciones es semejante a la concentración de origen



**Figura 22.** Gráfico de la concentración de DON (ppm) en los diferentes componentes de la molienda relacionados al porcentaje de daño por Fusarium.

Las **figuras 22 y 23** muestran que con el aumento de la concentración en la muestra de trigo la concentración de la toxina en la fracción harina decrece en forma relativa.



**Figura 23.** Gráfico de la concentración de DON (ppm) en los diferentes componentes de la molienda relacionados al porcentaje de daño por Fusarium.

	<b>Harina/Afrechillo grueso</b>	<b>Harina/ Sémola + Afrech-fino</b>
<b>Promedio</b>	0,503	0,512
<b>Desviación</b>	0,404	0,258

**Tabla 7:** Resultados de la relación de la harina y las fracciones gruesas de la molienda. Promedios ponderados de los diferentes productos de la molienda.

## **6. CONCLUSIONES**

- Las nuevas posibilidades tecnológicas van dejando al descubierto situaciones que si bien nos han acompañado en mayor o menor medida, la aparición de la toxina Deoxinivalenol en trigo en concentraciones suficientemente altas para ocasionar daños a la salud humana y/o animal es un problema que se ha instalado para convivir con nosotros – por lo menos por ahora - . En ese sentido debemos realizar los mayores esfuerzos para que la cadena triguera logre disminuir su incidencia. Desde la elección de la chacra a la industrialización debemos ser conscientes de la problemática a que estamos enfrentados. Los problemas de salud tanto agudos como crónicos que pueden aparecer por no tomar los cuidados y controles necesarios no solo deterioran la calidad de vida o pueden producir hasta la muerte, sino que las pérdidas económicas pueden llegar a ser cuantiosas.
- En la búsqueda de una herramienta simple, respecto a la relación de % de daños y concentración de DON, en Uruguay se han realizado estudios semejantes no encontrándose tampoco correlaciones superiores a la encontrada para la Provincia de Buenos Aires. Posiblemente estas bajas correlaciones puedan estar relacionadas con el alto ataque del hongo de las zafras pasadas y las elevadas concentraciones de la toxina, en un medio ambiente diferente al de la Provincia de Ontario (Canadá). Sería importante evaluar una zafra con bajos porcentajes de daño a los efectos de verificar si esta correlación es mas alta. ***No obstante la segregación al inicio de acopio por rangos de daños es una práctica que no debe descartarse.*** La verificación de las concentraciones de DON en los diferentes lotes permite un manejo adecuado de los diferentes rangos y estos separados a su vez por calidad comercial. Las diferentes zonas geográficas de siembra de Trigo en Argentina puede ser una ventaja comparativa, dado la existencias de volúmenes sin una problemática relevante.
- Las diferencias observadas en el peso de los grupos o fracciones de granos con micelio y sin micelio permiten afirmar que en los centros de acopio se puede realizar un primer trabajo de disminución de la concentración de la toxina en algunos lotes mediante el uso de zaranda y viento. Como se puede apreciar en el gráfico de la figura 11 llama la atención la concentración casi constante frente al aumento de la toxina en la muestra general, esto nos permite inferir que la

segregación adecuada en lotes de alto contenido de DON lograrían bajar la concentración a niveles adecuados para la molienda.

***Tanto a los efectos de la comercialización, como de la industrialización el manejo de las concentraciones mediante las mezclas y la zaranda a pesar de las posibles mermas en peso, parece una herramienta valedera.***

- Por los resultados observados en la fracción de granos “sanos” en cuanto a las concentraciones de DON (0,1 a 7 ppm), el ingreso del trigo a molienda debe analizarse sin excepción. ***Los resultados de la molienda agregan optimismo a la problemática de la inocuidad, se encontró que la disminución de la toxina en la fracción harina llegaba a un 40% de la concentración en grano entero.*** Esto permitiría trabajar con valores de hasta 2,5%, logrando obtener valores cercanos a 1 ppm por kg. de harina.

Otro elemento a tener en cuenta es que las fracciones gruesas de la molienda son mas complejas de manejar y encierran un problema para la comercialización y el consumo. Las harinas integrales y las sémolas, deberían ser objeto de un mayor control dado la mayor concentración de la toxina que es esperable encontrar. En el caso de los afrechillos se debe esperar las mayores concentraciones de DON y su consumo deberá dosificarse (según la especie y categoría del animal) si llegara a la ración. Dado que siempre estamos hablando de valores promedio, la verificación de la toxina mediante análisis posterior es inevitable.

## **7. BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA.**

- (1).Díaz, Martha; 1996. “Manejo de enfermedades en cereales de invierno y pasturas”. Serie técnica 74. INIA La estanzuela. 79-86pp.
- (2). Díaz, Martha; Pereyra Silvia; Silvina Stewart, 2002. “Fusariosis de la espiga en trigo y cebada”; INIA La estanzuela. hoja de divulgación n°79.
- (3). Luqui, Bernardo; Gómez Mario; 1995. “Evaluación de la incidencia del porcentaje de granos dañados por Fusarium en el nivel de toxinas DON y T2 en trigo pan durante la campaña 1993/1994”. Instituto Argentino de Sanidad y Calidad Vegetal. Dirección Nacional de Calidad Vegetal. Dirección de productos Granarios.

### Trabajo realizado por

Bioq. Fernando Veyretou - Laboratorio Químico de la Cámara Arbitral de las Bolsas de Cereales de Buenos Aires

Ing. Agr. Florencia Aizcorbe – Técnico contratada (Uruguay)

Ing. Agr. Ariel Bogliaccini – Director Adjunto del Plan Nacional de Silos (Uruguay) - Responsable del proyecto y dirección del trabajo.