

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE  
ZOOTECNIA

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure, likely a saint or scholar, seated and holding a book. Above the figure is a crown. The seal is surrounded by Latin text: "CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA" at the top and "SACRAE THEOLOGICAE UNIVERSITATIS SANCTI CAROLINI" at the bottom. The seal is rendered in a light gray, semi-transparent style.

“DETERMINACION DE LA INCIDENCIA DE AFLATOXINA M1 EN LECHE  
FLUIDA DE VACA EN LOS EXPENDIOS DE LA CIUDAD DE  
CHIQUMULA”

GERSON ALFREDO BARAHONA SALGUERO

CHIQUMULA, GUATEMALA, MARZO DE 2012

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE**

**ZOOTECNIA**

**DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE AFLATOXINA M1 EN LECHE  
FLUIDA DE VACA EN LOS EXPENDIOS DE LA CIUDAD DE  
CHIQUIMULA**



**TESIS**

**PRESENTADA AL HONORABLE CONSEJO DIRECTIVO**

**POR**

**GERSON ALFREDO BARAHONA SALGUERO**

**EN EL ACTO DE INVESTIDURA COMO**

**ZOOTECNISTA**

**EN EL GRADO ACADÉMICO DE LICENCIADO**

**CHIQUIMULA, GUATEMALA, MARZO DEL 2012**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

**CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE**

**ZOOTECNIA**



**RECTOR**

**CARLOS ESTUARDO GÁLVEZ BARRIOS**

**CONSEJO DIRECTIVO**

**Presidente:** M.Sc. Nery Waldemar Galdámez Cabrera

**Secretario:** Lic. Tobías Rafael Masters Cerritos

**Representante de Docentes:** M.Sc. Felipe Nery Agustín Hernández  
M.Sc. Edgar Arnoldo Casasola Chinchilla

**Representante de Egresados:** Lic. Zoot. Genesio Alberto Orellana Roldán

**Representante de Estudiantes:** Br. Eibi Estephania Lemus Cruz  
MEPU. Leonel Oswaldo Guerra Flores

**AUTORIDADES ACADÉMICAS**

**Coordinador Académico:** Ing. Agr. Edwin Filiberto Coy Cerdón

**Coordinador Zootecnia:** Lic. Zoot. Merlin Wilfrido Osorio López

**TERNA EVALUADORA**

**M.Sc. Walter Achila Cerdón**

**M.Sc. Nery Waldemar Galdámez Cabrera**

**M. Sc. Baudilio Cordero Monroy**

Chiquimula, marzo del 2012.

Señores:

Consejo Regional

Centro Universitario de Oriente

Presente,

Respetable señores:

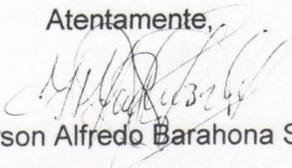
En cumplimiento a lo establecido por los estudios de la Universidad de San Carlos de Guatemala y el Centro Universitario de Oriente, presento a consideración de ustedes el trabajo de tesis titulado:

**“DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE AFLATOXINA M1 EN LECHE FLUIDA DE VACA EN LOS EXPENDIOS DE LA CIUDAD DE CHIQUIMULA”.**

Como requisito previo a optar el título de Zootecnista, en el grado académico de **Licenciado**.

Esperando que el presente trabajo de investigación llene los requisitos para su aprobación,

Atentamente,

  
T.P.P. Gerson Alfredo Barahona Salguero



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE  
ZOOTECNIA  
TELEFONO 78730300 EXT. 1014 y 1015



Chiquimula, marzo de 2012

**Señor Director:**  
**Nery Waldemar Galdámez Cabrera, M Sc.**  
**Centro Universitario de Oriente**  
**Universidad de San Carlos de Guatemala**

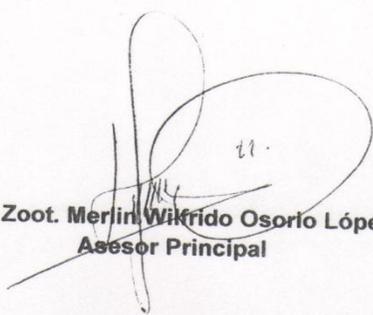
Señor Director.

En atención a la designación efectuada por la Comisión de Trabajos de Graduación, para asesorar al joven **Gerson Alfredo Barahona Salguero**, en la realización de su trabajo de graduación titulado **"DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE AFLATOXINA M1 EN LECHE FLUIDA DE VACA EN LOSPEXENDIOS DE LA CIUDAD DE CHIQUIMULA"**, tengo el agrado de dirigirme a usted, para informarle que he procedido a revisar y orientar al mencionado sustentante sobre el contenido de dicho trabajo.

En ese sentido, el tema desarrollado corresponde a una investigación de tipo exploratorio que hace inferencia en el contenido de agentes nocivos en alimentos de consumo humano como es el caso de la leche, contenido que además, posee particular importancia en la calidad de alimento y por ende en la salud de la población.

por tanto, en mi opinión este trabajo reúne los requisitos exigidos por las normas pertinentes; por la cual recomiendo su aprobación para su discusión en el Examen General Público, previo a optar al título de Zootecnista en el grado académico de Licenciado.

**"ID Y ENSEÑAD A TODOS"**

  
**Lic. Zoot. Merlin Wilfrido Osorio López**  
**Asesor Principal**



**D-TG-Z-005/2012**

EL INFRASCRITO DIRECTOR DEL CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA, POR ESTE MEDIO **HACE CONSTAR QUE:** Conoció el documento de la investigación que efectuó el estudiante **GERSON ALFREDO BARAHONA SALGUERO** titulado **“DETERMINACIÓN DE LA INCIDENCIA DE AFLATOXINA M1 EN LECHE FLUIDA DE VACA EN LOS EXPENDIOS DE LA CIUDAD DE CHIQUIMULA”**, trabajo que cuenta con Comisión de Trabajos de graduación de la carrera de Zootecnia. Por tanto, la Dirección del CUNORI con base a las facultades que le otorga las Normas y Reglamentos de Legislación Universitaria **AUTORIZA** que el documento sea publicado como Trabajo de Graduación, a Nivel de Licenciatura, previo a obtener el título de Zootecnista.

Se extiende la presente en la ciudad de Chiquimula, a dos de marzo de dos mil doce.

**“ID Y ENSEÑAD A TODOS”**

MSc. Nery Waldemar Galdámez Cabrera  
**DIRECTOR**  
**CUNORI - USAC**



## **ACTO QUE DEDICO**

**A DIOS:** Todo poderoso.

**A mis abuelos:** Santos Salguero (Q.E.P.D.), Rosalina Vargas de Salguero, Diego Barahona, Emilia Salguero.

**A mis padres:** Elfido de Jesús Barahona Salguero y Berta Salguero Vargas de Barahona.

**A mis hermanos:** Deisy Yanira, Héctor Estuardo, Glendy Yessenia y Rosa Sthephany.

**A mis sobrinos**

**A tíos, primos y familia en general**

**A mis amigos en general**

**A mis amigos en especial:** José René Pinto España, Brener Yubini Granados Pinto, Vilma Leticia Ramos López, Juan Carlos Argueta Martínez.

**A mis compañeros de estudio en general**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios**, por la sabiduría, perseverancia y salud durante todo el proceso de formación profesional.

**A mis padres**, por su apoyo económico, moral y la comprensión por creer en mi interés de salir adelante en la vida profesional.

**A mis abuelos**, por su motivación y gran apoyo.

**A mi hermano Héctor Estuardo**, por acompañarme en el esfuerzo por graduarme.

**A mis asesores**, Lic. Zoot. Merlin Wilfrido Osorio López, M.Sc. Raúl Jáuregui Jiménez.

**A los docentes de la carrera de Zootecnia**, por transmitirme sus conocimientos e influir en mi formación profesional y personal.

**A los miembros de la terna evaluadora**, M.Sc. Walter Achila Cordón, Lic. Zoot. Baudilio Cordero, M.Sc. Nery Galdámez.

A la **UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA Y CENTRO UNIVERSITARIO DE ORIENTE** por abrirme las puertas y ayudar en el fortalecimiento profesional.

**A mis amigos** por acompañarme en todo el proceso de formación, animándome a seguir adelante.

## INDICE GENERAL

| <b><u>Contenido</u></b>                                                     | <b><u>Página</u></b> |
|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| Índice general                                                              | i                    |
| Índice de cuadros                                                           | iii                  |
| Índice de figuras                                                           | iv                   |
| Resumen                                                                     | vi                   |
| I. Introducción                                                             | 01                   |
| II. Planteamiento del problema                                              | 03                   |
| III. Justificación                                                          | 04                   |
| IV. Objetivos                                                               | 05                   |
| V. Hipótesis                                                                | 06                   |
| VI. Marco teórico                                                           | 07                   |
| 6.1 Generalidades de las micotoxinas                                        | 07                   |
| 6.1.1 Historia                                                              | 08                   |
| 6.1.2 Factores que influyen en la presencia de micotoxinas en los vegetales | 09                   |
| 6.1.3 Producción de micotoxinas                                             | 11                   |
| 6.1.4 Hongos toxigénicos y micotoxinas naturales                            | 14                   |
| 6.1.5 Estudios realizados                                                   | 17                   |
| 6.1.6 Prevención                                                            | 20                   |
| 6.1.7 Normas                                                                | 23                   |
| VII. Marco metodológico                                                     | 25                   |
| 7.1 Población                                                               | 25                   |
| 7.2 Muestra                                                                 | 25                   |
| 7.3 Técnicas de observación                                                 | 26                   |
| 7.4 Técnicas de recolección y análisis de datos                             | 27                   |
| 7.4.1 Técnicas de recolección de datos                                      | 27                   |
| 7.4.2 Técnicas de análisis de datos                                         | 27                   |
| VIII. Resultados y discusión                                                | 29                   |
| IX. Conclusiones                                                            | 34                   |

|                    |    |
|--------------------|----|
| X. Recomendaciones | 35 |
| XI. Bibliografías  | 36 |
| XII. Apéndice      | 39 |
| XIII. Anexos       | 49 |

**INDICE DE CUADROS  
EN EL CONTENIDO**

| <b>CUADRO</b>      | <b>DESCRIPCIÓN</b>                                                                                                                                | <b>PÁGINA</b> |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 1                  | Mohos que producen micotoxinas                                                                                                                    | 13            |
| 2                  | Mohos toxigénicos y micotoxinas en frutas, hortalizas, productos de granja y granos                                                               | 15            |
| 3                  | Afecciones en el hombre provocada por la ingestión de micotoxinas                                                                                 | 18            |
| 4                  | Afecciones en los animales provocadas por la ingestión de micotoxinas                                                                             | 19            |
| <b>EN EL ANEXO</b> |                                                                                                                                                   |               |
| 1A                 | Cronograma de actividades                                                                                                                         | 49            |
| 2A                 | Análisis de Varianza para la Variable de Presencia de Aflatoxina M1                                                                               | 49            |
| 3A                 | Frecuencia de las muestras obtenidas por zona en el Municipio de Chiquimula                                                                       | 49            |
| 4A                 | Frecuencia de la presencia de Aflatoxina M1 en la ciudad de Chiquimula                                                                            | 50            |
| 5A                 | Codificación, zonificación y resultado de laboratorio                                                                                             | 50            |
| 6A                 | Cuadro 3. Niveles máximos tolerados para las micotoxinas en los alimentos, en los productos lácteos y en las raciones animales                    | 51            |
| 7A                 | Rangos establecidos por Kit Elisa Aflatoxin m1                                                                                                    | 51            |
| 8A                 | Presupuesto general de costos de la investigación                                                                                                 | 52            |
| 9A                 | Boleta de resultados de Prueba Elisa Aflatoxin M1 en lector de placas                                                                             | 52            |
| Manual A1          | Código de prácticas para reducir la aflatoxina B1 presente en las materias primas y los piensos suplementarios para animales productores de leche | 53            |

## INDICE DE FIGURAS

### EN EL CONTENIDO

| FIGURA | DESCRIPCIÓN                                                                                                                                                                   | PÁGINA |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | Comportamiento de los resultados obtenidos en análisis de Elisa kit Aflatoxin M1, en la ciudad de Chiquimula, Chiquimula                                                      | 30     |
| 2      | Curva de distribución de los datos de leche y su límite permisible de aflatoxina M1                                                                                           | 31     |
| 3      | Distribución de 26 muestras colectadas en la ciudad de Chiquimula en porcentaje                                                                                               | 32     |
| 4      | Porcentaje de muestras positivos y negativos de aflatoxina M1 en la leche fluida de bovinos, colectada en las diferentes zonas urbanas de la ciudad de Chiquimula, Chiquimula | 33     |

### EN EL APENDICE

|    |                                                                                                                                                                                              |    |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1A | Placa de pozos para prueba de Aflatoxina M1                                                                                                                                                  | 39 |
| 2A | Reactivo buffer para prueba de Aflatoxina M1                                                                                                                                                 | 39 |
| 3A | Reactivos de Kit Elisa para detección de Aflatoxina M1                                                                                                                                       | 40 |
| 4A | Estándares de concentración de Aflatoxina M1                                                                                                                                                 | 40 |
| 5A | Recolección de muestras de expendios de la ciudad de Chiquimula                                                                                                                              | 41 |
| 6A | Equipo utilizado para separación de ácidos grasos en Laboratorio de Bromatología de la carrera de Zootecnia del Centro Universitario de Oriente de la Universidad de San Carlos de Guatemala | 41 |
| 7A | Recipientes de transporte de muestra de leche de los Expendios de la ciudad de Chiquimula                                                                                                    | 42 |

|     |                                                                                                                                                                                 |    |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 8A  | Extracción de leche de los recipientes de recolección                                                                                                                           | 42 |
| 9A  | Centrifugación de leche colectada previo a su transporte al laboratorio de inmuno diagnóstico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala | 43 |
| 10A | PBS Tween disuelto en agua destilada para los lavados realizados en el proceso de detección de Aflatoxina M1                                                                    | 43 |
| 11A | Placa con pozos utilizados con sus respectivas puntas de micropipeta desechables                                                                                                | 44 |
| 12A | Realización de análisis de laboratorio con Kit Elisa para detección de Aflatoxina M1                                                                                            | 44 |
| 13A | Aplicación del conjugado a cada uno de los pozos                                                                                                                                | 45 |
| 14A | Reacción de aplicación del sustrato de enzima                                                                                                                                   | 45 |
| 15A | Micropipeta de 200 $\mu$ l.                                                                                                                                                     | 46 |
| 16A | Lector de Placas de prueba de Elisa                                                                                                                                             | 46 |
| 17A | Lectura de muestras en lector de placas Elisa                                                                                                                                   | 47 |
| 18A | Lectura de datos presentados por lector de placas Elisa                                                                                                                         | 47 |
| 19A | Mapa de la ciudad de Chiquimula, departamento de Chiquimula                                                                                                                     | 48 |

## I. INTRODUCCION

Las aflatoxinas son micotoxinas producidas por muchas especies del género de hongos *Aspergillus* entre los más notables *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* y *Aspergillus parasiticus*. Las aflatoxinas son tóxicas y carcinogénicas para animales, inclusive humanos. Luego de la entrada al cuerpo, las aflatoxinas se metabolizan por el hígado con un reactivo intermedio, llamado aflatoxina M1. (Wikipedia, 2009).

En cuanto a su composición química, las aflatoxinas contienen un núcleo fusionado a un bifurano y a una estructura petanona, en el caso de aflatoxinas B que está sustituida por una lactona de seis miembros en aflatoxinas G.

La aflatoxina B1 es una micotoxina producida por el hongo *Aspergillus flavus* que crece en los granos, especialmente en maíz, maníes y semillas de algodón; raramente se encuentra en los forrajes. Usualmente no está presente en concentraciones suficientemente altas en el silo de maíz como para ser una problema (Carrillo, 2003).

El ganado bovino lechero puede producir leche contaminada con aflatoxina M1 (AFM1) luego de ingerir alimentos contaminados con la aflatoxina B1 (AFB1). La aflatoxina B1 es metabolizada por enzimas encontradas primariamente en el hígado, en AFM1, para luego ser excretada en la orina y/o la leche. Su toxicidad ha causado daños severos en la salud humana y en la economía agropecuaria alrededor de todo el mundo.

La presencia de aflatoxinas se ha registrado indirectamente en muchos artículos desde el siglo pasado, donde se describían los mismos síntomas, especialmente en animales intoxicados, y se veía la relación con consumo de alimentos en cierto estado de descomposición, pero no se conocía la causa exacta del problema. El estudio documentado de las aflatoxinas y la enfermedad causada por estas comienza en los años sesenta en los Estados Unidos de Norteamérica, cuando se reportó una epidemia (llamada "X") de pavos y otros animales de corral, matando más de 100.000 animales.

La causa de la muerte fue por el consumo de maní brasileño altamente contaminado con aflatoxinas (Santos, 2009).

Para inferir en el grado de presencia de la aflatoxina M1, se propone desarrollar la presente investigación, la cual determinó la presencia de la misma en la leche fluida de las explotaciones bovinas de la ciudad de Chiquimula.

## **II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

A la fecha se dispone de poca o inexistente información sobre la presencia de aflatoxina M1, en la leche fluida producida de las explotaciones bovinas de la ciudad de Chiquimula; sin embargo se sabe que su presencia constituye un riesgo general para la salud animal y humana.

Guatemala como país, posee el tipo de clima que favorece la proliferación de hongos productores de micotoxinas y facilita la presencia de la Aflatoxina B1 en los alimentos usados para el consumo animal. (Yalibat, 1997).

### III. JUSTIFICACION

Las aflatoxinas son consideradas como el carcinógeno más potente producido en la naturaleza; considerando estos tóxicos como mutagénicos, teratogénicos y hepatotóxicos para los bovinos, afectando inclusive a los humanos (Carrillos, 2003).

La producción de aflatoxinas es considerada casi inevitable por encontrarse estos mohos esparcidos en todo el mundo y encontrar fácilmente las condiciones ideales para su producción, especialmente en países tropicales y subtropicales.

El 13% de muestras de hígado de reses, analizadas en los expendios de carne de la ciudad de Guatemala, presentaron contaminación con Aflatoxinas, debido al consumo de granos y forrajes contaminados por micotoxinas (Yalibat, 1997).

Dado que no existe información evidente en Guatemala, con respecto al contenido de aflatoxinas M1 en la leche, es necesario investigar sobre la presencia de esta aflatoxina, debido al riesgo de daño hepático, reducción de la producción de leche, disminución del consumo de alimentos, fotosensibilización, cirrosis, inducción de tumores, teratogénesis, excreción por la leche, acumulación en tejidos y menor tasa de nacimientos (Carrillo, 2003); para los animales que consumen alimentos contaminados; así mismo para las personas que se alimentan de leche fluida entera, lo que se traduce en pérdidas económicas para el productor lechero.

La evaluación de los resultados epidemiológicos y de laboratorio llevada a cabo en 1987 por el Centro Internacional de Investigaciones del Cáncer (CIIC) determinó que existen suficiente datos demostrativos del efecto carcinogénico de mezclas naturales de aflatoxinas en el ser humano, las cuales se clasifican por ello como carcinogénicos del Grupo 1, salvo en el caso de la aflatoxina M1, que se considera posiblemente carcinogénica para el hombre (Peraica, 2000).

Por tal razón es necesario realizar pruebas que determinen la presencia de aflatoxinas en las explotaciones lecheras de la ciudad de Chiquimula.

#### **IV. OBJETIVOS**

General:

- ✓ Generar información sobre la presencia de aflatoxinas M1 en la leche fluida entera producida en las explotaciones lecheras bovinas de la ciudad de Chiquimula.

Específicos:

- ✓ Determinar la incidencia de aflatoxina M1 a través del método ELISA directa, en la leche fluida de los diferentes expendios lecheros de la ciudad de Chiquimula.

## **V. HIPOTESIS**

Al menos una de las muestras colectadas de leche fluida en las explotaciones lecheras de la ciudad de Chiquimula, presenta evidencia de la existencia de aflatoxina M1.

## VI. MARCO TEORICO

### 6.1 Generalidades de las micotoxinas

Micología es una rama de la biología que tiene como objetivo el estudio de los hongos (mohos y levaduras). Micosis es el nombre con el que se le conocen a las enfermedades ocasionadas por los hongos en el hombre y animales. Micotoxicosis es el nombre que se da al grupo de enfermedades y trastornos originados en el hombre y en los animales, por unos metabolitos secundarios tóxicos llamados micotoxinas y que son producidos por cepas toxicogénicas de especies de algunos géneros de mohos (Gimeno, 2011).

Los hongos son vegetales carentes de clorofila pertenecientes al grupo de las talofitas. Esta carencia de clorofila no es solo una característica que distingue a los hongos de los otros vegetales, sino que también es un condicionante importante en la actividad biológica de estos vegetales. El hecho de carecer de clorofila provoca el que ellos no son capaces de sintetizar materia orgánica utilizando la luz solar como fuente energética, por este motivo deben desarrollar sobre un sustrato que contenga materia orgánica. Este factor condiciona los lugares de crecimiento. Así pues cada producto alimentario es un sistema ecológico especial en el que la interacción de factores químicos, físicos y biológicos tienen un papel fundamental en el deterioro del alimento debido a un crecimiento y proliferación fúngica (Gimeno, 2011).

Los hongos tiene gran capacidad para infectar tejidos vegetales vivos, con un gran poder de invasión, diseminación y deterioro de productos almacenados. A todo esto debemos añadir los problemas de micosis que pueden considerar y la capacidad genética que algunos de ellos tiene para producir metabolitos secundarios tóxicos denominados micotoxinas con la consecuente posibilidad de producir micotoxicosis en los animales y en los humanos que consumen alimento contaminado (Gimeno, 2011).

La micotoxicosis principal se produce al consumir vegetales contaminados; y la secundaria, al ingerir carne o leche de animales que comieron forrajes con micotoxinas (Carrillo, 2003).

Una micotoxina conocida es la aflatoxina M1, la cual se puede encontrar en la leche materna, en consecuencia de la ingestión de aflatoxina B1 en los alimentos de algunas regiones, lo que produce una micotoxicosis en el recién nacido (Carrillo, 2003).

Las características de una micotoxicosis son las siguientes:

- ✓ No es una enfermedad transmisible
- ✓ El tratamiento con drogas o antibióticos tiene poco o ningún efecto
- ✓ En los brotes observados en el campo, el problema es estacional debido a que las condiciones climáticas afectan al desarrollo del hongo
- ✓ El brote está comúnmente asociado a un alimento o forraje específico
- ✓ El examen del alimento o forraje sospechoso revela signos de actividad fúngica.

### **6.1.1 Historia**

Los primeros casos de micotoxicosis conocidos en el mundo fueron debido al centeno contaminado con *Claviceps purpurea*, en la Edad Media. Luego en 1912 en Argentina se demostró la acción de los metabolitos tóxicos de un *Aspergillus* del maíz sobre varias especies animales, lo que constituye la primera observación científica de la micotoxicosis en Sudamerica (Carrillo, 2003). En 1954 Semeniuk clasificó al *Aspergillus flavus* como un hongo mesofílico con las temperaturas de crecimiento siguientes mínimas de 6-8° C, óptima 36-38° C y máxima de 44-47° C, además se incrementa su crecimiento en las zonas de humedad y temperaturas altas (Yalibat, 1997).

En 1960 la intoxicación masiva de pavos en Inglaterra llevó al aislamiento de las aflatoxinas, llamadas así porque son producidas por especies del grupo de

*Aspergillus flavus* (Carrillo, 2003). En el año 1971, se reportaron que en 1944 informaciones de Rusia revelaron que en un distrito, el 10% de la población se enfermó por haber ingerido cereales contaminados con hongos productores de toxinas (Yalibat, 1997).

Se han identificado hasta ahora más de 200 micotoxinas, sin embargo las que se pueden encontrar de una forma más frecuente como contaminantes naturales en los alimentos para animales y para humanos, son: aflatoxinas, ocratoxinas, zearalenona, fumonisinas, toxinas tricotecenas (toxina T-2, diacetoxiscirpenol, deoxinivalenol o vomitoxina, nivalenol, monoacetoxiscirpenol, triacetoxiscirpenol, escirpentriol), citrinina, patulina, ácido penicílico, sterigmatocistina, toxinas de alternaría (alternariol, altenariol monometil eter, alténuene, alténisol, etc.) alcaloides del cornezuelo del centeno (ergotamina, ergotoxina, ergometrina), toxinas tremorgénicas (penitrem A y B), rubratoxinas A y B, luteoskirina, islanditoxina, rugulosina y citreoviridina (Gimeno, 2011).

### **6.1.2 Factores que influyen en la presencia de micotoxinas en los vegetales**

- ✓ **La infección de la planta en el campo por el hongo patógeno o la colonización por los saprobios.** Los hongos adquiridos en el campo son: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Fusarium* *Verticillium*, además de otros fitopatógenos; las especies varían según el vegetal, el clima y la región geográfica. Requiriendo generalmente una humedad relativa entre 90 y 100% y un contenido de agua en las semillas de 22 a 23% para crecer, con un amplio rango de temperatura entre 0 y 30°C, aunque algunos pueden desarrollarse a 35°C o más (Carrillo, 2003).

La actividad de agua óptima para la proliferación de *Aspergillus flavus* alta (alrededor de 0,99), el valor máximo es al menos 0,998 y el mínimo no se ha determinado aún con precisión, pero según Pitt y Miscamble (1995) es aproximadamente 0,82. Además puede proliferar a temperaturas de 10 a 43<sup>o</sup> C. La tasa de crecimiento óptima, hasta 25 mm al día, se produce a una temperatura ligeramente superior a 30<sup>o</sup> C, produciendo aflatoxinas en el intervalo de temperaturas entre 15 a 37<sup>o</sup> C (FAO/OIEA, 2003).

La colonización de las partes aéreas de las plantas por los microorganismos inicia tan pronto son expuestas al aire. Aparecen primeramente las bacterias, luego las levaduras y finalmente los hongos filamentosos saprobios y patógenos; siendo estos últimos, los que continúan su desarrollo a lo largo de todo el crecimiento de la planta, lo que resalta más cuando envejece y las semillas maduran (Carrillo, 2003).

La cosecha perturba el ecosistema y las condiciones relativamente estables del almacenamiento lo que produce un cambio en la composición de la microbiota. Por lo cual los restos abandonados en el campo suelen albergar esclerocios, como en el caso de *Aspergillus flavus*, que será la fuente de contaminación del cultivo en la temporada siguiente (Carrillo, 2003).

- ✓ **El crecimiento de los mohos saprobios o patógenos post-cosecha sobre los frutos y granos almacenados.** El crecimiento de hongos continúan en los productos frescos después a la cosecha causando lesiones que deforman el aspecto de las frutas y hortalizas. En los granos de cereales, los hongos persisten siempre y cuando el grano esté suficientemente seco para soportar la competencia de otras especies

incorporadas posteriormente. Otros hongos presentes en los productos almacenados son especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y algunos xerófilos. Los factores que influyen en su desarrollo son: el contenido de humedad del sustrato, la temperatura, el tiempo, el grado de invasión fúngica del almacenamiento y la actividad de insectos y ácaros que facilitan la diseminación. Requieren menor humedad relativa ambiente (70-90%) y contenido de agua en las semillas (15-20%), pero el rango de temperatura es más amplio (0-45°C) y pueden crecer a menor concentrado de oxígeno (Carrillo, 2003).

- ✓ **El desarrollo fúngico saprobio durante el almacenamiento de los materiales ya procesados.** La microbiota sobre y dentro de los vegetales afecta la calidad y el comportamiento, durante el acopio y el procesamiento de varios productos hortícolas. La competencia entre las poblaciones microbianas mixtas que se encuentran naturalmente suele constituir una desventaja para la producción de las micotoxinas. Cuando el contenido de agua aumenta el crecimiento se vuelve más vigoroso, conduciendo a un calentamiento espontáneo del sustrato y al desarrollo de especies termotolerantes tales como *Humicola*, *Rhizomucor* y *Absidia*, frecuentemente acompañadas por actinomicetos termófilos (Carrillo, 2003).

### 6.1.3 Producción de micotoxinas

Para el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas existen tres factores fundamentales que son condiciones, a saber:

- ✓ Físicos: humedad o agua libre y actividad de agua, temperatura, zonas de microflora, integridad física de los granos.
- ✓ Químicos: pH, composición del sustrato, nutrientes minerales, potencial de oxi-reducción, O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>.

- ✓ Biológicos: presencia de invertebrados, cepas específicas (Gimeno, 2011).

La ocurrencia y la magnitud de la contaminación por aflatoxinas varían con los factores geográficos y estacionales. En áreas tropicales y subtropicales como las costas de Guatemala donde la humedad y la temperatura son altas, se favorece considerablemente el crecimiento de hongos (Yalibat, 1997)

El metabolismo primario de los mohos es similar al de la mayoría de los organismos eucarióticos; los metabolitos secundarios son formados a partir de unos pocos intermediarios del metabolismo primario, bajo condiciones sub-óptimas y de estrés. Durante la biosíntesis de estos metabolitos, la cantidad producida depende no sólo de los parámetros nutricionales y ambientales, sino también de la historia del desarrollo del moho. La formación de las micotoxinas refleja que el hongo ha alcanzado cierto grado de diferenciación bioquímica, fisiológica y morfológica, conociéndose unas 300 toxinas fúngicas, las cuales son específicas (Carrillo, 2003).

Cuanto más compleja es la ruta biosintética de estos metabolitos secundarios, más restringido es el número de especies de hongos productores. Las esporidesminas son formados solamente por *Pitbomyces chartarum*. La aflatoxina B<sub>1</sub> es generada por tres especies estrechamente relacionadas *Aspergillus flavus*, *A. nomius* y *A. parasiticus*. La patulina es producida por unas once especies de *Penicillium*, tres de *Aspergillus* y dos de *Byssochlamys*. A continuación se muestran varias especies de hongos que producen micotoxinas. (Carrillo, 2003).

**Cuadro 1. Mohos que producen micotoxinas.**

| Mohos                           | Micotoxinas  |
|---------------------------------|--------------|
| <i>Aspergillus flavus</i>       | Aflatoxinas  |
| <i>Aspergillus parasiticus</i>  |              |
| <i>Alternaria alternata</i>     | Fumonisinias |
| <i>Fusarium fujikuroi</i>       |              |
| <i>Fusarium proliferatum</i>    |              |
| <i>Fusarium verticilloides</i>  |              |
| <i>Aspergillus alutaceus</i>    | Ocratoxina A |
| <i>Aspergillus alliaceus</i>    |              |
| <i>Aspergillus carbonarius</i>  |              |
| <i>Aspergillus melleus</i>      |              |
| <i>Aspergillus niger</i>        |              |
| <i>Aspergillus sclerotiorum</i> |              |
| <i>Aspergillus sulphureus</i>   |              |
| <i>Penicillium verrucosum</i>   |              |
| <i>Penicillium griseofulvum</i> |              |
| <i>Penicillium roqueforti</i>   |              |
| <i>Penicillium vulpinum</i>     |              |
| <i>Penicillium griseofulvum</i> |              |
| <i>Penicillium hirsutum</i>     |              |
| <i>Penicillium roqueforti</i>   |              |
| <i>Fusarium culmorum</i>        |              |
| <i>Fusarium crookwellense</i>   |              |
| <i>Fusarium equisati</i>        |              |
| <i>Fusarium graminearum</i>     |              |
| <i>Fusarium heterosporum</i>    |              |

Fuente: (Carrillo, 2003).

Es grande la variabilidad en la producción de metabolitos secundarios por una especie dada; por ejemplo: *P. roqueforti* produce algunas Micotoxinas en las condiciones de laboratorio pero no en los quesos madurados, los rendimientos de toxina T-2 por cepas de *F. sporotrichioides* varían considerablemente cuando crecen en el laboratorio, y no todas las cepas de *A. flavus* son aflatoxigénicas. Por otra parte, la temperatura tiene una gran influencia sobre el crecimiento y la actividad de los mohos; por lo que el género *Aspergillus* es más común en los trópicos, *Fusarium* en climas fríos y *Penicillium* predomina en las zonas templadas (Carrillo, 2003).

#### **6.1.4 Hongos toxigénicos y micotoxinas naturales**

Las Micotoxinas son ingeridas con alimentos o forrajes contaminados directa o indirectamente. La contaminación directa con un moho y la consecuente producción de toxina puede ocurrir durante la producción, el transporte, el procesamiento del alimento o forraje. Mientras que la contaminación indirecta se debe a la presencia de un ingrediente previamente contaminado con un moho toxigénico que ya ha desaparecido y cuya micotoxina persiste. La presencia de una micotoxina, y el peligro asociado, solo puede ser determinada después de la extracción e identificación de la misma por lo siguiente: la presencia del hongo no asegura que exista una micotoxina, la micotoxina continúa en el alimento aunque el moho haya desaparecido, un hongo dado puede producir más de una micotoxina (Carrillo, 2003).

La contaminación con Micotoxinas de los productos hortícolas y animales no es grande, mientras que la de los granos es variable. En el cuadro siguiente se indican algunos de los mohos toxigénicos y Micotoxinas que han sido hallados en frutas, hortalizas, productos de granja y granos diversos; aunque algunos mohos toxinogénicos no producen Micotoxinas sobre todos los substratos, no se presentan todas las toxinas que potencialmente podrían producir en los materiales amohosados (Carrillo, 2003).

**Cuadro 2. Mohos toxigénicos y micotoxinas en frutas, hortalizas, productos de granja y granos.**

| Productos    | Mohos toxigénicos                                | Toxina en el producto                                                                                           |
|--------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Almendras    | ...                                              | Aflatoxinas                                                                                                     |
| Arroz        | P.islandicum, A. niger, A. flavus, F. semitectum | ...                                                                                                             |
|              | ...                                              | Fumonisinias                                                                                                    |
|              | ...                                              | Aflatoxinas B <sub>1</sub> , G <sub>1</sub>                                                                     |
| Arveja       | A. Flavus                                        | Aflatoxinas                                                                                                     |
| Avena        | ...                                              | Desoxinivalenol, Zearalenona, T-2, HT-2, Neosolaniol, Ocratoxina A, Citrinina, Aflatoxina B <sub>1</sub>        |
| Berenjena    | A. Alternata                                     | ...                                                                                                             |
|              | Penicillium spp., A. spp.                        | Patulina                                                                                                        |
| Café         | ...                                              | Ocratoxina A                                                                                                    |
| Castaña Pará | ...                                              | Aflatoxinas                                                                                                     |
| Cayote       | F. sambucinum var coeruleum, F. equiseti         | Zearalenona, Toxina T-2                                                                                         |
| Cebada       | P. verrucosum, A. versicolor                     | Ocratoxina A, Citrinina, Esterigmatocistina                                                                     |
|              | ...                                              | Desoxinivalenol, Nivalenol, Zearalenona, Ocratoxina A, Citrinina, Esterigmatocistina, Aflatoxina B <sub>1</sub> |
|              | ...                                              | Desoxinivalenol, Zearalenona, Aflatoxinas, Ocratoxina A                                                         |
| Cerveza      | ...                                              | Fumonisinias B <sub>1</sub> y B <sub>2</sub>                                                                    |
|              | F. proliferatum, F. moniliforme, F. subglutinans | Fumonisina B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> y B <sub>3</sub>                                                     |
|              | A. Flavus                                        | Aflatoxinas                                                                                                     |
|              | ...                                              | Fumonisina B <sub>1</sub>                                                                                       |
| Embutidos    | ...                                              | Aflatoxinas                                                                                                     |
| Forraje      | Myrothecium spp.                                 | Tricotecenos macrocíclicos                                                                                      |
| Haba         | A. flavus, A. niger, A. tamarii, P.              | Aflatoxinas                                                                                                     |

|                 |                                                                                                                  |                                                               |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
|                 | chrysogenum                                                                                                      |                                                               |
| Higo            | A. flavus                                                                                                        | Aflatoxinas                                                   |
| Leche de vaca   | ...                                                                                                              | Zearalenona, Zearalenol $\alpha$ y $\beta$                    |
|                 | ...                                                                                                              | Aflatoxina M <sub>1</sub>                                     |
|                 | ...                                                                                                              | Ocratoxina $\alpha$                                           |
|                 | ...                                                                                                              | Esterigmatocistina                                            |
| Maíz            | A. flavus, A. ochraceus, A. niger.<br>A. clavatus, Penicillium spp.,<br>Fusarium spp.                            | Aflatoxinas                                                   |
|                 | ...                                                                                                              | Aflatoxinas B <sub>1</sub> y B <sub>2</sub> , Zearalenona     |
|                 | Fusarium sección Liseola                                                                                         | Fumonisinias B <sub>1</sub> y B <sub>2</sub>                  |
|                 | ...                                                                                                              | Fumonisinias B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> y B <sub>3</sub> |
|                 | F. graminearum, F. oxysporum, F.<br>subglutinans, F. moniliforme                                                 | ...                                                           |
|                 | A. flavus                                                                                                        | Aflatoxinas B <sub>1</sub> y B <sub>2</sub>                   |
| Maní            | A. flavus                                                                                                        | Aflatoxinas                                                   |
|                 | Myrothecium verrucaria, A. versicolor,<br>A. alternate, A. ochraceus, P.<br>aurantiogriseum, A. flavus, A. niger | Aflatoxina B <sub>1</sub> , Ocratoxina A                      |
| Pera            | ...                                                                                                              | Patulina                                                      |
| Polen apícola   | A. parasiticus                                                                                                   | Aflatoxinas                                                   |
| Queso           | P. camemberti, P. commune                                                                                        | Ácido ciclopiazónico                                          |
| Rastrojo maíz   | Fusarium crookwellense, F. poae, F.<br>subglutinans                                                              | Zearalenona, T-2,<br>Desoxinivalenol                          |
| Semilla algodón | Aspergillus flavus, A. niger, A. tamarii                                                                         | Aflatoxinas                                                   |
| Sorgo           | ...                                                                                                              | Aflatoxinas, Desoxinivalenol,<br>Zearalenona                  |

Fuente: (Carrillo, 2003).

### 6.1.5 Estudios realizados

El mayor peligro para el hombre por la ingestión de productos contaminados por aflatoxinas radica en el poder carcinógeno de estos metabolitos. En regiones de Sud-Sahara en África y Sur-Este de Asia se encontraron datos epidemiológicos que respaldan la relación positiva entre el consumo de aflatoxinas y el cáncer de hígado, enfermedad crónica que puede manifestarse después de muchos años (Yalibat, 1997).

Las concentraciones de micotoxinas se expresan en  $\mu\text{g}/\text{kg}$  ( $1/10_9$ ), lo que equivale a la relación que existe entre una regla de dibujo y la distancia entre la tierra y la luna. La acción de estas pequeñas cantidades es acumulativa manifestándose la enfermedad, en algunos casos, al cabo de meses o años. Esto ocurre principalmente con las toxinas mutagénicas. La aflatoxina  $B_1$  causa cáncer hepático y las fumonisinas parecen estar relacionadas al cáncer de esófago. Además, un factor adicional que aumenta la sensibilidad a las micotoxinas es la infección viral hepática. Entre los factores valorados para establecer unos límites a la presencia de Micotoxinas en los alimentos se encuentran:

- ✓ La distribución de la micotoxina en el producto,
- ✓ Las limitaciones inherentes al método de análisis,
- ✓ La evaluación de los riesgos y el potencial tóxico,
- ✓ La disponibilidad de alimentos para la población

En Argentina se impusieron límites entre 5  $\mu\text{g}$  de aflatoxina  $B_1/\text{kg}$  y 20  $\mu\text{g}$  de aflatoxinas totales/kg para el contenido en alimentos de consumo humano, pero las FAO y WHO establecieron 15  $\mu\text{g}$  de aflatoxinas totales/kg basadas en los posibles problemas económicos que generaría un nivel menor. Los niveles de contaminación de productos agrícolas con fumonisinas pueden alcanzar hasta 330 mg/kg, principalmente en los

destinados al consumo animal. El nivel medio en maíz de exportación es  $<0,3 \mu\text{g}$  fumonisina B<sub>1</sub>/g. la “International Agency for Research on Cancer” clasificó a estas Micotoxinas como posibles cancerígenos en humanos pero no se han establecido límites aunque se reconocen los efectos tóxicos cardiovasculares. La ingesta diaria por persona en Latinoamérica oscila entre 0,2 y 17.000  $\mu\text{g}$ . En el cuadro siguiente se presentan las afecciones provocadas por las Micotoxinas (Carrillo, 2003).

**Cuadro 3. Afecciones en el hombre provocada por la ingestión de micotoxinas.**

| Micotoxinas               | Afecciones                   |
|---------------------------|------------------------------|
| Aflatoxina B <sub>1</sub> | Inducción de cáncer hepático |
| Aflatoxina M <sub>1</sub> | Cancerígena                  |

Fuente: (Carrillo, 2003).

Las aflatoxinas son inmunosupresivas ya que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica interrumpiendo la síntesis de ADN, ARN y proteínas en el ribosoma. La absorción de los aminoácidos se ve alterada y la retención hepática de éstos aumenta. De una forma indirecta a través de la inmunosupresión, puede perjudicar la reproducción; el efecto inmunosupresivo predispone al organismo animal para que sea invadido por microorganismos patógenos, algunos de los cuales pueden dar lugar a problemas de mamitis (mastitis), agalactia y metritis. Parece ser que estas micotoxinas pueden producir alteraciones espermáticas en verracos, con una disminución en la concentración y supervivencia de los espermatozoides y un aumento de éstos anormales (Gimeno, 2011).

Una investigación realizada en 1979 en la Universidad de Nuevo León, México, sobre la incidencia de aflatoxinas en alimentos para cerdos,

aves y conejos se encontró que el 50% de las muestras estaban contaminadas con aflatoxinas, con niveles que oscilan entre 2 ppb hasta 1111 ppb (Yalibat, 1997).

**Cuadro 4. Afecciones en los animales provocadas por la ingestión de Micotoxinas.**

| Micotoxinas | Afecciones                                                                                                       |
|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Aflatoxinas | Daño hepático agudo, cirrosis, inducción de tumores, teratógenes; excreción por la leche, acumulación en tejidos |

Fuente: (Carrillo, 2003).

En 1965 se efectuó un estudio sobre la prevalencia de hongos en granos de maíz de Guatemala, analizándose 62 muestras de maíz, encontrando que los géneros diseminados frecuentemente en las muestras infectadas fueron: *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus*. Los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, abundantes en las muestras que tenían un tiempo largo de almacenamiento y un alto contenido de humedad. En el año de 1976 demostraron que los residuos de aflatoxinas pueden detectarse en los órganos y músculos del ganado vacuno, cerdos y pollos cuando consumen alimento contaminado con más de 100 ppb de aflatoxinas (Yalibat, 1997).

Estudios realizados sobre la incidencia de la contaminación por aflatoxinas en granos de la costa Sur-Oriental de Guatemala en 1979, investigando un total de 145 muestras, reportó alta contaminación por aflatoxinas. Siendo los niveles más altos en granos almacenados en la costa Sur por dos meses, el cual fue de 1650 ppb de una muestra de

maíz, este valor es 80 veces mayor que el límite establecido para granos (20 ppb) (Yalibat, 1997).

En 1997 Yalibat, en un análisis del tejido hepático vacuno, demostró que del total de las muestras investigadas el 13% presentaron contaminación Aflatoxinas; y, del 13% de las muestras contaminadas determinó a través de cuantificación comparativa, el 50% de ellas sobrepasan los estándares recomendados por la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) que es de 20 ppb.

#### **6.1.6 Prevención**

Es necesario que existen programas de buenas prácticas agrícolas, de fabricación y de higiene que funcionen satisfactoriamente, los cuales se describen a continuación:

- ✓ Buenas prácticas agrícolas  
Producción primaria: debe realizarse de manera que se asegure que los alimentos sean inocuos y sanos para el consumidor; la tierra utilizada para la producción de cultivos extensivos u hortícolas debe ser adecuada para el fin a que se destina y no debe haber estado contaminadas previamente con metales pesados, productos químicos industriales o residuos ambientales, ya que sus contaminantes peligrosos entrarían en la cadena alimentaria y harían que el producto no fuera apto para el consumo humano. Los agricultores deberán controlar la producción de manera que la contaminación de los cultivos, la proliferación de plagas y las enfermedades de animales y plantas no constituyan una amenaza para la inocuidad de los alimentos (FAO/OIEA, 2003).
- ✓ Buenas prácticas de fabricación  
Proyecto y construcción de las instalaciones: la estructura y emplazamiento de una planta de elaboración deberán planearse teniendo

en cuenta la naturaleza de las operaciones y los riesgos que las acompañen. Los locales destinados a alimentos deberán proyectarse de forma que se reduzcan al mínimo las posibilidades de contaminación de los productos, el diseño y la estructura deberán permitir la manutención, limpieza y desinfección de los locales para reducir al mínimo la contaminación transmitida por el aire, todas las superficies que estén en contacto con los alimentos no deberán ser tóxicas y fáciles de mantener y de limpiar, con el fin de prevenir toda contaminación adicional, deben haber medios adecuados para el control de la temperatura y la humedad y deberá haber medidas eficaces para prevenir el acceso de plagas (FAO/OIEA, 2003).

Control de las operaciones: deberán adoptarse medidas de control eficaces para reducir el riesgo de contaminación de los productos básicos o alimentos que se suministren, de manera que sean inocuos y adecuados para el fin a que se destinan; controles adecuados del tiempo, la temperatura o la humedad; envases de calidad alimentaria; suministro de agua potable y mantenimiento de equipo (FAO/OIEA, 2003).

Mantenimiento y saneamiento: deberá haber procedimiento e instrucciones para asegurar el mantenimiento adecuado del establecimiento, así como prácticas eficaces de limpieza, manejo de desechos y lucha contra plagas. En general, estas operaciones facilitarán el control constante de los peligros potenciales que pudieran contaminar los alimentos (FAO/OIEA, 2003).

Higiene personal: deberán adoptarse medidas para asegurar que los manipuladores de alimentos no contaminen los alimentos. Este objetivo puede alcanzarse manteniendo un grado apropiado de aseo personal y cumpliendo las directrices sobre higiene personal (FAO/OIEA, 2003).

Transporte: deberá realizarse de manera que se tomen medidas para prevenir toda contaminación o deterioro del producto. Las materias primas o productos que deban transportarse en determinados medios deberán ser controlados adecuadamente, por ejemplo, los productos refrigerados, congelados o almacenados en condiciones de humedad específicas. Los recipientes y medios de transporte para alimentos deberán mantenerse en buen estado y ser fáciles de limpiar y en transporte a granel, los recipientes se destinarán y utilizarán exclusivamente para los alimentos y se marcarán consecuentemente (FAO/OIEA, 2003).

Capacitación: todos los manipuladores de alimentos deberán recibir capacitación sobre higiene personal, así como sobre las operaciones concretas que hayan de realizar, a un nivel en consonancia con sus funciones. Los manipuladores de alimentos deberán además ser supervisados por personal capacitado. Para el éxito de un sistema de gestión de la inocuidad de los alimentos es fundamental que haya un programa de capacitación permanente de los manipuladores de alimentos (FAO/OIEA, 2003).

Información sobre los productos y sensibilización de los consumidores: el producto final deberá ir acompañado de información suficiente para asegurar que el personal de la fase siguiente de la cadena alimentaria manipulará, almacenará, elaborará, preparará y expondrá el producto de manera inocua. Dado que la fase última de control, es decir la cocción de la carne o pescado crudo, tal vez esté a cargo del consumidor, éste deberá disponer de toda la información pertinente necesaria para realizarla de forma eficaz. Todas las partidas de alimentos deberán poderse identificar fácilmente mediante un número de partido o de lote que permita rastrear el producto en caso necesario (FAO/OIEA, 2003).

El manejo correcto de los cultivos y cosechas, y el control de la calidad de los alimentos para los animales de la granja constituyen los únicos medios de prevención. Una vez formadas las Micotoxinas no se pueden eliminar durante el procesamiento culinario o industrial, aunque en unos pocos casos se reduce su contenido. La fermentación alcohólica no destruye las fumonisinas ni la planificación al desoxinivalenol pero algunos *Lactobacillus* inhiben la producción de toxinas. La presencia de cualquier alteración organoléptica de frutas u hortalizas es causa suficiente para rechazar el producto por la potencial formación de toxinas, debida al deterioro fúngico, las que se distribuyen con facilidad por todo el sustrato por ejemplo en los tomates aunque la ocratoxina A solo se halla en la superficie de los embutidos que se están secando. Por otra parte, es difícil prever la presencia de Micotoxinas al adquirir carnes, huevos y quesos “caseros”, sin conocer cuál era el estado de los animales y la calidad de los alimentos que consumían (Carrillo, 2003).

Puede encontrar aflatoxina M1 en leche dentro las 3 a 6 horas después del consumo de la AFB1 y persistió durante 72 horas después de haber dado la última dosis de micotoxina. Las aflatoxinas B1 y M1 fueron encontradas en la orina, 6 horas después del consumo de la AFB1 y persistieron durante 72 a 120 horas después de haber dado la última dosis de micotoxina (Gimeno, 2003).

#### **6.1.7 Normas**

En los Estados Unidos de América la Administración de Alimentos y Drogas –FDA- fija como guía para residuos de aflatoxinas totales una concentración de 20 ppb para todos los productos afectados, excepto para el maní para el cual ha propuesto una concentración de 15ppb. En muchos países como Suecia, Italia, Polonia y Holanda, se establece también un límite de 5ppb, mientras que en otros como Alemania y

Francia, no tienen regulación oficial. En suplementos proteínicos para niños desnutridos FAO/OMS (Organización para la Agricultura y la Alimentación/Organización Mundial de la Salud) propone un límite de 30 ppb. Para niveles de aflatoxinas en tejido animal específicamente, no existen normas. En Alemania se discute como posible un límite de 10 ppb. En Guatemala los límites adoptados por la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR) son de 20 ppb en grano; esta norma se adoptó en el mes de Agosto de 1981. No se dispone de límites para niveles de aflatoxinas en tejido animal. Las aflatoxinas M<sub>1</sub> y aún B<sub>1</sub> pueden aparecer en carne, leche y huevos, si los animales ingieren alimentos contaminados con aflatoxinas B<sub>1</sub> en niveles suficientemente alto.

En Europa y algunos países de América Latina cuentan con reglamentaciones específicas sobre presencia de Aflatoxina M<sub>1</sub>, con diferencias de entre los límites, de diez veces, dando discusiones en el Codex Alimentarius; FAO Y OMS a través del Codex Alimentarius establecieron un límite de 0,5 µg/kg (500 ppt) en leche, estableciéndose en el mismo rango Estados Unidos, República de Korea, Croacia, Eslovaquia, entre otros; Chile, Estonia, Honduras y países que integran la Unión Europea establecen un límite de 0,05 µg/kg = 50 ng/kg (50 ppt), actualmente Guatemala no posee una reglamento sobre límite de aflatoxina en leche y productos lácteos (FAO, 2004).

## VII. MARCO METODOLOGICO

### 7.1 Población

La presente investigación determinó la incidencia de Aflatoxina M1 en la leche entera fluida de vaca, en una población de 54 expendios, identificados en la ciudad de Chiquimula (ver anexo A13); según lo reportado por Monroy E., 2002.

### 7.2 Muestra

Se realizó un muestro aleatorio simple asumiendo varianza máxima, utilizando la fórmula que se describe a continuación:

$$n = \frac{N (Z^2) (p) (q)}{N (D^2) + Z^2 (p) (q)}$$

Donde:

**n = Muestra**

**N = Población**

**D = Precisión = 0.05**

**Z95% = 1.96**

**p = 0.5**

**q = 0.5**

Con un nivel de confiabilidad de la muestra calculada en base al 95%.

Por lo tanto:

$$N = \frac{54 * 1.96^2 * 0.25}{54 * 0.01^2 + 1.96 + 0.25} = \underline{\underline{n = 25.66 = 26}}$$

### 7.3 Técnicas de Observación

#### ✓ **Identificación**

Se identificaron y ubicaron 31 de los 54 expendios previamente señalados por Monroy, E., 2002, observando la presencia de un centro de copio creado recientemente. Se confirmó la presencia de los mismos en la ciudad de Chiquimula del departamento de Chiquimula; para asignar un código con el cual se sometieron a aleatorización para la toma de las muestras.

#### ✓ **Recolección**

Se visitaron los expendios un día antes de la recolección de las muestras para confirmar la compra de la leche fluída entera de vaca el día posterior, colectando una muestra con un contenido de 500 ml por expendio, para hacer un total de 26 muestras a ser analizadas, durante el mes de octubre correspondiente a la temporada de invierno.

Las muestras colectadas fueron llevadas al laboratorio de la Carrera de Zootecnia del Centro Universitario de Oriente (CUNORI) con su respectiva identificación de cada expendio, las cuales fueron incubadas a temperatura de 4<sup>0</sup> C durante cuatro horas para aislar las partículas grasas de la leche; luego se realizó durante cinco minutos el proceso de centrifugación para el total aislamiento y colección de leche para luego ser transportada al laboratorio de inmuno diagnóstico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, donde se realizó el análisis de presencia con el Kit Elisa Aflatoxin M1® (Renekabio).

## **7.4 Técnicas de recolección y análisis de datos**

### **7.4.1 Técnicas de recolección de datos**

#### **a. Identificación**

Los expendios fueron nombrados con un código que permitió su posterior aleatorización y recolección de muestras, el cual fue de C1 de forma correlativa.

#### **b. Aleatorización**

Posteriormente a la codificación de los expendios se realizó la aleatorización sin sustitución para la selección de los expendios a muestrear en la ciudad de Chiquimula.

### **7.4.2 Técnicas de análisis de datos**

En el laboratorio los reactivos fueron llevados a temperatura ambiente (19- 25<sup>0</sup> C) previo a su uso, luego se retiraron los pozos de la placa a utilizar según el número de muestras colectadas (26), con una micropipeta, utilizando puntas desechables se aplicó 200 µl de leche identificando a cada pozo previamente por expendio, luego se cubrió la placa con cinta aislante para evitar la evaporación y proteger de la luz UV en exceso y se incubó a temperatura ambiente durante dos horas.

Posteriormente a su incubación se desechó el contenido de los pozos y se lavó con PBS-Tween 20 por tres veces; colocando cara abajo la placa en un papel absorbente para eliminar el tampón de lavado residual. Consiguientemente se añadió 100 µl del conjugado a cada pozo, sellando e incubando a temperatura ambiente durante 15 minutos. Luego se repitió el lavado (tres veces) con PBS- Tween 20 y se añadió 100 µl de sustrato de la enzima (TMB) a cada pozo incubando durante 15 minutos. Inmediatamente se detuvo la reacción añadiendo 100 µl de solución de parada (SDS5), en un solución de 1/5. Cuando se observó el cambio de color de azul a amarillo

se colocó en el lector de microplacas con una calibración de 450 nm con un filtro de aire diferencial de 630 nm.

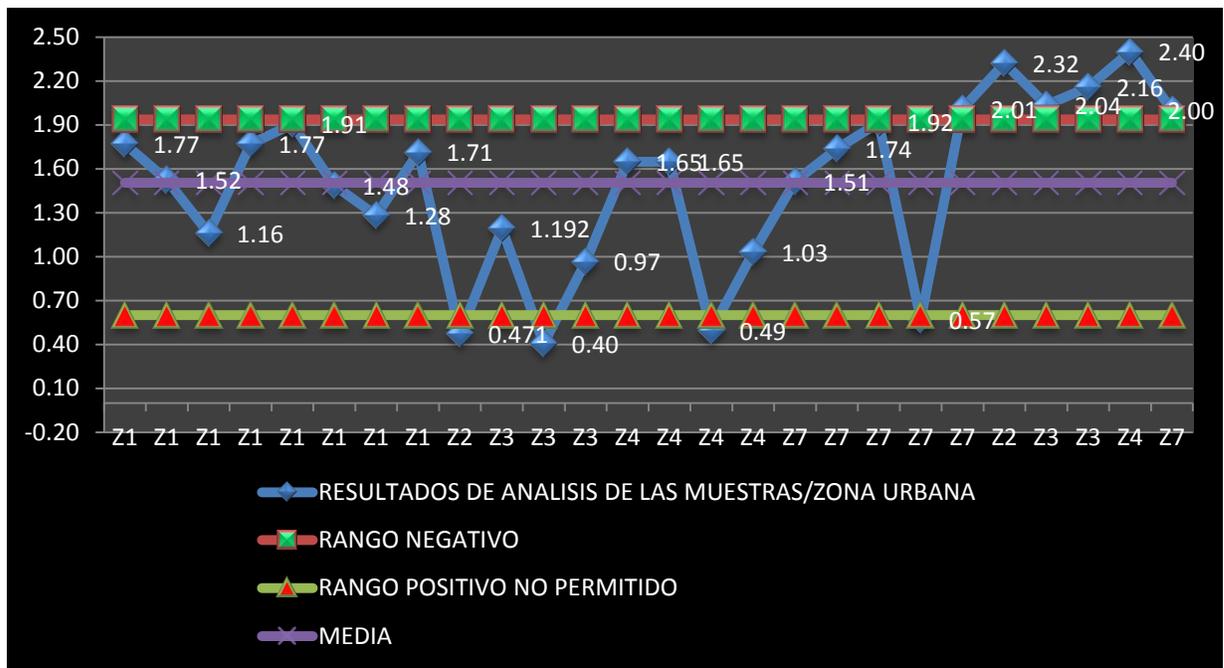
El análisis de los datos obtenidos de la técnica de Elisa para determinación de Aflatoxina M1 se realizó mediante el programa Statistical Analysis System (SAS), partiendo del rango establecido por la Unión Europea que va desde 50 ppt.

## VIII. RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a los resultados obtenidos del análisis efectuado mediante el kit Elisa Aflatoxin M1, a las muestras de leche fresca colectadas, existió presencia de Aflatoxina M1, en un 65% de la leche colectada en los expendios de la ciudad de Chiquimula, (17 muestras) y el 35% (9 muestras) obtubieron resultados negativos.

Guatemala por no contar con un límite de contaminación de Aflatoxina M1 en leche, se partió del límite establecido por la Unión Europea, en donde se determinó que cuatro muestras no son aptas para el consumo humano; sin embargo, analizando según los límites de Estados Unidos de Norteamérica y el Codex Alimentario de FAO, la leche de la ciudad de Chiquimula se encuentra en el rango permitido, ya que el límite máximo para estas organizaciones es de 500 ppt.

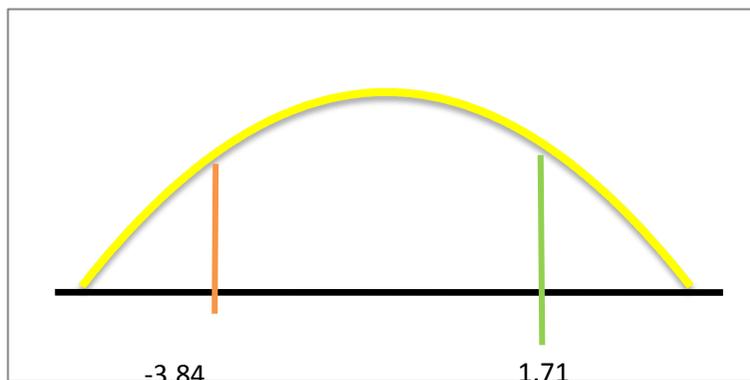
Según lo establecido por la norma del ***Reglamento mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones; Cuadro 3: Niveles máximos tolerados para las micotoxinas en los alimentos, en los productos lácteos y en las raciones animales*** (2003) (ver anexo A.11) adoptado por Honduras, en las muestras obtenidas en los expendios de la ciudad de Chiquimula despues de efectuado el análisis respectivo, se determinó que, del total de muestras colectadas el 85% se encuentran por debajo del límite máximo establecido en el reglamento antes mencionado; y el 15% es superior al límite establecido por el codex, cuyo limite corresponde a 50 ppt; lo cual le dá a esta última proporción la calidad de leche no apta para el consumo humano, lo cual se presenta en la Figura 3.



Fuente: Elaboración propia.

**Figura. 1. Comportamiento de los resultados obtenidos en análisis de Elisa kit Aflatoxin M1, en la ciudad de Chiquimula, Chiquimula, 2011.**

Para determinar la presencia de aflatoxina en los expendios de la ciudad de Chiquimula, se realizó un muestro por zonas urbanas, cuyos datos que fueron sometidos a un análisis estadístico univariado por medio del paquete estadístico SAS, del cual se obtuvo el análisis de las medidas de tendencia central y las medidas de dispersión. Este análisis muestra una media aritmética de 10 ppt (1.504 ng/L) lo que indica que la mayor proporción de muestras analizadas, está expuesta a aflatoxinas m1, siendo la concentración normal de 1.937 ng/L equivalente a cero, y en concentraciones mayores podrían causar cáncer en humanos, por lo que se puede concluir que la media de las muestras es mayor que el límite permitido como se muestra en la siguiente gráfica.



Fuente: Elaboración propia

**Figura 2. Curva de distribución de los datos de leche y su límite permisible de aflatoxina M1.**

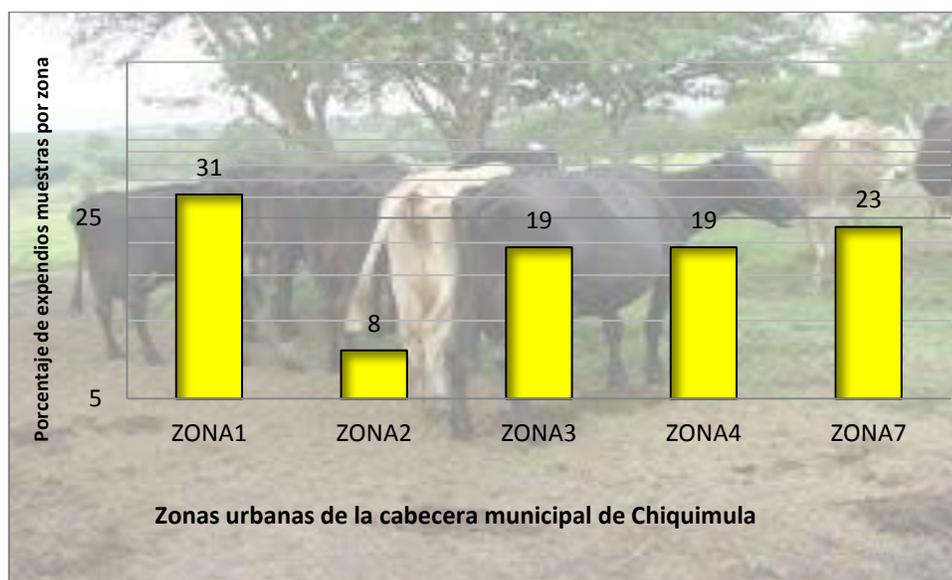
Debido a la naturaleza de los datos obtenidos en las muestras se determinó que existe dispersión en los datos, obteniendo una varianza de 0.329; la desviación estándar fue de 0.574 y el coeficiente de variación de 38%; esto indica que el comportamiento de las muestras según las zonas evaluadas fue irregular, existiendo zonas con altas concentraciones de aflatoxina m1 y otras en las que no existió presencia de aflatoxina m1.

Se realizó una prueba de T student para valores críticos de una cola, la cual determinó que existe diferencia significativa a  $Pr \geq 0.01$ , para dicha prueba fueron considerados 25 grados de libertad que garantiza que el modelo estadístico está ajustado al conjunto de datos, minimizando de esta forma el error asociado al factor humano; una vez establecido el análisis de la prueba se obtuvo una T calculada -3.84 y una T tabulada 1.71; por lo que, en este caso particular se puede concluir con un nivel de confianza del 99%, que existe la presencia de aflatoxina m1, en la leche fluida entera de los expendios muestreados en la ciudad de Chiquimula, del departamento de Chiquimula.

Para determinar la presencia de Aflatoxina M1 a través del Kit Elisa Aflatoxin M1 se tomó como referencia el codex alimentarius internacional que determina el límite permitido para diferentes países excepto Guatemala, sin embargo Honduras adoptó los rangos establecidos por Unión Europea que establece el nivel máximo de

contaminación de aflatoxina M1, con destino al consumo humano en leche, con valores menores o iguales a 50 ppt.

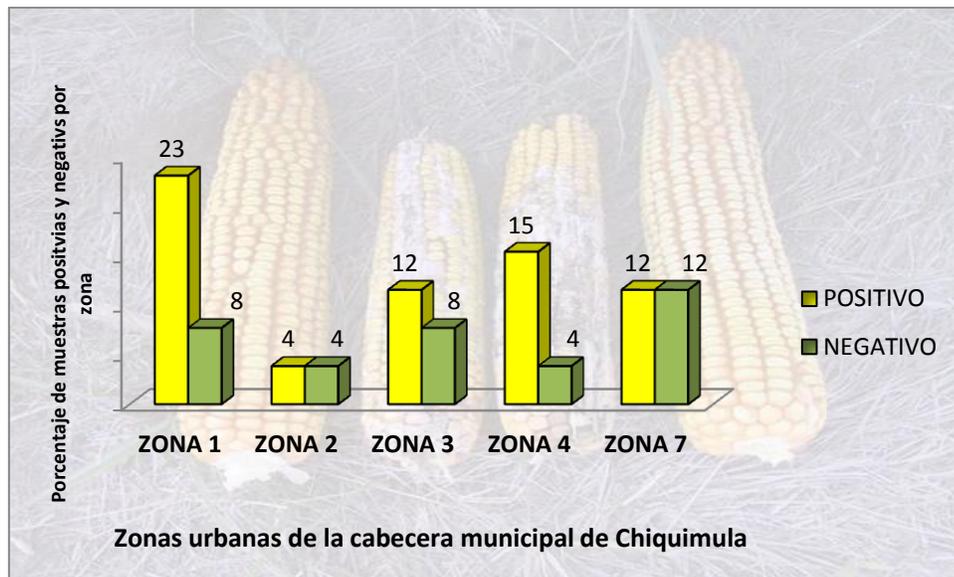
Con la finalidad de presentar una mayor comprensión se categorizaron las muestras colectadas en cada zona urbana de la ciudad de Chiquimula, siendo estas la Zona 1, 2, 3,4 y 7, tal como fueron extraídos en la aleatorización al completo azar, de expendios. Las cuales se muestran en la Figura 1.



Fuente: Elaboración propia.

**Figura 3. Distribución de 26 muestras colectadas en la ciudad de Chiquimula en porcentaje.**

Los datos obtenidos en las diferentes zonas de la ciudad de Chiquimula muestran que el mayor porcentaje de contaminación de Aflatoxina M1, en leche fresca, correspondieron a las zona 1, 4, 3, 7 y 2; en orden descendente por porcentaje de muestras contaminadas, lo cual se evidencia en la figura 2. que se presenta a continuación:



Fuente: Elaboración propia.

**Figura 4. Porcentaje de muestras positivas y negativas de Aflatoxina M1 en la leche fluida de bovinos, colectada en las diferentes zonas urbanas de la ciudad de Chiquimula, Chiquimula.**

Con relación a los costos necesarios para el desarrollo de la presente investigación se determinó que, los materiales y el transporte tanto de los materiales como de los insumos posee un valor total de Q. 5,536.25; sin embargo, no fue factible determinar el costo del análisis a nivel de laboratorio, ni del personal necesario para el análisis de las muestras, pues estas fueron realizadas por el estudiante tesista. Ver anexo A12.

## IX. CONCLUSIONES

1. El 65.38 % de las muestras colectadas de leche cruda de vaca en los expendios de la ciudad de Chiquimula muestra presencia de Aflatoxina M1, y el 34.62 % no exhibe ninguna presencia de Aflatoxina M1.
2. Al efectura el cálculo de incidencia de la presencia de Aflatoxina M1 en los expendios de la ciudad de Chiquimula, se determinó que ésta corresponde al 84.62% de los casos muestreados en el mes de octubre del año 2011.
3. Del total de la incidencia obtenida, el 15.38% presente niveles superiores a límite, según la reglamentación de la Unión Europea, por tanto, se considera no apta para el consumo humano.
4. El método ELISA para detectar la presencia de Aflatoxina M1 en la leche bovina se puede considerar una herramienta muy útil, debido a que permite analizar un gran número de muestras en un tiempo reducido, con una buena sensibilidad.
5. Al realizar la prueba de T student, se determinó un nivel de confianza del 99%, por tanto, se da por aceptada la hipótesis planteada en la presente de investigación, en donde la mayoría de muestras presentan contaminación con Aflatoxina M1.
6. Según los resultados del estudio, las leches contaminadas se localizan en las zonas 1 (23%), 4 (15%), 3 (12%), 7 (12%) y 2 (4%), de la cabecera municipal del departamento de Chiquimula.

## **X. RECOMENDACIONES**

1. Establecer a través de las entidades correspondientes proyecto de diagnóstico de la presencia de Aflatoxina, capacitaciones de sensibilización a productores lecheros e investigación de solución para combatir la afección en el animal.
2. Establecer una normativa conjuntamente COGUANOR y MAGA, con un límite de contaminación de Aflatoxina M1, en productos lácteos en Guatemala.
3. Continuar con investigaciones para determinar la presencia de Aflatoxina en otras regiones y productos lácteos de diferentes especies animales presentes en el país.
4. Dado el carácter explotario de la presente investigación, es importante impulsar que instituciones como el MAGA, profundicen en la investigación tanto en los centros urbanos como a nivel de la industria láctea nacional, la industria láctea importada y otras fuentes.
5. Para prevenir la presencia de aflatoxina se sugiere utilizar el código de prácticas para reducir la aflatoxina B1 presente en las materias primas y los piensos suplementarios para animales productores de leche por la Comisión del Codex Alimentarius, en anexo manual 1.

## XI BIBLIOGRAFÍAS

1. Carlson, MP *et al.* 2009. Aflatoxina M1 en la leche (en línea). México, Engormix. Consultado 14 abr. 2009. Disponible en <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/aflatoxina-leche-t315/p0.htm>
2. Carrillo, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes (en línea). Argentina, Universidad Nacional de Salta. 126 p. Consultado 14 abr. 2009. Disponible en <http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/htextocubierta.pdf>
3. Comisión de Codex Alimentarius, IT. 1997. Código de prácticas para reducir la aflatoxina B1 en las materias primas y los piensos suplementarios para animales productores de leche (en línea). Italia, FAO/OMS. 3 p. Consultado 05 jul. 2011. Disponible en [www.codexalimentarius.net/download/standards/331/CXP\\_045s.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/331/CXP_045s.pdf)
4. Enciclopedia libre Wikipedia. 2009. Aflatoxina (en línea). Consultado 01 jun. 2009. Disponible en <http://es.wikipedia.org/wiki/Aflatoxina>
5. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT); OIEA (Organización Internacional de Energía Atómica, IT). 2003. Manual sobre la aplicación del sistema de análisis de peligros y de puntos críticos de control (APPCC) en la prevención y control de las micotoxinas (en línea). Roma, IT. 136 p. Consultado 01 mar. 2012. Disponible en <http://www.fao.org/DOCREP/005/Y1390S/y1390s00.htm#Contents>

6. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación, IT). 2004. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003 (en línea). Roma, IT. 60 p. Consultado 05 jul. 2011. Disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5499s/y5499s00.pdf>
7. Gimeno, A. 2003. Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos. Buenos Aires, AR, Special nutrients, Inc. 159 p.
8. Gimeno, A *et al.* 2011. Micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos (en línea). 3 ed. Miami, US, Special nutrients, Inc. 130 p. Consultado 29 feb. 2012. Disponible en <http://specialnutrients.com/pdf/book/3%20edicion%20-MICOTOXINAS%20LR%20Secure.pdf>
9. Gonzales R, I; Godoy, BJ. 2001. Riesgos asociados al consumo de leche (en línea). España, Fundación Eroski Consumer. Consultado 14 abr. 2009. Disponible en <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2001/11/07/528.php>
10. Monroy M, E. 2002. Determinación de la calidad nutritiva e higiénica, de la leche fluida de vaca que se expende para el consumo humano en la ciudad de Chiquimula, Guatemala. Tesis Lic. Zoot. Chiquimula, GT, USAC, CUNORI. 40 p.

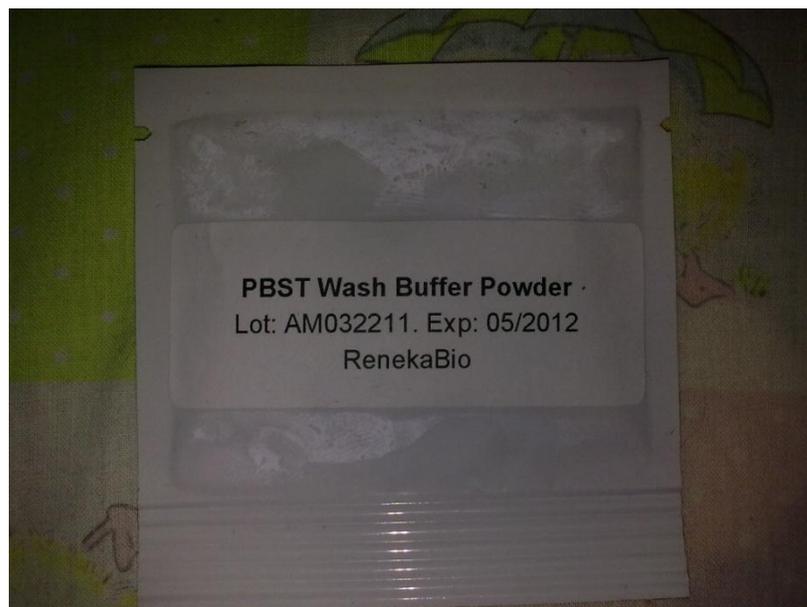
11. Peraica, M *et al.* 2000. Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano (en línea). Boletín de la Organización Mundial de la Salud 77 (9): 754-766. Consultado 29 feb. 2012. Disponible en <https://apps.who.int/bulletin/digests/spanish/number2/bu0024.pdf>
  
12. Santos C, OM. 2009. Importancia y efectos de la aflatoxina en los seres humanos (en línea). Colombia, Universidad Autónoma de Bucaramanga. 9 p. Consultado 14 abr. 2009. Disponible en <http://www.cepis.ops-oms.org/bvstox/e/fulltext/aflatoxi/aflatoxi.pdf>
  
13. Yalibat O, JE. 1997. Determinación de aflatoxinas en hígado de res que se comercializa en las carnicerías de la ciudad de Guatemala (en línea). Tesis Lic. Quím. Far. Guatemala, USAC. 42 p. Consultado 01 jun. 2009. Disponible en <http://www.biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06-1806.pdf>

## XI. APENDICE

**Figura 1A. Placa de pozos para prueba Aflatoxina M1.**



**Figura 2A. Reactivo buffer para prueba Aflatoxina M1**



**Figura 3A. Reactivos de Kit Elisa para detección de Aflatoxina M1.**



**Figura 4A. Estándares de concentración de Aflatoxina M1.**



**Figura 5A. Recolección de muestras de expendios de la ciudad de Chiquimula.**



**Figura 6A. Equipo utilizado para separación de ácidos grasos en laboratorio de Bromatología de la carrera de Zootecnia del Centro Universitario de Oriente de la Universidad de San Carlos de Guatemala.**



**Figura 7A. Recipientes de transporte de muestra de leche de los expendios de la ciudad de Chiquimula.**



**Figura 8A. Extracción de leche de los recipiente de recolección.**



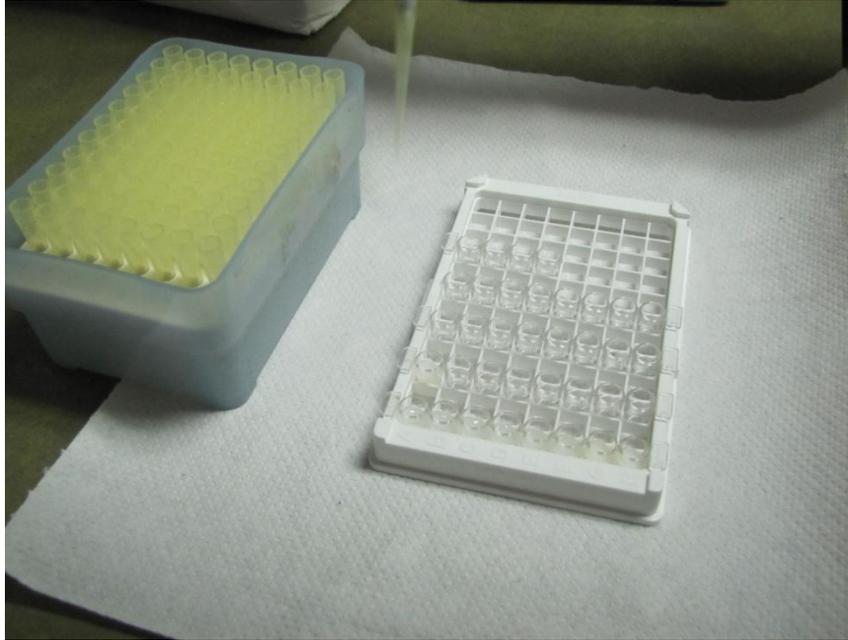
**Figura 9A. Centrifugación de leche colectada previo a su transporte al laboratorio de inmuno diagnóstico de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.**



**Figura 10A. PBS Tween disuelto en agua destilada para los lavados realizados en el proceso de detección de Aflatoxina M1.**



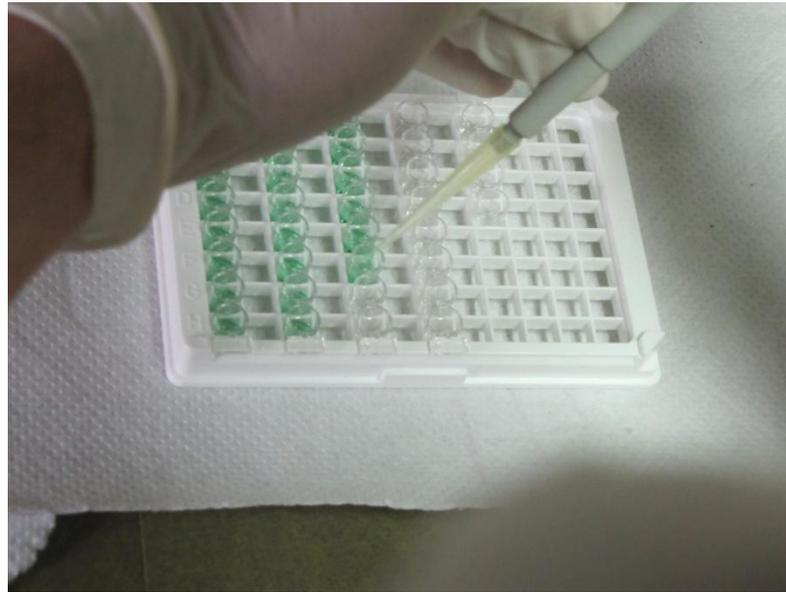
**Figura 11A. Placa con pozos utilizados con sus respectivas puntas de micropipeta desechables.**



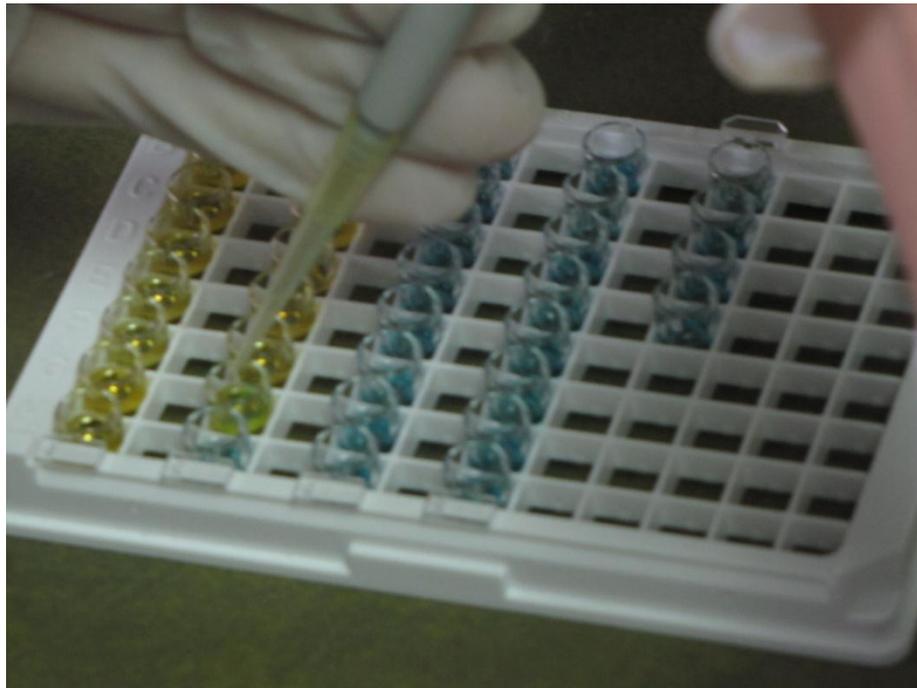
**Figura 12A. Realización de análisis de laboratorio con Kit Elisa para detección de Aflatoxina M1.**



**Figura 13A. Aplicación del conjugado a cada uno de los pozos.**



**Figura 14A. Reacción de aplicación del sustrato de enzima.**



**Figura 15A. Micropipeta de 200  $\mu$ l.**



**Figura 16A. Lector de placas de prueba de Elisa.**



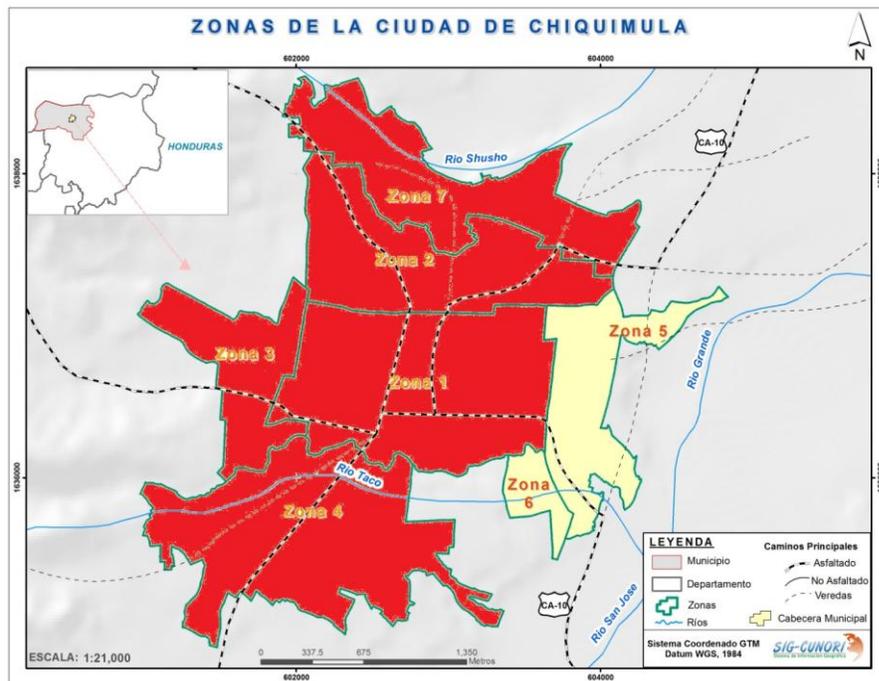
**Figura 17A. Lectura de muestras en lector de placas Elisa.**



**Figura 18A. Lectura de datos presentados por lector de placas Elisa.**



Figura 19A. Mapa de la ciudad de Chiquimula, departamento de Chiquimula.



## XII. ANEXOS

**Cuadro 1A. Cronograma de actividades**

| Actividad                             | Semanas |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
|---------------------------------------|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|
|                                       | 1       | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
| Identificación de expendios           | ■       | ■ | ■ | ■ |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
| Previa compra de leche                |         |   |   | ■ |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
| Recolección de muestras               |         |   |   |   | ■ |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
| Transporte de muestras al laboratorio |         |   |   |   | ■ |   |   |   |   |    |    |    |    |    |    |
| Análisis de ELISA                     |         |   |   |   |   | ■ | ■ | ■ |   |    |    |    |    |    |    |
| Análisis de SPSS                      |         |   |   |   |   |   |   |   | ■ | ■  | ■  |    |    |    |    |
| Informe Final                         |         |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    | ■  | ■  | ■  | ■  |
|                                       |         |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    | ■  | ■  | ■  | ■  |

**Cuadro 2A. Análisis de Varianza para la Variable de Presencia de Aflatoxina M1.**

| Media | Varianza | Desviación estándar | Error estándar | Coficiente de Variación |
|-------|----------|---------------------|----------------|-------------------------|
| 1.504 | 0.329    | 0.574               | 0.112          | 38.181                  |

**Cuadro 3A. Frecuencia de las muestras obtenidas por zona en el municipio de Chiquimula.**

| Procedencia | Frecuencia | Porcentaje | Frecuencia acumulada | Porcentaje acumulado |
|-------------|------------|------------|----------------------|----------------------|
| Zona 1      | 8          | 30.77      | 8                    | 30.77                |
| Zona2       | 2          | 7.69       | 10                   | 38.46                |
| Zona 3      | 5          | 19.23      | 15                   | 57.69                |
| Zona 4      | 5          | 19.23      | 20                   | 76.92                |
| Zona 7      | 6          | 23.08      | 26                   | 100                  |

**Cuadro 4A. Frecuencia de Aflatoxina M1 por zona distribuidos en la ciudad de Chiquimula.**

|         |            | POSITIVO | NEGATIVO |
|---------|------------|----------|----------|
| ZONA 1  | MUESTRAS   | 6        | 2        |
|         | PORCENTAJE | 23.08    | 7.69     |
| ZONA2   | MUESTRAS   | 1        | 1        |
|         | PORCENTAJE | 3.85     | 3.85     |
| ZONA3   | MUESTRAS   | 3        | 2        |
|         | PORCENTAJE | 11.54    | 7.69     |
| ZONA 4  | MUESTRAS   | 4        | 1        |
|         | PORCENTAJE | 15.38    | 3.85     |
| ZONA 7  | MUESTRAS   | 2        | 4        |
|         | PORCENTAJE | 7.69     | 15.38    |
| TOTALES |            | 16       | 10       |
|         |            | 61.54    | 38.46    |

**Cuadro 5A. Codificación, zonificación y resultado de laboratorio.**

|       |       |     |       |       |     |
|-------|-------|-----|-------|-------|-----|
| ZONA1 | 1.769 | C16 | ZONA4 | 2.4   | C23 |
| ZONA1 | 1.523 | C14 | ZONA7 | 1.513 | C1  |
| ZONA1 | 1.158 | C15 | ZONA7 | 1.737 | C2  |
| ZONA1 | 1.769 | C13 | ZONA7 | 1.916 | C3  |
| ZONA1 | 1.905 | C8  | ZONA7 | 2.009 | C4  |
| ZONA1 | 1.484 | C25 | ZONA7 | 0.569 | C5  |
| ZONA1 | 1.28  | C26 | ZONA7 | 2.001 | C6  |
| ZONA1 | 1.712 | C19 |       |       |     |
| ZONA2 | 0.471 | C21 |       |       |     |
| ZONA2 | 2.321 | C24 |       |       |     |
| ZONA3 | 1.192 | C9  |       |       |     |
| ZONA3 | 2.036 | C10 |       |       |     |
| ZONA3 | 2.156 | C11 |       |       |     |
| ZONA3 | 0.404 | C12 |       |       |     |
| ZONA3 | 0.965 | C7  |       |       |     |
| ZONA4 | 1.648 | C17 |       |       |     |
| ZONA4 | 1.648 | C18 |       |       |     |
| ZONA4 | 0.494 | C20 |       |       |     |
| ZONA4 | 1.029 | C22 |       |       |     |

**Cuadro 6A. Cuadro 3. Niveles máximos tolerados para las micotoxinas en los alimentos, en los productos lácteos y en las raciones animales (encuesta 2002/2003)**

| País                                                       | Producto                  | (Suma de) Micotoxina(s)                                          | Límite (µg/kg) | Base legal | Autoridad competente | Método de muestreo |      | Método analítico |      | Observaciones |
|------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------|------------|----------------------|--------------------|------|------------------|------|---------------|
|                                                            |                           |                                                                  |                |            |                      | situación          | ref. | situación        | ref. |               |
| <b>HONDURAS [HN] 2003: situación 1991 [FAO 1997 ref.1]</b> |                           |                                                                  |                |            |                      |                    |      |                  |      |               |
| Alimentos                                                  |                           |                                                                  |                |            |                      |                    |      |                  |      |               |
|                                                            | todos los alimentos       | afla B <sub>2</sub> G <sub>1</sub> G <sub>2</sub>                | 1              |            |                      |                    |      |                  |      |               |
|                                                            | maíz (molido o en grano)  | afla B <sub>1</sub>                                              | 1              |            |                      |                    |      |                  |      |               |
|                                                            | alimentos infantiles      | afla B <sub>1</sub> B <sub>2</sub> G <sub>1</sub> G <sub>2</sub> | 0,01           |            |                      |                    |      |                  |      |               |
|                                                            |                           | afla M <sub>1</sub>                                              | 0,02           |            |                      |                    |      |                  |      |               |
| Lácteos                                                    |                           |                                                                  |                |            |                      |                    |      |                  |      |               |
|                                                            | leche (productos lácteos) | afla M <sub>1</sub>                                              | 0,05           |            |                      |                    |      |                  |      |               |
|                                                            | queso                     |                                                                  | 0,25           |            |                      |                    |      |                  |      |               |

Fuente: FAO, 2004.

**Cuadro 7A. Rangos establecidos por Kit Elisa Aflatoxin M1.**

| ppt        | ng/L         |
|------------|--------------|
| <i>0</i>   | <i>1.937</i> |
| <i>5</i>   | <i>1.805</i> |
| <i>10</i>  | <i>1.546</i> |
| <i>25</i>  | <i>1.296</i> |
| <i>50</i>  | <i>0.877</i> |
| <i>100</i> | <i>0.666</i> |

### Cuadro 8A. Presupuesto general de costo de la investigación.

| No.          | Concepto                                                     | Cantidad  | Valor Unitario | Valor Total | Valor en quetzales |
|--------------|--------------------------------------------------------------|-----------|----------------|-------------|--------------------|
|              | Materiales                                                   |           |                |             |                    |
| 1            | Kit Elisa Aflatoxin M1                                       | 96 pozos  | \$. 325.00     | \$. 325.00  | Q 2,551.25         |
| 1            | Leche fluida entera de vaca                                  | 26 litros | Q. 5.00        | Q. 130.00   | Q 130.00           |
|              | Transporte                                                   |           |                |             |                    |
| 1            | Kit Elisa                                                    | 1         | \$. 300.00     | \$. 300.00  | Q 2,355.00         |
| 1            | Toma de muestras de leche a laboratorio de Zootecnia         | 1         | Q. 100.00      | Q. 100.00   | Q 100.00           |
| 1            | Muestras al laboratorio de la facultad de química y farmacia | 1         | Q. 400.00      | Q. 400.00   | Q 400.00           |
|              | Personal                                                     |           |                |             |                    |
|              | No definido                                                  | -         | -              | -           | -                  |
|              | Costo laboratorista                                          |           |                |             |                    |
|              | No definido                                                  | -         | -              | -           | -                  |
| <b>Total</b> |                                                              |           |                |             | <b>Q 5,536.25</b>  |

### Cuadro 9A. Boleta de resultados de Prueba Elisa Aflatoxin M1 en lector de placas.

STAT FAX 2100 :AD 10/13/11 13:27:23  
 Test form feed off \*101  
 ABSORBANCE MODE 12 PAGE 1  
 LOT NUMBER: \_\_\_\_\_ EXP. DATE: \_\_\_\_\_ USER: 10/13/11 13:27:51  
 WAVELENGTHS=630 NM  
 READ MODE: A to H

|       | A     | B     | C     | D     | E     | F     | G     | H     |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 1- 1  | 1.937 | 1.805 | 1.296 | 0.877 | 0.666 | 1.513 | 1.737 | 1.916 |
| 1- 2  | 0.001 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 1- 3  | 2.009 | 0.569 | 2.001 | 0.965 | 1.905 | 1.192 | 2.036 | 2.156 |
| 1- 4  | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.000 | 0.000 | 0.001 | 0.000 | 0.000 |
| 1- 5  | 0.404 | 1.769 | 1.523 | 1.158 | 1.648 | 1.648 | 1.712 | 0.494 |
| 1- 6  | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.000 |
| 1- 7  | 0.471 | 1.029 | 2.400 | 2.321 | 1.484 | 1.280 | 0.000 | 0.000 |
| 1- 8  | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 1- 9  | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 1- 10 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 | 0.001 |

END OF RUN

TEST ENDED

% ABSORBANCE MULTI-PT 8

PAGE 1

LOT NUMBER: \_\_\_\_\_

EXP. DATE: \_\_\_\_\_ USER: 10/13/11 13:48:21

WAVELENGTHS=

450NM 630 NM

TEST ENDED

## **Manual A1. Código de prácticas para reducir la aflatoxina B1 presente en las materias primas y los piensos suplementarios para animales productores de leche por la Comisión del Codex Alimentarius (FAO/OMS, 1997).**

### **Antecedentes**

La contaminación de los piensos por la aflatoxina B1 puede constituir un problema muy grave, cuya causa se debe en parte a condiciones inadecuadas de almacenamiento. La contaminación puede verificarse también en la fase anterior a la cosecha y agravarse a causa de condiciones inadecuadas de almacenamiento.

Las buenas prácticas de cultivo y el empleo de variedades de semillas producidas para resistir a la infestación fúngica de las semillas y plagas de insectos, así como el uso de plaguicidas adecuados y aprobados, representan medidas preventivas razonables para luchar contra la contaminación en el campo. Pero incluso aplicando esas prácticas, las condiciones creadas por el medio ambiente y/o las prácticas agrícolas tradicionales pueden, sin embargo, hacer fracasar cualquier medida preventiva.

Las prácticas que reducen la contaminación por la aflatoxina B1 en el campo y después de la cosecha deberían formar parte integrante de la producción de piensos, especialmente de los destinados al mercado de exportación, habida cuenta de las fases ulteriores de manipulación y transporte que se requieren para hacer llegar el producto a su destino final. Los medios más prácticos para evitar la infestación fúngica y la producción de la aflatoxina B1 consisten en secar y almacenar el pienso de forma apropiada antes del transporte. Los problemas que se crean por la excesiva humedad se multiplican enormemente cuando las técnicas de manipulación de los productos después de la cosecha son deficientes.

Las investigaciones realizadas sobre el destino biológico de la aflatoxina B1 (AFB1) en vacas lecheras lactantes han demostrado que se transmiten residuos a la leche en forma de aflatoxina metabolito M1 (AFM1). Aunque la AFM1 se considera

menos carcinógena que la AFB1 por lo menos en un orden de magnitud, su presencia en los productos lácteos debe limitarse a los niveles más bajos posibles. La cantidad de AFB1 ingerida diariamente que va a parar a la leche es del orden de 0,17 a 3,3%.

Para asegurar que la AFM1 no supere ese nivel en la leche, hay que prestar atención a los residuos de AFB1 presentes en la ración forrajera diaria de las vacas lecheras lactantes.

Hasta la fecha no se ha registrado ninguna aceptación oficial generalizada de un tratamiento de descontaminación destinado a reducir los niveles de la aflatoxina B1 presente en piensos contaminados. Al parecer la amoniación constituye la aplicación más práctica para la descontaminación de productos agrícolas, por lo que se le ha dado autorización regional (estado, país) limitada para poder emplearla en los piensos en condiciones especificadas (por ejemplo: tipo de producto, cantidad, animal). Tras investigaciones preliminares se ha sugerido también que añadiendo a los piensos contaminados por aflatoxinas el antiaglutinante "aluminosilicato cálcico sódico hidratado" pueden reducirse considerablemente los residuos de AFM1 presentes en la leche, según sea la concentración inicial de AFB1 presente en el pienso.

## **1. Prácticas recomendadas**

### **1.1 Producción de cultivos**

- ✓ Preparar la cama de siembra para el nuevo cultivo destruyendo o eliminando las cabezas o frutos de semillas (por ejemplo de maíz, maní (cacahuete), etc.) de cultivos susceptibles de acumular aflatoxinas.
- ✓ Realizar en lo posible análisis del terreno para determinar el grado de fertilización que se requiere y aplicar fertilizantes y acondicionadores del terreno para asegurar que el suelo tenga un pH y nutrientes de plantas adecuados para evitar situaciones de carencia a las plantas, especialmente durante el desarrollo de las semillas.

- ✓ Utilizar en lo posible variedades de semillas producidas para resistir a la contaminación fúngica y probadas sobre el terreno para que resistan al *Aspergillus flavus*.
- ✓ En la medida en que sea viable, sembrar y recoger los cultivos en épocas en que pueda evitarse toda situación de elevadas temperaturas y sequía durante el período de formación/maduración de las semillas.
- ✓ Reducir al mínimo los daños causados por insectos o infecciones fúngicas mediante el uso correcto de apropiados insecticidas y fungicidas aprobados y aplicando otras prácticas idóneas en el marco de un programa de lucha integrada contra las plagas.
- ✓ Aplicar buenas prácticas agronómicas, en particular medidas destinadas a reducir toda situación desfavorable para las plantas, tales como evitar su excesiva densidad, dejando entre las hileras y las plantas el espacio recomendado para la siembra de las especies/variedades cultivadas; mantener un entorno exento de malas hierbas para el cultivo en crecimiento mediante el uso de apropiados herbicidas aprobados y otras prácticas de cultivo idóneas; eliminar vectores fúngicos en las cercanías del cultivo y practicar la rotación de cultivos.
- ✓ Reducir al mínimo los daños mecánicos a las plantas durante el cultivo.
- ✓ El riego es un método valioso para reducir situaciones desfavorables para las plantas en determinadas condiciones de crecimiento. Si se utiliza el riego, asegurarse de que se aplique en forma uniforme y de que cada planta reciba un suministro suficiente de agua.

## 1.2 Recolección

- ✓ Recolectar los cultivos cuando estén completamente maduros, a no ser que por dejar que el cultivo llegue a su plena madurez se le exponga a condiciones extremas de calor, lluvias o sequía.

- ✓ En la medida de lo posible, evitar los daños mecánicos durante la recolección.
- ✓ Cuando proceda, secar lo más rápidamente posible los cultivos hasta llegar al contenido mínimo de humedad.
- ✓ Si los cultivos se recolectan con un grado de humedad elevado, secar inmediatamente después de la recolección.
- ✓ Evitar el apilamiento o amontonamiento de productos húmedos recién cosechados, dejando que pasen bastantes horas antes de secarlos o trillarlos, para reducir el riesgo de desarrollo fúngico.
- ✓ Asegurar una protección suficiente contra la lluvia durante el secado al sol.

### **1.3 Almacenamiento**

- ✓ Aplicar medidas adecuadas de saneamiento en las estructuras de almacenamiento, vagones, montacargas y demás contenedores para asegurar que los cultivos almacenados no se contaminen. Las condiciones apropiadas de almacenamiento incluyen estructuras secas y bien ventiladas que ofrezcan protección contra la lluvia o la infiltración de aguas subterráneas.
- ✓ Para los productos ensacados, asegurarse de que los sacos estén secos y limpios y estén apilados sobre tarimas, o disponer un estrato impermeable entre los sacos y el suelo.
- ✓ Asegurarse de que los cultivos que hayan de almacenarse estén libres de mohos e insectos y que se sequen hasta alcanzar niveles de humedad inocuos (lo ideal sería que los cultivos se secaran hasta llegar a tener un contenido de humedad en equilibrio con una humedad relativa del 70 por ciento).
- ✓ Impedir la infestación por insectos mediante el uso de apropiados insecticidas aprobados.

- ✓ Asegurarse de que las instalaciones de almacenamiento estén exentas de insectos y mohos, mediante un buen mantenimiento o el uso de apropiados fumigantes aprobados.
- ✓ Impedir el acceso de roedores y aves.
- ✓ Almacenar a la temperatura más baja posible. En la medida de lo posible, ventilar los productos almacenados a granel haciendo circular continuamente aire en el ambiente de almacenamiento para mantener una temperatura y humedad adecuadas.
- ✓ Utilizar conservantes autorizados idóneos, por ejemplo, un ácido orgánico como el ácido propiónico, que puede resultar beneficioso para hacer desaparecer mohos y hongos y evitar la producción de micotoxinas. Si se utilizan ácidos orgánicos, es importante que las cantidades añadidas sean suficientes para impedir la proliferación fúngica y sean compatibles con el uso final de los productos.

#### **1.4 Transporte**

- ✓ Asegurarse de que los contenedores y vehículos de transporte estén exentos de mohos, insectos y cualquier otro material contaminado, limpiándolos a fondo antes de utilizarlos o reutilizarlos. Tal vez conviene hacer una desinfestación periódica con apropiados fumigantes u otros plaguicidas aprobados.
- ✓ Proteger las expediciones contra la humedad empleando medios adecuados, tales como contenedores herméticos, cubiertas de lona alquitranada, etc. Cuando se utilicen lonas alquitranadas, hay que evitar que el producto pueda exudar, lo cual podría originar humedad local y aumento de la temperatura que son las condiciones principales para la proliferación fúngica.

- ✓ Evitar la infestación por insectos y roedores durante el transporte mediante el uso de contenedores resistentes a los insectos o tratamientos químicos para repeler insectos y roedores.

### **1.5 Producción de piensos y eliminación de piensos contaminados con AFB1**

- ✓ Asegurarse de que el equipo de molturación se tenga limpio, sin polvo ni acumulación de pienso.
- ✓ Aplicar un programa apropiado de muestreo y análisis para vigilar la presencia de AFB1 en las expediciones que salen o entran. Habida cuenta de que la concentración de AFB1 presente en las expediciones puede ser muy heterogénea, aplicar las recomendaciones de la FAO para los planes de muestreo. Ajustar la frecuencia de muestreo y análisis para tener en cuenta las condiciones que conducen a la formación de aflatoxina B1, el origen regional del producto y la experiencia anterior durante la temporada de crecimiento.
- ✓ Si se detecta la presencia de aflatoxina B1, hay que tomar en consideración una o más de las opciones que siguen. En todos los casos, asegurarse de que el nivel de aflatoxina B1 del pienso terminado sea adecuado para el uso al que está destinado (es decir: la madurez y las especies de animales que han de alimentarse) y que resulte coherente con los códigos y directrices nacionales o bien con el asesoramiento veterinario calificado.
- ✓ Considerar la posibilidad de reducir el pienso contaminado con AFB1 a un porcentaje de la ración diaria, de modo que la cantidad diaria de AFB1 ingerida no dé origen a una concentración significativa de residuos de AFM1 en la leche.
- ✓ Si no resulta práctico reducir el pienso contaminado, destinar los que estén altamente contaminados exclusivamente a animales no lactantes.