



**MAÍZIFICANDO
CONCIENCIA**
XII CONGRESO NACIONAL DE MAÍZ

Eje

Protección del cultivo

8, 9 y 10 de Noviembre
Pergamino, BA
UNNOBA



Secretaría de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Ministerio de Economía
Argentina

20
22





APLICACIÓN FRACCIONADA Y EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACION DE 2000 PPM Y 3500 PPM DE FOSFURO DE ALUMINIO EN BOLSAS PLÁSTICAS HERMÉTICAS CON MAÍZ

Roskopf R. ¹; Farroni A. ²; Copia P. ²; Alegre M. ²; Cardoso L³.

¹INTA Paraná, ruta 11 km 10,5 Entre Ríos, Argentina. ²INTA Pergamino, Ruta 32, Km 4.5, (2700), Buenos Aires, Argentina. ³INTA Balcarce. Ruta 226 Km 73,5 (7620) Balcarce, Buenos Aires

roskopf.ruben@inta.gob.ar farroni.abel@inta.gob.ar copia.pablo@inta.gob.ar alegre.mariana@inta.gob.ar cardoso.marcelo@inta.gob.ar

FRACTIONED APPLICATION AND EVALUATION OF THE CONCENTRATION OF 2000 PPM AND 3500 PPM ALUMINUM PHOSPHIDE IN HERMETIC PLASTIC BAGS WITH CORN

Abstract

Phosphorus trihydride (phosphine) from the gasification of aluminum phosphide or magnesium phosphide has antifungal properties of interest in stored grains. In Argentina, about 45 Mt of grain are stored in silo-bags, which is a system that, due to its potential tightness, is ideal for achieving high concentrations of phosphine. The objectives of this study were: a) To evaluate a dosage technique, consisting of fractions of phosphine tablets (0.2 g), in hermetic bags with 15 kg of corn b) To establish the correlation between the target concentration (2000 and 3500 ppm) and the maximum achieved concentration of PH₃. The results showed that the target concentration of phosphine that would allow adequate control of fungal growth was not achieved. For a better evaluation of the model system, factors such as the homogeneity of the dosage and the size of the systems must be controlled. The importance of measuring the final concentration of phosphine as a method of controlling application efficiency is highlighted.

Palabras claves

Fosfina, silo bolsa, antifúngico, granos

Keywords

Phosphine, silo bag, antifungal, grains.



Introducción

El desarrollo de hongos durante el almacenaje es una de las principales causas de deterioro del grano (Bhat et al., 2010), provocando enmohecimiento, olor y cambio de color en los granos, así como también reducciones en el peso (materia seca), en la viabilidad de las semillas y síntesis de micotoxinas (Paster y Bullerman, 1988; Magan y Lacey, 1988). El secado de los granos es la principal herramienta para evitar el desarrollo de los hongos (Larsen et al., 1980). Sin embargo, esto no siempre es posible debido a que su uso demanda un considerable gasto energético (Vidal y Jayaraman, 1980), o bien cuando se utilizan sistemas temporarios de almacenaje (como el silo bolsa), donde generalmente no se cuenta con la infraestructura necesaria para el secado de los granos.

Se estima que del total de la producción almacenada en silo bolsas (45 Mt; Rozadilla y Calzada, 2018), aproximadamente el 50% está acopiada en campos de productores. A su vez, anualmente, un tercio del total del maíz producido en Argentina (50 Mt; Melo, 2021) se almacena en este sistema, parte del cual se encuentra a una humedad que favorece el deterioro fúngico del grano (Castellari et al., 2010).

Dado que el silo bolsa es un sistema potencialmente hermético (Bartosik, 2012), es esperable que el proceso de automodificación de la atmósfera intergranaria, cuando la humedad del grano es elevada, permita controlar naturalmente insectos que infestan el granel y reducir el daño generado por microorganismos (Navarro et al., 2012). Sin embargo, la modificación atmosférica requerida debe ser muy importante, con niveles de O₂ cercanos a cero (Marcos Valle et al., 2021). El hecho de no lograr rápidamente dicha modificación atmosférica debido a una baja actividad biológica, o el de que la hermeticidad del silo bolsa pueda no lograrse o se reduzca con el tiempo de almacenamiento (Cardoso et al., 2012), aumentan las posibilidades de desarrollo de insectos, el amohosamiento del grano y el riesgo de producción de micotoxinas (Tubbs et al., 2016). En este sentido, existen diferentes reportes de que el almacenamiento de maíz húmedo (16-19%) en silo bolsa ocasiona pérdidas de diferentes parámetros de calidad luego de algunos meses de almacenamiento (Bartosik et al., 2008).

Dada esta problemática, durante la última década se han comenzado a evaluar diferentes alternativas de la aplicación de productos “preservantes” para mejorar el almacenamiento de grano húmedo en silo bolsa, como el uso de formulaciones líquidas de ácidos orgánicos (Fernandez Zambón, 2018), amonios cuaternarios modificados, o implementación de gases, como el dióxido de azufre (SO₂) y la fosfina (PH₃) (Alvarez et al., 2021).

Particularmente, la fosfina es un gas ampliamente difundido como insecticida, aunque también tiene probada acción fungicida (De Castro et al., 2001). Diferentes estudios indican que un rango de concentración de 3500 ppm o similares contribuyen al control de insectos, reducción de la carga fúngica y la producción de aflatoxinas en maíz, mientras que dosis mas bajas, cercanas a 100 ppm, pueden contribuir a retardar brevemente el desarrollo fúngico (Hocking y Banks, 1991). Sin embargo, estudios más comprehensivos indican que el efecto de la fosfina en el desarrollo fúngico y la eventual producción de micotoxinas depende de una combinación entre la dosis, el tiempo de exposición, entre otros factores (De Castro et al., 2001).

Para las evaluaciones y ensayos a baja escala, en condiciones controladas, se utilizan equipamientos que permiten generar una concentración constante del gas PH₃. Esta técnica necesita un patrón de



concentración con el cual se compara la concentración del gas que se utilizará para el ensayo, debe ser calibrado y utiliza equipamiento específico. Sin embargo, esto no representa las condiciones normales de utilización de este gas. La gran mayoría de los tratamientos de aplicación de PH₃ en Argentina (y muchos otros países en el mundo) se realizan a través de la aplicación de fosfuros metálicos (fosfuro de aluminio y de magnesio) que reaccionan con la humedad del aire para generar el gas fosfina. A su vez, estos fosfuros comercialmente se formulan en tabletas de 3 gr que liberan 1 gr de fosfina, o comprimidos de 0,6 gr que liberan 0,2 gr de fosfina. Luego de aplicados los formulados, existe una fase de liberación y/o gasificación (cuya velocidad depende enteramente de la humedad relativa y temperatura ambiente (Xianchang, 1994), un pico de concentración y luego la concentración decrece en el tiempo (Abadia y Bartosik, 2013). El gas resultante y su evolución en el tiempo dependerán de la dosis, de la adsorción del gas por el grano almacenado, y pérdidas que se pueden dar por puntos de fuga (áreas abiertas o mal selladas en la estructura) (Hocking y Banks, 1991) o la tasa de pasaje (permeancia) del gas a través del silo bolsa (Ridley et al., 2011).

Es relevante, entonces, generar información que integre las metodologías típicas de aplicación de la fosfina, con el sistema de almacenamiento en silo bolsa. Para esto es necesario trabajar primero en la puesta a punto de un sistema de micro dosificación de fosfuro a baja escala, que permita predecir, en condiciones controladas (hermeticidad, temperatura y humedad), la evolución de la concentración de la fosfina (a su vez relacionadas con la dosis y forma de aplicación, adsorción de la fosfina y pérdidas por permeabilidad del material).

Los objetivos del presente ensayo fueron: a) Evaluar operativamente la técnica de fraccionamiento y dosificación de comprimidos con 0,2 g de fosfina en bolsas herméticas con 15 kg de maíz b) Establecer la correlación entre la concentración objetivo (2000 y 3500 ppm) y la máxima concentración lograda de PH₃.

Materiales y métodos

En INTA Pergamino se confeccionaron 10 bolsas con 15 kg de maíz a 14% de humedad. Cada bolsa se confeccionó con piezas de material de silo bolsa sin usar (235 micrones de espesor; Ipesa-Argentina), la cual se cerró en los extremos con una doble costura utilizando el sistema de termo-sellado (La Pipiola-Argentina). Luego de que cada bolsa se llenó con grano se termoselló el sitio de ingreso del grano. Finalmente se realizó un test de hermeticidad para cotejar que la bolsa estuviera cerrada herméticamente, según el procedimiento descrito por Fernandez (2018).

Para calcular el espacio no ocupado por el grano de las bolsas se utilizaron bolsas de similares medidas que las usadas en el ensayo, las cuales se llenaron primero con la cantidad de grano estipulada (15 kg) y luego se llenó de agua destilada hasta la marca de cierre de las bolsas. Posteriormente se volcó el agua en otro recipiente y se midió su volumen, resultando en 8,5 litros (0,0085 m³) de volumen no grano (20,4 litros de volumen grano + no grano).

Considerando la adsorción del maíz (14% H₂O) a la PH₃ del 24,6% (Reddy et al., 2007), se realizaron dos tratamientos: a) aplicación de 110 mg de fosfuro de aluminio en cada bolsa, con el objetivo de lograr una concentración de 2000 ppm de PH₃ y b) aplicación de 203 mg, de fosfuro de aluminio con el objetivo de lograr una concentración de 3500 ppm de PH₃. Para la dosificación de esta pequeña cantidad, se colocaron 5 comprimidos de fosfuro de aluminio de 0,6 g c/u (0,2 g de fosfina,



Phostoxin®, Alemania) dentro de una bolsa “ziploc” herméticamente cerrada y se desintegraron hasta obtener un polvo. Se utilizaron cinco bolsas con maíz por tratamiento (repeticiones). A los fines prácticos se consideró que la tasa de pasaje vía permeabilidad era despreciable.

El fosforo de aluminio se fraccionó y pesó el en balanza analítica con una precisión de milésima de gramo Precisa 125A (Swiss Quality, Suiza) empleando un papel filtro previamente tarado que posteriormente se plegó (con el fosforo de aluminio en su interior) y se colocó dentro de cada bolsa con maíz e inmediatamente se selló con cinta la abertura en la bolsa para evitar el escape del gas PH₃. (Figura 1: a, b y c).



Figura 1: a) Izquierda: pesaje del fosforo de aluminio, b) Centro: abertura en la bolsa con maíz por donde se colocó el fosforo de aluminio. c) Derecha: cierre de la abertura mediante el pegado de tres cintas superpuestas.

Las bolsas se rotularon y se almacenaron en una cámara (Figura 2) donde también se colocó un sensor (I-button, Hygrochrom, EEUU) registrando la temperatura ambiente cada 2 horas.



Figura 2: Bolsas en la cámara de almacenaje.



A las 96 hs de la aplicación del fosforo de aluminio se consideró que la gasificación fue completa (según el fabricante a las 48 hs se produce el 75% de la gasificación a 20°C) y se midió la concentración de PH₃ en cada bolsa utilizando tubos colorimétricos específicos para medir la concentración de fosfina, (FORSAFE FS 300 -PH₃ 50, Argentina). Los tubos son de vidrio alojando en su interior sales de plata reactivos al gas fosfina. El procedimiento consistió en insertar el tubo colorimétrico en cada bolsa y llenarlo con aire del interior utilizando una la bomba manual, la concentración de fosfina se leyó en la escala graduada. (Figura 3: a y b).



Figura 3: a) Izquierda: medición de la PH₃ en una bolsa con maíz. b) Derecha: pipetas utilizadas en las mediciones de concentración de PH₃.

Resultados y discusión

La temperatura mínima y máxima en la cámara donde se desarrolló el ensayo fue de 20,4 °C y 22,3 °C, respectivamente. A su vez, la humedad relativa predicha para la condición de humedad de grano y temperatura (Modelo Chung Fost; ASABE, 2001) equivale a 68-70%. Estas condiciones de temperatura y humedad relativa no son limitantes para una normal liberación de la fosfina (Xianchang, 1994).

Como se observa en la Tabla 1, la concentración promedio medida luego de 96 h fue de 530 ppm y 1115 ppm para la menor y mayor dosis, respectivamente. Por otro lado, la concentración máxima lograda en la dosis con concentración objetivo de 2000 ppm fue del 40% de la misma, mientras que en el caso de la mayor dosis fue del 60%. A su vez, la variación entre las dosis logradas en las diferentes repeticiones aumentó con la dosis objetivo.



Dosis objetivo (ppm)	Media (ppm)	Desvío estándar	Mínimo	Máximo
2000	530	241	250	800
3500	1115	638	425	2100

Tabla 1. Concentración media, desvío estándar y cuantiles medidos (ppm) para las dosis propuestas.

Los resultados demuestran que la cantidad de fosforo de aluminio aplicado para lograr la concentración objetivo fue insuficiente en ambos casos. La realización previa del test de hermeticidad permite inferir que la variabilidad en las determinaciones no estuvo asociada a una pérdida del gas generada por puntos de fuga, principal motivo de escape de fosfina en envases flexibles. La causa en la gran dispersión de la fosfina medida entre repeticiones, probablemente estuvo asociada a que no existe una distribución uniforme del fosforo de aluminio en el comprimido. Por cada comprimido, el 60% es fosforo de aluminio y el resto corresponde a otros compuestos como el carbamato de amonio que, durante la gasificación, se convierte en amonio (gas alerta) y CO₂. Es así que, durante la ruptura del comprimido, su molienda y fraccionamiento podrían haberse dosificado diferentes proporciones de fosforo en cada bolsa. La subdosificación obtenida posiblemente se deba a que existió una subestimación de la adsorción de la fosfina por parte del grano, la cual fue menor en proporción cuando mayor fue la dosis. Athanassiou y Arthur (2018) reportan que el efecto de la adsorción de fosfina en el grano se relativiza en función de la dosis. Otro aspecto que pudo tener una magnitud mayor a la esperada, es la tasa pérdida de fosfina a través del polietileno de las bolsas. Ridley et al. (2011) mencionan que, aunque no cuantifican con exactitud la tasa de pasaje de fosfina a través el polietileno del silo bolsa, sugieren que la permeabilidad a la fosfina de este material podría ser mayor a lo que se supone. Esto podría ser aún más relevante si se tiene en cuenta que las bolsas utilizadas en el presente ensayo tienen una mayor relación superficie/volumen que un silo bolsa típico.

Dado el volumen de cada unidad experimental (aprox. 20 lts), existieron restricciones en hacer mediciones frecuentes de fosfina, a los fines de que el error experimental no sea significativo. Observar la evolución de fosfina podría haber contribuido a identificar mejor la magnitud de la pérdida inmediata (adsorción) o paulatina (p.e. permeación a través del polietileno) de la fosfina aplicada.

En un ensayo de similares condiciones, Alvarez et al. (2021) aplicaron una dosis potencial de 5000 ppm (2 pastillas de 0,2 g PH₃ c/u) en tambores plásticos de 60 lts, con una mínima cantidad de maíz (2 kg). Luego de 48 hs registró una concentración 3500 ppm estableciendo una pérdida promedio de casi 300 ppm por día, hasta llegar a 800 ppm luego de 15 días de almacenaje. Los autores adjudicaron esta pérdida de fosfina a pérdidas vía fallas en la hermeticidad típica de estos envases (hermeticidad menor a la de las bolsas utilizadas en este ensayo). En estas condiciones, observaron que al cabo de 15 días solo existió una reducción de la cantidad de unidades formadoras de colonias (UFC) ($3,94 \pm 0,36$ a $2,94 \pm 0,06 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g MS}$). Por una parte, la metodología de aplicación utilizada (pellets o pastillas enteras) permitió una mayor uniformidad en los resultados, en comparación con el presente ensayo. Esto puede observarse en las desviaciones típicas de los resultados de UFC, aun en condiciones de hermeticidad menores que las relevadas en este ensayo.



A su vez, si se considera que la fosfina no tiene poder residual, el efecto logrado sobre la carga fúngica se considera insuficiente. Esto podría indicar que una mayor retención de la fosfina (mayor hermeticidad) para una misma dosis potencial deberían ser necesarios, o incluso dosis mayores deberían ser aplicadas para lograr una reducción significativa de la carga fúngica sobre el grano.

Estos resultados indican que la dosis adecuada para control fúngico fue afectada por varios factores como la distribución de la fosfina en la formulación, así como también la absorción por parte del grano y, posiblemente, permeabilidad del polietileno. Para próximos trabajos se sugiere aumentar las dimensiones de la unidad experimental (por ejemplo, a nivel de big bags) que permitan la aplicación de formulaciones de 0,2 g de fosfina, sin fraccionamiento. Esto presumiblemente evitaría errores de dosificación del fosfuro. A su vez, un mayor tamaño permitirá hacer mediciones periódicas de fosfina sin afectar la concentración de la misma.



Referencias bibliográficas

Abadia B.; Bartosik R. 2013. Manual de buenas prácticas en poscosecha de granos Ediciones Manual de Buenas Prácticas en Poscosecha de Granos, 194 p.

Alvarez E.; Cardoso L.; Bartosik R.; Castellari C., 2021. Evaluation of fungicidal action of four products on external fungal biota of grains, en: Jayas D.S.; Jian F. (Eds.), Proceedings of the 11th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products (CAF2020)pp 3–9.

ASAE D245.5, 2001, Moisture relationships of plant-based agricultural products, ASABE Standards.
Athanassiou C.; Arthur F., 2018, Recent Advances in Stored Product Protection, Springer, Berlin.
<https://doi.org/10.1007/978-3-662-56125-6>

Bartosik R., 2012, An inside look at the silo-bag system, en: Navarro S.; Banks H.J.; Jayas D.S.; Bell C.H.; Noyes R.T.;

Ferizli A.G.; Emeki M.; Isikber A.A.; Alagusumdaram K. (Eds.), 9th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, ARBER Professional Congress Service, Antalya, Turkey, pp 117–128.

Bartosik R.; Rodriguez J.; Cardoso L., 2008, Storage of corn, wheat, soybean and sunflower in hermetic plastic bags, en: International Grain Quality & Technology Congress Proceedings, pp 15–18.

Bhat R., Rai R., Karim A., 2010, Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns, Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 9, pp. 57–81.

Cardoso L.; Bartosik R.; Campabadal C.; de la Torre D., 2012, Air-tightness level in hermetic plastic bags (silo-bags) for different storage conditions, en: 9th International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products, pp 583–589.

Castellari C.; Marcos Valle F.; Mutti J.; Cardoso L.; Bartosik R., 2010, Toxigenic fungi in corn (maize) stored in hermetic plastic bags, en: 10th International Working Conference on Stored Product Protection. Julius-Kühn-Archiv, pp 501–504.
<https://doi.org/10.5073/jka.2010.425.323>.

De Castro M.; Leitao M.; Do Vale J.; Bragnolo N.; Salvadego Anichiareo E.; Mills K., 2001, Effects of phosphine in the development of *Aspergillus flavus* aflatoxin production in maize grains stored at different moisture contents. Proc. Int. Conf. Control. Atmos. Fumigation Stored Prod., pp 179–191.

Fernandez Zambón J.I., 2018, Efecto del ácido propiónico en la conservación de maíz húmedo en diferentes sistemas de almacenamiento, Universidad Nacional de Mar del Plata.

Hocking A.D.; Banks H.J., 1991, Effects of phosphine fumigation on survival and growth of storage fungi in wheat. J. Stored Prod. Res. 27, pp 115–120.

Larsen H.J.; Jorgensen N.A.; Barrington G.P., 1980, Preserving and storing high moisture corn treated with propionic acid.

Magan N.; Lacey J., 1988, Ecological determinants of mould growth in stored grain, Int. J. Food Microbiol. 7, pp 245–256.

Marcos Valle F.J.; Castellari C.; Yommi A.; Pereyra M.A.; Bartosik R., 2021, Evolution of grain microbiota during hermetic storage of corn (*Zea mays* L.), J. Stored Prod. Res. 92, pp 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2021.101788>.

Melo J.M., 2021, Por cuarto año consecutivo, la cosecha de maíz en Argentina será récord, superará a la de soja y se ubicará entre las tres más altas del mundo. Disponible en:
<https://www.infobae.com/economia/2021/04/05/por-cuarto-ano-consecutivo-la-cosecha-de-maiz-en-argentina-sera-re>



cord-superara-a-la-de-soja-y-se-ubicara-entre-las-tres-mas-altas-del-mundo/(consultado 16/8/2022).

Navarro S.; Timlick B.; Demianyk C.J.; White N., 2012, Controlled or Modified Atmospheres, Stored Prod. Prot., pp 1–11.

Paster N.; Bullerman L.B., 1988, Mould spoilage and mycotoxin formation in grains as controlled by physical means, Int. J. Food Microbiol. 7, pp 257–265.

Reddy P.V.; Rajashekar Y.; Begum K.; Chandrappa Leelaja B.; Rajendran S., 2007, The relation between phosphine sorption and terminal gas concentrations in successful fumigation of food commodities, Pest Manag. Sci. 63, pp 96–103.

Ridley A.W.; Burrill P.R.; Cook C.C.; Daglish G., 2011, Phosphine fumigation of silo bags, J. Stored Prod. Res. 47, pp 349–356.

Rozadilla B.; Calzada J., 2018, El silo bolsa en Argentina: almacenaje por 45 Mt / año y exportaciones por US \$ 50 M, Disponible en: <https://www.bcr.com.ar/es/mercados/investigacion-y-desarrollo/informativo-semanal/> (consultado 16/8/2022).

Tubbs T.; Baributsa D.; Woloshuk C., 2016, Impact of opening hermetic storage bags on grain quality, fungal growth and aflatoxin accumulation, J. Stored Prod. Res. 69, pp 276–281.

Vidal F.; Jayaraman A., 1980, Gaseous antimicrobial treatments of storage grain with sulfur dioxide and ammonia, United States Patent N° 4.350.709, 16 p.

Xianchang T., 1994, Evolution of phosphine from aluminium phosphide formulations at various temperatures and humidities, Proceeding 6th Int. Work. Conf. stored Prod. Prot.