

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL



**“NIVELES DE AFLATOXINA EN ALIMENTOS Y LECHE CRUDA
EN ESTABLOS DE CRIANZA INTENSIVA DE LA COSTA DEL
PERÚ”**

Presentada por:

ALBERTINA IVONNE SALAZAR RODRÍGUEZ

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR
DOCTORIS PHILOSOPHIAE EN CIENCIA ANIMAL**

Lima – Perú

2023

Tesis Doctoral

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

INDICE DE SIMILITUD

18%

FUENTES DE INTERNET

7%

PUBLICACIONES

6%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

1%

★ Li Min, Dagang Li, Xiong Tong, Hao Sun, Weidong Chen, Gang Wang, Nan Zheng, Jiaqi Wang. "The challenges of global occurrence of aflatoxin M1 contamination and the reduction of aflatoxin M1 in milk over the past decade", Food Control, 2020

Publicación

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

Apagado

Excluir bibliografía

Activo

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

ESCUELA DE POSGRADO

DOCTORADO EN CIENCIA ANIMAL

**“NIVELES DE AFLATOXINA EN ALIMENTOS Y LECHE CRUDA
EN ESTABLOS DE CRIANZA INTENSIVA DE LA COSTA DEL
PERÚ”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR
DOCTORIS PHILOSOPHIAE**

Presentada por:

ALBERTINA IVONNE SALAZAR RODRÍGUEZ

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. María Helena Souza de Abreu

PRESIDENTE

Ph. D. Carlos Gómez Bravo

ASESOR

Dra. María Elena Villanueva Espinoza

MIEMBRO

Ph.D. Carlos Vílchez Perales

MIEMBRO

Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores

MIEMBRO EXTERNO

DEDICATORIA

A Dios por permitirme cumplir

Todos mis sueños.

A Santiago y Cristina mis padres, por

ser ejemplo de honradez, constancia

y superación

A Erika, Jerico, Josué y mi Ale, por ser

ese apoyo incondicional en todos

los proyectos personales y

profesionales

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Carlos Gómez Bravo, asesor de esta tesis, por su apoyo en la ejecución y culminación de esta investigación.

A las Dras. Maria Helena Souza, María Elena Villanueva y el Dr. Carlos Vílchez jurados de esta tesis.

Al Ing. Ivan López administrador del establo de Jequetepeque por dar todas las facilidades para realizar esta investigación.

Al proyecto de INNOVATE PERÚ del ministerio de la producción, por haber financiado gran parte del estudio.

A mis colegas y amigos, que a través de su amistad me han brindado apoyo en estos años de estudio.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
	2.1 CARACTERÍSTICAS DE LAS AFLATOXINAS	4
	2.2 CONTENIDO DE AFLATOXINA B ₁ EN ALIMENTO, AFLATOXINA M ₁ EN LECHE Y TASA DE TRANSFERENCIA EN VACUNOS.....	5
	2.3 EFECTOS DE LA AFLATOXINA B ₁ EN LOS VACUNOS	11
	2.4 EFECTOS DE LA AFLATOXINA M ₁ EN LA SALUD HUMANA.....	12
	2.5 ESTRATEGIAS PARA REDUCIR LA CONTAMINACIÓN DE AFLATOXINA B ₁ EN LA POSCOSECHA.....	13
	2.6. USO DE SECUESTRANTES PARA DISMINUIR LOS NIVELES DE ABSORCIÓN DE AFLATOXINA B ₁	15
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	19
	3.1. CONTENIDO DE AFLATOXINA B ₁ EN LOS ALIMENTOS Y AFLATOXINA M ₁ EN LECHE.	19
	3.1.1 Localización	19
	3.1.2 De los animales	19
	3.1.3 Caracterización de las condiciones de almacenaje de los alimentos usados en las raciones de los vacunos del establo	19
	3.1.4 Muestras de alimento	20
	3.1.5 Muestras de leche	21
	3.1.6. Cuantificación del contenido de Aflatoxina B ₁ en los alimentos.....	21
	3.1.7. Cuantificación del contenido de Aflatoxina M ₁ en leche.....	21
	3.1.8. Análisis estadístico.....	22
	3.2. EVALUACIÓN DEL USO DE UN SECUESTRANTE PARA DISMINUIR LA ABSORCIÓN DE AFLATOXINA B ₁	22
	3.2.1. De los animales y sus instalaciones	22
	3.2.2 De la alimentación.....	22

3.2.3 Muestras de leche	23
3.2.4. Cuantificación del contenido de Aflatoxina M ₁ en la leche.....	23
3.2.5. Tasa de transferencia de Aflatoxina B ₁ a Aflatoxina M ₁	24
3.2.6 De los tratamientos.....	24
3.2.7. Análisis estadístico.....	25
3.3 CONTENIDO DE AFLATOXINA B ₁ EN ALIMENTOS PARA VACUNOS.....	25
3.3.1 Localización	25
3.3.2. Muestras de alimento	25
3.3.3. Cuantificación de contenido de aflatoxinas B ₁	25
3.3.4. Análisis estadístico.....	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1. CONTENIDO DE AFLATOXINA B ₁ EN LOS ALIMENTOS Y AFLATOXINA M ₁ EN LECHE	27
4.1.1 Contenido de AFB ₁ en los alimentos	27
4.1.2 Caracterización del almacenaje de los alimentos usados en las raciones de los vacunos en el establo.	30
4.1.3 Contenido de aflatoxina M ₁ en leche	31
4.2 EVALUACIÓN DEL USO DE UN SECUESTRANTE PARA DISMINUIR LA ABSORCIÓN DE AFLATOXINA B ₁	33
4.2.1. Producción de leche	33
4.2.2. Contenido de Aflatoxina M ₁ en la leche	33
4.2.3. Tasa de transferencia de Aflatoxina B ₁ a Aflatoxina M ₁	36
4.3. CONTENIDO DE AFLATOXINA B ₁ EN ALIMENTOS PARA VACUNOS DE LA ZONA DE LURIN	38
V. CONCLUSIONES	41
VI. RECOMENDACIONES	42
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
VIII. ANEXOS	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Composición de la ración en kg por vaca por día, de febrero del 2018 a enero del 2019.	20
Tabla 2: Ración experimental suministrada a las vacas en lactación	23
Tabla 3: Distribución de los períodos experimentales y tratamientos.....	24
Tabla 4: Contenido promedio de AFB ₁ expresado en (µg/kg) en los diferentes insumos usados en la ración en un año	27
Tabla 5: Promedio mensual del contenido de AFB ₁ expresado en µg/kg porcentaje de positivos y límites mínimos y máximos en maíz, torta de soya, harina integral de soya, pasta de algodón y afrecho de trigo. (*LMR = Límite máximo residual).....	29
Tabla 6: Contenido de AFM ₁ en leche en µg/kg en los diferentes meses del año	32
Tabla 7: Efecto de los tratamientos sobre la producción de leche, el contenido de Aflatoxina M ₁ en leche y la tasa de transferencia de Aflatoxina B ₁ a Aflatoxina M ₁	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Límites a nivel mundial para la aflatoxina B ₁ en las raciones para ganado leche	9
Figura 2: Límites a nivel mundial para la aflatoxina M ₁ en leche	10
Figura 3: Estibado de sacos en almacén	31
Figura 4: Tasa de transferencia de Aflatoxina B ₁ a Aflatoxina M ₁ en los dos periodos experimentales	37

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Lista de cotejo de almacén (elaborado según manual de SENASA).....	56
Anexo 2: Estibado correcto de sacos en el almacén.....	57
Anexo 3: Protocolo para el muestreo de alimentos.....	58
Anexo 4: Muestreo de alimentos y equipo de análisis de AFB ₁	62
Anexo 5: Suministro de concentrado a las vacas del experimento.....	63
Anexo 6: Muestreo y equipo para análisis de AFM ₁	64
Anexo 7: Resultados de la producción de leche y contenido de AFM ₁	65
Anexo 8: Protocolo sugerido para prevenir contaminación con AFB ₁	66

RESUMEN

Las investigaciones sobre aflatoxinas en el Perú son limitadas, a pesar de que las aflatoxinas B₁ (AFB₁) y M₁ (AFM₁) requieren ser monitoreadas por su toxicidad. El objetivo del estudio fue evaluar la situación actual de contaminación de aflatoxinas y establecer estrategias que disminuyan su contenido. Por un año se evaluaron en un establo del norte del Perú 529 y 235 muestras de leche y alimentos respectivamente. El 16 por ciento de las muestras de leche excedieron el límite de la legislación europea de 0.05 µg/l, siendo la cantidad de AFM₁ mayor ($P < 0.05$) en diciembre, que en los otros meses del año. El 2.59, 20 y 50 por ciento del maíz, afrecho de trigo y pasta de algodón respectivamente, excedieron el límite de la legislación europea de 5 µg/kg para AFB₁. La torta de soya y la harina integral de soya presentaron contenido de AFB₁, sin exceder el límite. Siendo una de las estrategias para disminuir el contenido de AFM₁ en leche el uso de secuestrantes (fragmentos de levaduras), se realizó un estudio con 12 vacas a las cuales se le adiciono al concentrado 160.6 µg de AFB₁. Las vacas fueron divididas en dos tratamientos (T1) solo ración contaminada, (T2) ración contaminada más secuestrante. El secuestrante disminuyó el contenido de AFM₁ en el 42 por ciento de las muestras de leche por debajo del LMR que señala la FDA de 0.5 µg/l. Sin embargo, no hubo diferencias ($P > 0.05$) entre los tratamientos. Adicionalmente, se realizó en Lurín el monitoreo de maíz, torta de soya y afrecho de trigo en dos estaciones del año (invierno y verano). Solo una muestra de maíz tomada en el invierno estuvo sobre el LMR de 5 µg/kg de AFB₁, el contenido de las demás muestras estuvo por debajo del LMR. No encontrándose diferencias ($P > 0.05$) entre estaciones del año.

Palabras clave: Aflatoxinas, tanque de leche, alimentos, almacenamiento, secuestrantes.

ABSTRACT

Research on aflatoxins in Peru is limited, although aflatoxins B₁ (AFB₁) and M₁ (AFM₁) require monitoring due to their toxicity. The aim was to contribute to the safety of milk by evaluating the current situation of aflatoxin contamination and to establish strategies to reduce its content. For one year, 529 and 235 milk and feed samples were evaluated in a dairy in northern Peru. Sixteen percent of the milk samples exceeded the European legislation limit of 0.05 µg/l, with the amount of AFM₁ being higher ($P < 0.05$) in December than in the other months of the year. 2.59, 20 and 50 percent of maize, wheat middling and cottonseed meal exceeded the European legislation limit of 5 µg/kg for AFB₁. Soybean meal and whole soybean meal had AFB₁ content but did not exceed the limit. As one of the strategies to reduce the AFM₁ content in milk is the use of sequestrants, a study was carried out with 12 cows to which 160.6 µg of AFB₁ was added to the ration. The cows were divided into two treatments (T1) contaminated ration only, (T2) contaminated ration plus sequestrant (yeast fragments). The sequestrant was able to decrease the AFM₁ content in 42 percent of the milk samples tested below the FDA MRL of 0.5 µg/l, no differences ($P < 0.05$) were found between treatments. Monitoring of maize, soybean cake and wheat bran was carried out in Lurín in two seasons (winter and summer). Only one maize sample taken in the winter was above the MRL of 5 µg/kg AFB₁, the content of the other samples was below the MRL. No differences ($P < 0.05$) were found between seasons.

Keywords: Aflatoxins, milk tank, feedstuff, storage

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú los establos lecheros que tienen un sistema de crianza intensiva representan el 46.2 por ciento del total nacional y están ubicados generalmente en la costa. En Lima se encuentra el 17.7 por ciento y en La Libertad el 24.3 por ciento de los establos que utilizan este sistema. Cajamarca y La Libertad forman la Cuenca Lechera Norte del país, siendo la más importante en volumen de producción con el 24.8 por ciento de la producción nacional, le sigue la Cuenca Lechera Centro que está conformada por Lima, Junín e Ica, las que aportan el 23.3 por ciento de la producción, siendo Lima quien contribuye con el 18.1 por ciento (MINAGRI 2017).

La alimentación en estos sistemas de crianza intensiva se basa en concentrados y forrajes, alimentos que pueden estar contaminados con micotoxinas y dentro de ellas las aflatoxinas, las cuales son metabolitos tóxicos, producidos por diferentes especies de hongos del género *Aspergillus*, particularmente *A. flavus* y *A. parasiticus*. Estos hongos se encuentran como contaminantes naturales en alimentos cuando las condiciones ambientales de temperatura y humedad lo favorecen tanto en la cosecha, transporte, almacenamiento y/o durante la preparación de las raciones. La aflatoxina B₁ (AFB₁) se produce en los granos, especialmente en maíz y semillas de algodón; siendo estos los principales alimentos con los cuales se preparan las raciones de las vacas lecheras.

La AFB₁ al ser ingerida con la ración por los animales, es biotransformada en aflatoxina M₁ (AFM₁), la que luego será excretada a través de la leche. La AFB₁ y AFM₁ son sustancias hepatotóxicas, inmunosupresoras y carcinogénicas, de allí su importancia en la salud humana y animal, tal como lo señala la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC 2002). Además, el proceso de transformación de la leche en sus derivados no destruye la AFM₁ (Hussain *et al.* 2010).

En el Perú no hay una legislación específica que norme el contenido de aflatoxinas en alimentos o en leche. Sin embargo, se toma como referencia Límite Máximo Residual (LMR) del Codex alimentario (20 µg/kg de AFB₁ para alimentos y 0.5 ug/l para AFM₁) como primera instancia, que se basa en lo establecido por Food and Drug Administration (FDA) y finalmente la regulación de la Unión Europea que señala 0.05 µg/kg de AFM₁ en leche y 5 µg/kg de AFB₁ para alimentos (MINAGRI 2017).

En el país existe poca información sobre la contaminación existente de AFB₁ y AFM₁ tanto en alimentos o en leche. Siendo la leche un alimento de consumo preferentemente para niños y adolescentes, ya sea en forma directa o transformado en otros productos, se hace necesario conocer el nivel de contaminación existente. A nivel mundial se han realizado diferentes estudios que llevan a conocer el nivel de contaminación de estos alimentos, con la finalidad de implementar diferentes estrategias para eliminar o disminuir el contenido de AFB₁, sobre todo en los granos con los que se alimentan los animales. Estas estrategias están relacionadas con buenas prácticas de almacenamiento, monitoreo constante de los alimentos y de la leche, uso de secuestrante e identificación de las épocas del año relacionadas con el mayor contenido de AFB₁.

En los últimos años, se ha investigado el uso de secuestrantes de aflatoxinas como una estrategia prometedora para reducir la exposición a estas toxinas en la leche. Los secuestrantes son productos que se incorporan a la ración de los animales con la finalidad que se unan a la AFB₁ y de esta forma disminuyan su absorción a nivel gastrointestinal y pueda ser eliminada a través de las heces, evitando así, que sea absorbida a la sangre, pase al hígado y se transforme a AFM₁. Los secuestrantes pueden ser de origen orgánico o inorgánico, los orgánicos son levaduras o sus partes y algunas bacterias, los inorgánicos son los aluminosilicatos y el carbón activado. Por sus propiedades de unión con la AFB₁ es que estos productos son una estrategia para reducir el contenido de AFM₁ en leche y en sus derivados.

Diferentes estudios han evaluado la eficacia de los diferentes secuestrantes; aluminosilicatos y fragmentos de levaduras entre los más comunes en diferentes condiciones y en diferentes especies, como las aves y los cerdos, siendo menos estudiado en los rumiantes. Los resultados de estos estudios son alentadores, ya que se ha obtenido una reducción de AFM₁

en la leche. Sin embargo, a pesar de los avances aún existen desafíos y limitaciones en el uso de secuestrantes de aflatoxinas, como la selección adecuada del secuestrante y la dosificación óptima.

Por lo cual, el objetivo general de esta investigación fue contribuir con la inocuidad de la leche, a través de conocer la situación actual de contaminación de aflatoxinas y evaluar una estrategia que disminuya su contenido, teniendo los siguientes objetivos específicos: 1) cuantificar los niveles de AFB₁ en los alimentos, AFM₁ en leche en sistema de crianza intensiva. 2) evaluar el uso de un secuestrante (fragmentos de levaduras y carbonato de calcio) de AFB₁ para disminuir los niveles de AFM₁ en leche y 3) cuantificar el contenido de AFB₁ en alimentos para vacunos, en dos estaciones del año.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CARACTERÍSTICAS DE LAS AFLATOXINAS

Las aflatoxinas son micotoxinas producidas por hongos del género *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, generalmente se producen durante la cosecha o el almacenamiento de los productos agrícolas (Bilandžić *et al.* 2015). Las aflatoxinas están presentes a nivel mundial, ya que el *Aspergillus* crece a temperaturas que varían entre los 25 y 30 °C, y con una humedad relativa del 70 por ciento (Hussein y Brasel 2001). La Aflatoxina B₁ (AFB₁) es consumida tanto por animales como humanos a través de los cereales y las semillas contaminadas, siendo la más tóxica y con mayor poder cancerígeno por lo que es clasificada dentro del Grupo I de compuestos carcinógenos para humanos (IARC 2002).

La AFB₁ al ser consumida a través de la ración por los rumiantes, parte de ella es destruida por la microbiota del rumen en un porcentaje que va del 0 al 48 por ciento, lo cual favorece la desintoxicación, pero esto puede saturarse, lo que traería una mayor concentración de AFM₁ en la leche (Díaz 2002; Tolosa *et al.* 2021), la fracción restante es absorbida y transportada al hígado donde se transforma en 8, 9-dihidro-8, 9-diol, AFB_{2a}, AFP₁, AFQ₁, AFM₂ y en Aflatoxina M₁ (AFM₁), para ser eliminadas por medio de la orina, la bilis y las heces, además de la leche.

La AFM₁ resulta del proceso de hidroxilación del Carbono 4 de la estructura molecular de la AFB₁ por acción de enzimas oxidasas asociadas al Citocromo P450 de los microsomas de los hepatocitos (Bilandzic *et al.* 2016; Hashemi 2016). Durante ese proceso oxidativo, la AFB₁ es transformada sucesivamente en dos intermediarios el Aflatoxicol y el Aflatoxicol M₁ antes de convertirse en la AFM₁, ya en esa forma final es excretada por medio de la leche o de los huevos (Bilandzic *et al.* 2016).

La AFB₁ alcanza su máxima concentración en el rumen a las 4 horas de haber sido ingerida, y puede ser detectada de 32 a 72 horas de su ingestión, mientras que la AFM₁ a las 8 horas comienza a aparecer en la leche. Su máxima concentración se puede encontrar a los 2 días

(Dragacci *et al.* 2001) y desaparece entre los 2 – 3 días después de la ingestión de alimento libre de AFB₁ (Tsakiris *et al.* 2013). La fisiología digestiva de los rumiantes provoca que las cantidades de AFM₁ en la leche varíen entre animales, de un día para otro y de la cantidad de leche que produce cada animal, también se ha observado un incremento de aflatoxinas en el periodo invernal (Prandini *et al.* 2009).

La AFM₁ puede detectarse en leche y derivados lácteos por ser termoestable por lo que resiste la pasteurización, esterilización y también otros procedimientos recurrentes en el procesamiento de alimentos, por lo que tratamientos convencionales no inactivan a la molécula ni reducen su posible efecto carcinogénico e inmunosupresor (Bilandzic *et al.* 2016 y Omar 2016). Las condiciones que favorecen la presencia de aflatoxinas en los granos y alimentos están relacionadas con tensión durante el crecimiento de las plantas, la contaminación del producto en el campo, almacenamiento no adecuado, las poblaciones de insectos y ácaros, el daño por aves, la nutrición mineral de la planta y la temperatura ambiente y humedad (Bogantes-Ledezma *et al.* 2004)

2.2. CONTENIDO DE AFLATOXINA B₁ EN ALIMENTO, AFLATOXINA M₁ EN LECHE Y TASA DE TRANSFERENCIA EN VACUNOS

La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) señala que a nivel mundial el 25 por ciento de los cultivos se ven afectados por la contaminación de micotoxinas cada año, con pérdidas anuales de mil millones de toneladas de alimentos. Aproximadamente el 9.8 por ciento de las muestras analizadas en todo el mundo han superado el LMR establecido en la Unión Europea para la AFM₁ (0.05 µg/l) y se han encontrado niveles bajos de otras micotoxinas (Flores-Flores y González-Penas 2018).

En el estudio realizado por Whitlow (2006) en Estados Unidos de Norte América, se reportó que el maíz y en ensilado de maíz, contenían en promedio 170 µg/kg de AFB₁. Mientras que en China Xiong *et al.* (2018) en el análisis realizado a 174 muestras de alimento, encontraron que el 35.1 por ciento de las muestras eran positivas a AFB₁, con un valor promedio de 24.4 µg/kg. El contenido de AFB₁ en maíz fue de 33 µg/kg, en el afrecho de trigo fue de 9.8 µg/kg, la torta de soya 1.7 µg/kg y la pasta de algodón 2.9 µg/kg, en el mismo estudio se analizaron 131 muestras de leche pasteurizada, donde se encontró que el 91,6 por ciento de las muestras contenía AFM₁, con un valor promedio de 0.13 µg/l de AFM₁; contenido superior a la norma de 0.05 µg/l de la Unión Europea. La torta de soya presenta la fitoalexina la cual inhibe la

contaminación de AFB₁ producida por el *Aspergillus*. Las fitoalexinas son metabolitos secundarios de naturaleza química principalmente flavonoides, que se sintetizan en los vegetales después de una infección bacteriana, viral o fúngica (Song y Karr 1993).

El maíz es el segundo cultivo de mayor producción a nivel mundial (FAO 2015) y es muy susceptible a la contaminación por mohos. Los cuales pueden producirse cuando el maíz está en maduración, ya que sufre estrés por sequía, por insectos o cuando el maíz cosechado no se seca en el tiempo requerido. Se debe secar hasta lograr un contenido de humedad inferior al 15 por ciento y esto debe lograrse entre las 24 a 48 horas después de la cosecha, lo que inhibirá la presencia del *Aspergillus*. El maíz también puede contaminarse durante el almacenamiento si la humedad excede los valores críticos, o si hay plagas de insectos (Negash 2018). De Rijk *et al.* (2015) informaron de un brote de contaminación con AFB₁ en las raciones para animales en Italia 2003 y 2008, y en los Balcanes en el año 2013, lo que fue notificado a la Unión Europea, la contaminación ocurrió en el maíz y se relacionó con el cambio climático.

En el año 2020, se realizó un estudio con la finalidad de conocer el contenido y tipo de micotoxinas que presentaba el maíz en cuatro continentes (África, Asia, América Latina y Europa), se reportó que en los cuatro continentes donde se muestreó el maíz, la micotoxina que prevaleció fue la Fumonisina en el 85 por ciento de las muestras, la Deoxivalenol en el 29 por ciento, la AFB₁ en el 16 por ciento, la Toxinas T-2/HT-2 en el 9 por ciento y la Zearalenona en el 16 por ciento. Los niveles de contaminación más altos para AFB₁, se encontraron en África (Costa de Marfil) con 264 µg/kg, seguido de Europa (Serbia) con 54 µg/kg, Asia (Tailandia) con 6 µg/kg y América Latina (República Dominicana) con 1 µg /kg de maíz. En este estudio se incluyó al Perú, donde las muestras analizadas estuvieron por debajo del límite de cuantificación para AFB₁ (Raj *et al.* 2020).

En el estudio realizado por Costamagna *et al.* (2018) en Argentina donde se muestrearon los alimentos de las 2 provincias más importantes en producción de leche (34 tambos), se encontró que el contenido más alto de AFB₁ estuvo en los meses de otoño – invierno (6.32 µg /kg), comparado con los meses de primavera - verano (2.27 µg /kg), similar resultado fue encontrado por Bervis (2021) quien reportó que en España en los meses de invierno el contenido de AFB₁ en las raciones fue mayor (0.73 µg/kg) en comparación con el verano

(0.53 $\mu\text{g}/\text{kg}$), en este estudio se relacionaron estos resultados con la cantidad de maíz que es usada en invierno. Sin embargo, Hernández y Navarro (2015) encontraron que en la estación de primavera el contenido de AFB₁ fue mayor en invierno, seguido del verano y que el otoño tuvo la menor contaminación.

En Colombia en un estudio realizado en 20 fincas, donde se tomaron igual número de muestras de leche se encontró que el 45 por ciento de las muestras estuvieron por encima del LMR que es de 0.4 $\mu\text{g}/\text{l}$, según las recomendaciones colombianas para este producto (Vásquez 2006). En Uruguay, se recolectaron 18 muestras de tres departamentos, todas las muestras de leche presentaron contenido de AFM₁, en un rango comprendido entre 0.05 a 0.08 $\mu\text{g}/\text{l}$, de estas, el 11 por ciento presentó contenido superior a 0.05 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Capelli *et al.* 2019).

En Argentina se recolectó 160 muestras de leche durante un año de las principales ciudades productoras y se encontró que el 38.8 por ciento de las muestras fueron positivas a AFM₁ según la norma de MERCOSUR (0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$). En un estudio realizado en 10 centros de acopio de leche en la ciudad de Guadalajara (México) se encontró que el 18.6 por ciento (25/134) de las muestras superaron el LMR establecido por la Unión Europea, sin embargo, no superaron la norma mexicana que establece 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ como LMR (Landeros *et al.* 2012).

Mientras que, en el estudio realizado en la ciudad de Jalisco en 40 establos lecheros, se encontró que el 92.5 por ciento de las muestras de alimento presentaban contaminación de AFB₁, pero solo el 9.3 por ciento presentaba contenido de AFB₁ superior al valor permitido por las Normas Oficiales de mexicanas (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$). El 80 por ciento de las muestras de leche presentó contenido de AFM₁, pero ninguna de las muestras sobrepasó el nivel permitido por la regulación mexicana (Reyes *et al.* 2009).

En el Perú existe poca información sobre la contaminación existente tanto en alimentos como en leche. En Lima se analizó maíz nacional e importado de consumo animal, encontrándose que el 20 por ciento de las muestras, presentaba contenido de AFB₁, el maíz importado tenía un contenido promedio de 2.65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en comparación con el maíz nacional que en promedio tuvo 5.95 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Caballero *et al.* 2001). En el análisis realizado en harina de soya en cuatro molinos de la ciudad de Chincha se encontró 1.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB₁, cantidad por debajo de lo

considerado por la Unión Europea, por lo que se consideró que su consumo no era un riesgo en el área (Guerrero y Parreño 2018).

En un estudio realizado en Moquegua, todas las muestras de alimentos utilizadas para toros de engorde dieron positivo a la presencia de aflatoxinas, obteniendo que el ensilado de maíz presentó mayores niveles de contaminación, siendo el contenido mínimo 5.69 y el máximo 22.79 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Solo dos muestras superaron el límite máximo permitido de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ por el FDA. Además, se analizaron muestras de leche provenientes de FONGAL, el contenido encontrado de AFM₁ varió de 0,00725 a 0,01195 $\mu\text{g}/\text{l}$, valores inferiores a lo señalado por la Unión Europea y la FDA (Huaracha 2021).

En Arequipa se realizó una investigación en 10 establos lecheros, en dos tipos de ganaderos, de crianza extensiva e intensiva. Los resultados de las 40 muestras de leche fueron negativos a AFM₁, pero el estudio no menciona si alguna de las muestras tenía contenido de AFM₁, este resultado lo relacionaron a que la alimentación es a base de ensilado y de pastos cultivados (Ortiz 2009). En un estudio realizado por Rojas *et al.* (2021) en los mercados de 13 distritos de Lima, en los cuales se muestrearon 18 alimentos, se encontró que los alimentos más contaminados con AFB₁ fueron el maní con 149.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, el ají con 56.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el maíz con 33.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, valores por encima de la norma Unión Europea y del Codex.

Londoño-Cifuentes (2017), señala que los países en vías de desarrollo presentan una mayor prevalencia y contaminación por aflatoxinas debido a que las regulaciones no existen o no se aplican adecuadamente durante la cosecha, poscosecha (transporte y almacenamiento) o en el monitoreo de las raciones con las que se alimentan a los animales. Además de las condiciones climáticas que favorecen la presencia de estos mohos. Lo que debe ser tomado en cuenta para implementar controles más estrictos en los procesos señalados.

La Food & Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica, ha establecido para productos como el maíz, maní, harina de semilla de algodón y otros insumos para la alimentación del ganado lechero como LMR 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y para leche 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Mientras que la Unión Europea establece que, para leche cruda, leche destinada a la fabricación de productos a base de leche y leche de consumo tratada térmicamente, el LMR de AFM₁ es de 0,05 $\mu\text{g}/\text{l}$ (PPB) y para alimentos para vacas lecheras 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$. En Colombia, la NTC 3581 es la encargada de regular la concentración de AFM₁ en la leche, estipulando

una concentración máxima de 0.4 $\mu\text{g/l}$. MERCOSUR establece el LMR para aflatoxinas totales en maíz, maní y productos derivados del maíz para humanos en 20 $\mu\text{g/kg}$, y para leche 0.5 $\mu\text{g/l}$ de AFM_1 como LMR. La FAO (2003), señaló que los cálculos han demostrado que los riesgos proyectados para el cáncer de hígado atribuibles al uso de niveles máximos propuestos para la aflatoxina M_1 de 0,05 $\mu\text{g/kg}$ de leche y de 0,5 $\mu\text{g/kg}$ de leche son muy pequeños y que no existe un beneficio significativo para la salud cuando el límite de 0,5 $\mu\text{g/kg}$ se reduce a 0,05 $\mu\text{g/kg}$.

En el Perú hasta la fecha no hay una legislación al respecto. A nivel mundial el LMR que predomina para contenido de AFB_1 es de 5 $\mu\text{g/kg}$, tal como se puede apreciar en la Figura 1., donde se pueden ver los LMR y el número de países que poseen otras normas de LMR para alimento de ganado bovino.

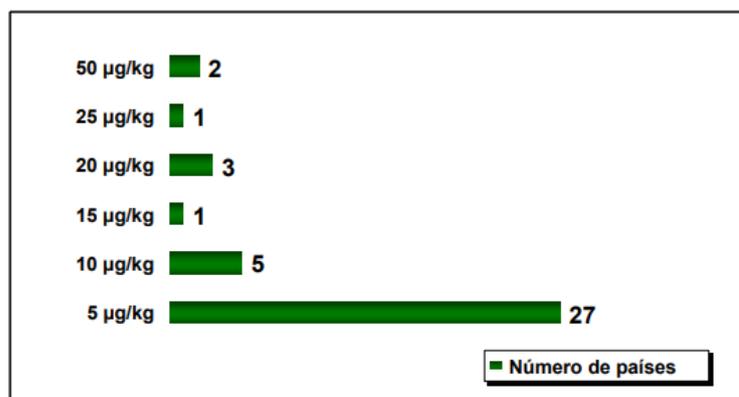


Figura 1: Límites a nivel mundial para la aflatoxina B_1 en las raciones para ganado lechero

Fuente: <http://www.fao.org/3/a-y5499s.pdf>

La mayor parte de países que tienen una norma para contenido de AFM_1 en leche, utilizan lo normado de la Unión Europea de 0.05 $\mu\text{g/l}$, tal como se aprecia en la Figura 2.

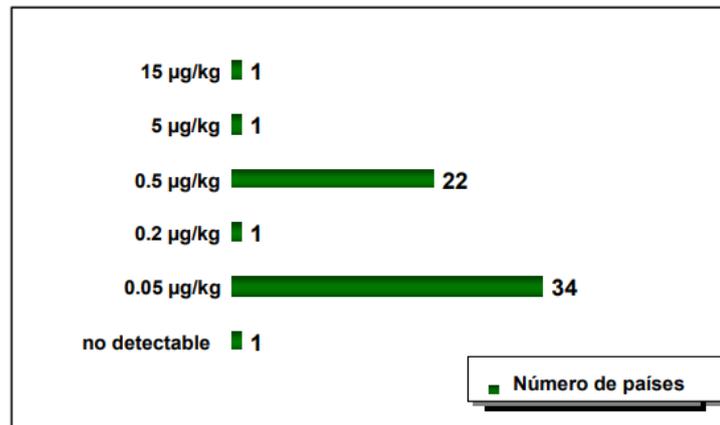


Figura 2: Límites a nivel mundial para la Aflatoxina M₁ en leche

Fuente: <http://www.fao.org/3/a-y5499s.pdf>

La tasa de transferencia se define como la cantidad de AFB₁ del alimento transformado en AFM₁ presente en la leche. La cantidad de AFM₁ excretada en la leche varía entre 1 a 6 por ciento, lo que está relacionado con el contenido de AFB₁ en la ración (Tsakiris *et al.* 2013). Sin embargo, Fink-Gremmels (2008) señaló que lo más común es una tasa de transferencia entre 0.35 y 6 por ciento.

En México se ha encontrado tasas de transferencia entre el 0.71 y 0.78 por ciento (Hernandez-Valdivia *et al.* 2021) o valores tan bajos de 0.09 por ciento de transferencia (Rangel-Muñoz *et al.* 2020). En el estudio realizado por Bervis *et al.* (2021) en varias provincias de España, encontraron una tasa de transferencia de 8.8 por ciento en raciones contaminadas con AFB₁. Kutz (2009), al usar como secuestrante de AFB₁, la pared de levaduras tuvo una tasa de transferencia de 2.52 por ciento.

En otros estudios se ha encontrado que la tasa de transferencia varía entre las vacas dependiendo si se encuentran al principio o al final de la lactación entre 6.2 y 1.8 por ciento respectivamente (Munksgaard *et al.* 1987 y Veldman *et al.* 1992), La tasa de transferencia también varía según los días en que se realiza el análisis de AFM₁ en leche; en un estudio en el que se utilizaron paredes de levadura como secuestrante se observó que la tasa de transferencia disminuyó del tercer al decimoquinto día de tratamiento de 0.05 a 0.02 por ciento respectivamente (Aazami *et al.* 2019).

La variación en la concentración de AFB₁ en la leche varía según la raza de la vaca, el nivel de contaminación de los insumos con los que se prepara la ración, la cantidad y el tiempo en que se consume el alimento contaminado, la salud del animal, el sistema metabólico de los rumiantes y en particular, el metabolismo hepático, todos estos factores provocan que los niveles de AFB₁ en leche varíen de animal a animal. Además, la producción de leche también influye; animales que tienen una mayor producción, tienen una mayor tasa de transferencia (Gimeno 2004; Fink-Gremmels 2008 y Tsakiris *et al.* 2013).

2.3. EFECTOS DE LA AFLATOXINA B₁ EN LOS VACUNOS

Existen diversos factores que influyen en la toxicidad de las aflatoxinas, entre los cuales podemos mencionar la edad, la concentración de estas en la ración, el tiempo de ingestión, el estado nutricional, la presencia de enfermedades, condiciones ambientales como temperatura, humedad y formas de manejo (Gimeno y Martins 2011). La AFB₁ produce toxicidad a través de su radical epóxido, el cual interactúa con proteínas conjugadas y de esta forma produce su acción tóxica. Los eventos carcinogénicos que produce, los realiza a través de la mutación del gen P53, al convertir guanina a tiamina en el codón 249. La aflatoxicosis produce cuadros subclínicos que se caracterizan por inmunosupresión, lo que hace a los animales susceptibles a diferentes enfermedades y a una respuesta inadecuada a los tratamientos administrados (Yard *et al.* 2013).

El cuadro clínico tiene dos formas la aguda y la crónica. La aguda se caracteriza por disminución del consumo de alimento lo que trae como consecuencia una baja en la producción de leche y agravamiento de cualquier enfermedad que se presente (Withlow y Hagler 2007). En estudios realizados al contaminar la ración de vacas con 1725 µg de AFB₁ por 4 días, no se encontró reducción en la producción de leche (Queiroz *et al.*, 2012, Ogunade *et al.* 2016). Xiong *et al.* (2015) alimentaron a vacas con raciones que contenían 20 y 40 µg/kg/MS durante 7 días, reportando que el contenido de AFB₁ no afectó la producción de leche. En el cuadro crónico se presenta hígado graso por la acumulación de aflatoxina en la célula hepática, además de la inmunosupresión (Gimeno 2011). El daño que las aflatoxinas ocasionan en la célula hepática trae como consecuencia una menor producción de proteínas, lo que lleva a la inmunosupresión, ya que no se pueden formar los elementos de la respuesta inflamatoria como son el complemento, interferón, disminución de la capacidad de

fagocitosis de los macrófagos y la migración de leucocitos. AFB₁ afecta los linfocitos T (T ayudadoras y T supresoras). El daño hepático también disminuye la glucogénesis.

Las vacas que consumen alimento contaminado diariamente con 2,300 a 4,200 µg/kg de AFB₁, por un período de tres semanas a un mes, tienen como consecuencia un deterioro marcado en la salud y una reducción en el consumo de alimento, por lo que la producción de leche disminuye (Hussein *et al.* 2001 y Masoero *et al.* 2007). Goncalves *et al.* (2004), reportaron que vacas jersey alimentadas con pasta de algodón que contenía 43.5 µg de AFB₁ por 6 meses, disminuyeron la producción de leche en 3 litros. Sin embargo, en el estudio realizado por Mora *et al.* (2023), en el cual le administraron pellets contaminados con 60 y 120 µg de AFB₁ por 30 días a cabras, no hubo disminución en la producción de leche, ni en el consumo de alimento. Además, se ha reportado que cuando la AFB₁, es ingerida por bovinos, ésta inhibe las bacterias ruminales, reduce la digestibilidad de la celulosa y baja la concentración de ácidos grasos volátiles y la relación acético: propiónico (Hussein y Brasel 2001 y Masoero *et al.* 2007). En el ganado bovino, los alimentos concentrados y forrajes contaminados con AFB₁ provocan daño hepático, disfunción gastrointestinal, disminución de la tasa de crecimiento corporal, y resistencia a enfermedades (Chohan, *et al.* 2016 y Gizachew *et al.* 2016). El performance reproductivo se ve afectado seriamente al producir abortos entre los 120 y 240 días, al disminuir la tasa de concepción y aumentar el intervalo entre partos (Hernández-Valdivia *et al.* 2021)

2.4. EFECTOS DE LA AFLATOXINA M₁ EN LA SALUD HUMANA

Las personas se contaminan directamente al consumir alimentos contaminados con aflatoxinas, como el maíz, maní o frutos secos o indirectamente por el consumo de alimentos derivados de los animales como, leche, yogurt o quesos. El consumo de alimentos contaminados con aflatoxina en grandes cantidades por un periodo corto de tiempo provoca aflatoxicosis aguda, que provoca hemorragias, insuficiencia hepática aguda e incluso puede llevar a la muerte. (Shephard 2003 y Williams *et al.* 2004).

La AFM₁, está clasificada por el IARC (2005), como agente carcinogénico para humanos, sus efectos tóxicos son similares a los de AFB₁, sobresaliendo los mutagénicos, hepatotóxicos, inmunosupresivos y carcinogénicos, por lo que es un problema de salud pública. Las aflatoxinas son compuestos que pueden modificar el ADN y ARN, esto se debe

a que son moléculas altamente ionizables (Ruiz 2016). Las aflatoxinas son hepatotóxicas y están relacionadas con el carcinoma hepatocelular, se ha señalado que la interacción entre la aflatoxina y el virus de la hepatitis B aumenta el riesgo de presentar este tipo de cáncer, siendo el carcinoma hepatocelular una de las principales causas de muerte en Asia y África (Rojas *et al.* 2021 y Martínez *et al.* 2013).

Los niños y los adolescentes son los mayores consumidores de leche y más susceptibles a los efectos de la AFM₁, esto se debe según las investigaciones realizadas, a una mayor variación de su metabolismo basal, y no tener aún los mecanismos bioquímicos adecuados para la detoxificación. Además, el cerebro de los niños aún está en desarrollo y puede ser susceptible al daño por micotoxinas (Hussain *et al.* 2010 y Kuiper-Goodman 1994)

En las investigaciones que realizó Díaz (2005), encontró que disminuye la actividad de varias enzimas relacionadas con la digestión de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, afecta el metabolismo de la vitamina D, así como también el de varios minerales como el hierro, fósforo y el cobre. Estas investigaciones concuerdan con lo que señaló Onyemelukwe *et al.* (2012), que las aflatoxinas conducen a una malnutrición proteica y que esto afecta alrededor del 23 por ciento de los niños en países en desarrollo.

Por lo que resulta importante monitorear tanto la AFB₁, como la AFM₁, al ser un peligro su consumo para la salud humana como animal (Flores-Flores y González-Peña 2018 y Peraica *et al.* 1999). Van der Fels-Klerx y Bouzembrak (2016), resaltan la importancia de monitorear la contaminación de AFB₁, en los alimentos con los que se preparan las raciones de los animales, sobre todo maíz, soya y semillas oleaginosas entre otras, con la finalidad de que no superen el LMR establecido por la Unión Europea. Además, se deben generar políticas que lleven a restringir el uso de alimentos que estén contaminados con AFB₁ y AFM₁.

2.5. ESTRATEGIAS PARA REDUCIR LA CONTAMINACIÓN DE AFLATOXINA B₁ EN LA POSCOSECHA

Los alimentos contaminados por AFB₁ son un problema grave a nivel mundial, la contaminación se puede dar a nivel de siembra, de cosecha o post-cosecha. La post-cosecha incluye transporte y almacenamiento. Las condiciones anteriores a la cosecha son difíciles de ser controladas, las que se pueden controlar son las posteriores, de allí que el

almacenamiento sea parte de la estrategia de prevención de las micotoxinas. (Marín *et al.* 2004 y Choudhary y Kumari 2010)

El ensilado que se prepara debe tener una humedad baja, debe compactarse y sellarse adecuadamente. Se les debe suministrar a los animales inmediatamente abierto el silo y se cerrará. Los restos de ensilado que queden en el comedero deberán ser eliminados completamente y los comederos deberán ser limpiados antes de ser llenados nuevamente (Jouany 2007)

Los vehículos que transportan los alimentos deben estar libres de mohos, insectos o suciedad, deben estar limpios, desinfectados, fumigados y aireados antes de introducir la carga de alimento. Los contenedores donde se transportan los alimentos, sobre todo los granos, de preferencia deben ser contenedores herméticos o contar con cubiertas de lona, que se encuentre impermeabilizada; con la finalidad de evitar la infestación de insectos, pájaros y roedores, que dañen los granos. Los granos partidos tienen una mayor posibilidad de contaminación por mohos productores de AFB₁. Evitar el aumento de la temperatura, ya que esto favorecería la humedad, que es la condición para la proliferación fúngica. Los contenedores que transporten alimentos ya sea a granel o ensacados, deben tener una estructura que evite el almacenamiento de suciedad y que permita la fumigación periódica de estos. El contenedor debe ser vaciado completamente, limpiado y desinfectado apropiadamente; estas medidas se deben mantener en el transporte antes del almacenamiento como en la distribución del alimento (FAO 2014 y Codex Alimentarius 2012).

Los lugares donde se almacenan alimentos de consumo para personas o animales deben seguir las mismas reglas de sanidad y limpieza para las instalaciones, con un buen control de la ventilación, con la finalidad de proveer de un ambiente fresco y seco. El lugar donde se almacenan los alimentos debe ser saneado, deben estar secos y bien ventilados. Los sacos que almacenan el producto deben estar limpios en buenas condiciones y deben ser apilados sobre tarimas, con la finalidad que no estén en contacto con el suelo. Verificar que lo almacenado esté libre de mohos o insectos. Impedir el acceso de insectos, roedores u otros animales. El lugar de almacenamiento debe tener una temperatura baja. Los productos que sean almacenados a granel deben estar a una temperatura y humedad adecuada, los granos

deben tener una humedad menor al 15 por ciento (Codex Alimentarius 2012, kabak *et al.* 2006).

El estibado de los alimentos (apilado), se realiza de forma transversal, el cual debe contar con los siguientes distanciamientos: separado de las paredes a una distancia mínima de 0.5 metros, del techo a 1.00 metro, se debe tener en cuenta la facilidad de carga y descarga. La separación entre estibas no será menor de 1 metro de esta forma permite la accesibilidad de inspección, limpieza, transporte, ventilación e iluminación (Guía de SENASA 2016).

Los alimentos almacenados no deben presentar daño y deben estar secos. El almacenamiento de alimentos húmedos y la escasa ventilación de las instalaciones favorece el desarrollo de aflatoxinas. Esto se debe a que la humedad del producto tiende a evaporarse y en la noche por la baja temperatura la humedad se condensa y cae sobre lo almacenado (Armijo y Calderón 2009) Se ha demostrado que los alimentos que se almacenen entre 13 a 42 °C y humedad alrededor del 75 por ciento, favorecen la producción de AFB₁ (Battacone *et al.* 2012). En un estudio realizado en Sud África se encontró que la temperatura del ambiente, la del almacenamiento, la humedad y el tiempo de almacenamiento de los alimentos, influyeron en la producción de aflatoxinas y de los mencionados, el que más influyo fue la temperatura de almacenamiento (Abiola *et al.* 2021).

2.6. USO DE SECUESTRANTES PARA DISMINUIR LOS NIVELES DE ABSORCIÓN DE AFLATOXINA B₁

El tratamiento térmico de los insumos a una temperatura de 120 °C no ha logrado disminuir eficazmente los niveles de AFB₁, por lo que se considera más eficaz que los insumos con los que se preparan las raciones de los animales estén libres de AFB₁ o se utilice algún producto que pueda unirse con la AFB₁ y de esta forma no sea metabolizada a AFM₁.

Los secuestrantes son sustancias que tienen la capacidad de unirse a la micotoxina en el tracto intestinal, para luego ser eliminados a través de las heces y así evitar o reducir su biodisponibilidad (Starkl 2008). La capacidad de absorción o secuestro de las aflatoxinas está relacionada con una variedad y combinación de mecanismos, los cuales incluyen el tamaño molecular, la estructura y la capacidad de establecer enlaces químicos débiles entre la micotoxina y el secuestrante (Deng y Szczerba 2011).

Los mecanismos de unión de la aflatoxina con el secuestrante son inespecíficos, lo que favorece el secuestro de otros nutrientes. En un experimento en vitro, en el cual se incubaron diferentes secuestrantes, aflatoxinas, aminoácidos y vitaminas hidrosolubles (B1, B2, B3 y B6), se observó que los secuestrantes se unían también a las vitaminas (34.1 por ciento) y a los aminoácidos (44.3 por ciento), esto está relacionado al peso molecular de estas sustancias. En este estudio se observó que los aluminosilicatos se unía en mayor porcentaje a las vitaminas y aminoácidos que las paredes de levaduras. (Kihal *et al.* 2020).

En general hay dos tipos de secuestrantes: los orgánicos y los inorgánicos.

Secuestrantes inorgánicos, enlazan la micotoxina por diferencia de carga. En general estos compuestos corresponden a minerales de arcillas como las zeolitas, bentonita, montmorillonita y otros (Kihal *et al.* 2023). Dentro de los inorgánicos se encuentran:

Las arcillas, que están formadas básicamente por silicatos aluminicos, que son partes de rocas aluminicas, estos compuestos contienen moléculas de agua adheridas a un metal central o cristalizado con un metal complejo permitiendo un mayor secuestro de micotoxinas.

El carbón activado es un polvo no soluble formado por pirolisis de varios compuestos orgánicos, y elaborados por procesos de activación que permiten el desarrollo de estructuras altamente porosas. La capacidad secuestrante del carbón activado depende del tamaño del poro, área de superficie, estructura de la micotoxina y la dosis. (Tapia Salazar *et al.* 2010).

Secuestrantes orgánicos, dentro de esta categoría se encuentran las levaduras (*Saccharomyces Cerevisiae*), las cuales se utilizan como una estrategia para secuestrar aflatoxina, las paredes de levaduras están compuestas por polisacáridos y proteínas, siendo los polisacáridos los que tienen la capacidad de unirse a la aflatoxina. En estas paredes se encuentran los polisacáridos β -glucanos, glucomananos y manoproteínas. La pared celular, se encuentra en la parte exterior de la membrana celular, la cual posee dos laminas: la interior es la que da rigidez y está formada por los 1,6 y 1,3 β -D-glucanos y quitina; la exterior está formada por fibras de manoproteínas, las cuales se encuentran enlazadas a la lámina interna de glucano. Los β -glucanos, están conformados por unidades de glucosa unidas por enlaces β -1,3 y β -1,4 (Kogan y Kocher 2007).

En la actualidad se utilizan estos preparados de paredes celulares, con la finalidad de secuestrar a la micotoxina del alimento de los animales y disminuir su efecto tóxico. La actividad de estas sustancias está relacionada a la unión de micotoxinas con 1-3- β -glucano, o la interacción de los mananos con las micotoxinas. Estos fragmentos de levaduras tienen su acción secuestrante en diversas micotoxinas: aflatoxinas, ochratoxina A, fumonisinas y zeararelonas (Bueno 2014).

La forma en que las micotoxinas se pueden adherir a estos compuestos es por medio de una adsorción física (interacciones débiles de Van Der Waals y enlaces de hidrógeno, este proceso es fácilmente reversible) y adsorción química o quimisorción (interacciones fuertes mediante enlace iónico o covalente, es un proceso irreversible ocasionado por un cambio químico en la sustancia original) (Tapia Salazar *et al.* 2010). Además, la ventaja de incluir las levaduras en la ración de las vacas es que actúan como moduladores inmunitarios, los β -glucanos pueden estimular respuestas inmunológicas específicas e inespecíficas, mejorando así el rendimiento de los animales (Kogan and Kocher 2007).

Al incluir en la ración contaminada con AFB₁, un secuestrante a base de levaduras o sus fragmentos solos o en combinación con bentonita de sodio, se ha reportado que el contenido de AFM₁ no disminuyó por debajo del LMR del Codex (0.5 μ g/l) en la leche de las vacas en estudio, no obstante, la bentonita de sodio logró una reducción del 64 por ciento en el contenido de AFM₁ (Kutz *et al.* 2009 y Kissell *et al.* 2013). En investigaciones realizadas por Xiong *et al.* (2015) en China con diferentes concentraciones de AFB₁ en las raciones de las vacas, concluyeron que a dosis bajas (20 μ g/kg) las levaduras combinadas con montmorillonita de sodio reducen la transferencia de Aflatoxina a la leche, lo que no ocurre con dosis mayores (40 μ g/kg).

Ogunade *et al.* (2016) utilizaron como secuestrante fragmentos de levaduras, los cuales incorporaron a la ración durante 28 días; del día 21 al 25 le administraron cápsulas que contenían 1725 μ g de AFB₁ y analizaron el contenido de AFM₁ en el día 25 reportando 0.73 μ g/l, siendo este contenido superior al regulado en el Codex alimentario de 0.5 μ g/l, por lo que señalaron que la adición de fragmentos de levaduras no disminuyó el contenido de AFM₁ en la leche. Sin embargo, Rodríguez *et al.* (2019), evaluaron dos secuestrantes de diferentes casas comerciales (compuestos por absorbentes inorgánicos y paredes de levaduras) en

raciones contaminadas con AFB₁ (105 µg /kg) la cantidad de AFM₁ en la leche de los dos últimos días de evaluación fue de 0.25 µg/l, la tasa de transferencia del 1 por ciento y la reducción del contenido de AFM₁ del 58 por ciento en promedio.

En estudios realizados en Italia se encontró que la adición de paredes de levadura redujo en un 60 por ciento la cantidad de AFM₁ en leche de ovejas que consumieron una ración contaminada con, 55 µg AFB₁/kg de materia seca (Díaz *et al.* 2004). Se ha reportado que la cantidad de AFM₁ en leche y la tasa de transferencia, disminuyen con los días de consumo de una ración contaminada con AFB₁ y a la que se le agregó un secuestrante (fragmento de levaduras), Fermín *et al.* (2011) en el estudio que realizaron en ovejas evaluaron la leche al día 3 y 21 del estudio encontrando que la cantidad de AFM₁ disminuía de 0.76 a 0.56 µg/l de leche, al igual que la tasa de transferencia de AFB₁ a AFM₁ de 0.47 a 0.27 por ciento.

Resultados similares obtuvieron Aazami *et al.* (2019) en la investigación que realizaron en Irán con cabras, en el que utilizaron dos secuestrantes para AFB₁, pared de levaduras, y β-glucanos. Reportaron que los β-glucanos disminuyen el contenido de AFM₁ en leche por debajo del LMR para la Unión Europea, en el tercer y decimoquinto día del experimento (0.01 µg/kg). Mientras que la pared de levaduras en el tercer día (0.06 µg/kg) estuvo sobre el LMR, recién al decimoquinto día (0.02 µg/kg) logrando disminuirla por debajo del LMR.

Un buen secuestrante de AFB₁ debe tener las siguientes características: alta afinidad por las micotoxinas con la finalidad que pueda secuestrar concentraciones mínimas de estas, y estabilidad a diferentes pH, con la finalidad que permanezca unido a través de todo el sistema digestivo y pueda ser excretado, lo que evitaría la conversión de AFB₁ a AFM₁.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. CONTENIDO DE AFLATOXINA B₁ EN LOS ALIMENTOS Y AFLATOXINA M₁ EN LECHE.

3.1.1 Localización

El establo Monteverde está ubicado al norte del país, en el distrito de Jequetepeque, provincia de Pacasmayo, Departamento de la Libertad. El clima en Jequetepeque es un clima desértico. Durante el año son escasas las precipitaciones, con un promedio anual de 15 mm. La temperatura media anual fue de 22.0 ° C. Oscilando entre 25.4 ° C, en el mes de marzo que es el más cálido y 19.5 ° C en el mes de Julio que es el más frío. La humedad fue de 75 por ciento en promedio. Las estaciones del año son otoño que inicia el 20 de marzo, invierno el 21 de junio, primavera el 22 de setiembre y verano el 21 de diciembre. El estudio se realizó entre febrero del 2018 y enero del 2019.

3.1.2 De los animales

El establo tenía en el momento del estudio 1955 vacas Holstein Friesian, de las cuales 955 estaban en ordeño con una producción promedio de 26 litros por día en tres ordeños. Los animales se encontraban confinados en corrales que contaban con comederos y bebederos de libre acceso. La ración utilizada se muestra en el Tabla 1.

3.1.3 Caracterización de las condiciones de almacenaje de los alimentos usados en las raciones de los vacunos del establo

Para poder identificar las prácticas de almacenaje de los alimentos, se elaboró una lista de cotejo tomando como referencia la Guía de Almacenamiento de Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos de SENASA (Anexo 1 y 2)

Tabla 1: Composición de la ración en kg por vaca por día, de febrero del 2018 a enero del 2019.

Alimentos	Ración 1 *	Ración 2 **
Maíz	8.20	7.00
Torta de soya	3.00	3.00
Harina integral de soya	1.50	1.50
Afrecho de trigo	1.76	0.30
Torta de algodón	0.00	1.19
Chala de maíz	11.52	19.70
Heno de alfalfa	2.56	4.55
Panca de maíz	3.00	16.00
Melaza	1.00	0.43
Jabón cálcico	0.16	0.30
Carbonato de calcio	0.20	0.20
Sesquicarbonato de sodio	0.22	0.32
Sal	0.04	0.04
Urea	0.04	0.00
Vitaminas y minerales	0.03	0.06

* Ración usada durante todo el año excepto junio y julio.

** Ración usada en junio y julio.

3.1.4 Muestras de alimento

Para realizar el muestreo de los alimentos se utilizó el protocolo del Reglamento de la Comisión Europea No 401/2006 (Anexo 3). Los alimentos se muestrearon cada vez que llegaba un nuevo lote al establo. Una unidad de muestreo (n), comprendía la muestra global recogida en el muestreo elemental. Como describe Whitaker (2006), las porciones elementales se tomaron de varios lugares del lote. El muestreo siguió las recomendaciones de la CE (2006) (n 401/2006). Se tomaron muestras de maíz (n=77), torta de soya (n=69) y harina integral de soya (n=64) las cuales se muestrearon durante todo el año, mientras que la pasta de algodón (n=10) solo se muestreó en junio y julio porque se incluía en la formulación de la ración durante estos meses exclusivamente; del mismo modo, el afrecho de trigo en marzo, abril, junio, julio y agosto (n=15).

3.1.5 Muestras de leche

Las muestras de leche fueron colectadas de 03 tanques de almacenamiento (25,000 l de capacidad). Una unidad de muestreo estaba compuesta por 1 l de leche, que fue extraída después de la homogeneización de la leche en el tanque. A lo largo de todo el año (n=529) se realizaron muestreos casi siempre interdiarios, recogándose tres muestras por día.

3.1.6. Cuantificación del contenido de Aflatoxina B₁ en los alimentos

Los alimentos muestreados fueron conservados en bolsas de papel, y reducidos de manera representativa por la técnica del cuarteo hasta obtener 10 g., cada muestra se analizó para determinar el contenido de AFB₁ en el laboratorio de control de calidad del establo. El análisis se realizó únicamente en los alimentos utilizados para preparar el concentrado, ya que el equipo no permitía analizar los forrajes.

Se utilizó para el análisis la prueba Rapid One Step Assay (Rosa) (aprobada por el servicio federal de inspección de granos de los Estados Unidos), es una prueba inmunológica de flujo lateral que combina un sistema integral de análisis basado en anticuerpos que se unen a la micotoxina lo que permite su detección en minutos (Anexo 4).

Para realizar la prueba se necesitó de las tiras reactivas inmunocromatográficas y el equipo Charm MRL que es de la compañía Charm Sciences INC (Lawrence, MA, EE. UU). Se pulverizo 10 gr de muestra y se colocó en un recipiente limpio donde se agregó un volumen de etanol al 50 por ciento igual a tres veces el peso de la muestra, luego se agitó vigorosamente por 1 o 2 minutos, se dejó reposar por 1 minuto para obtener el extracto, se centrifugó por 10 segundos y filtró para clarificar el extracto. Con una pipeta se retiró 100 ul que se colocó en un microtubo conteniendo el buffer (1 ml). Del microtubo se extrajo con una pipeta calibrada 150 µg que fue puesto en la tira dentro del equipo para prueba cuantitativa Charm MRL Aflatoxina B₁, la tira fue leída en ppb (partes por billón) de Aflatoxina en el Lector ROSA-M, el rango de cuantificación fue de 0 a 150 ppb (µg/kg).

3.1.7. Cuantificación del contenido de Aflatoxina M₁ en leche

La leche fue analizada en el laboratorio de control de calidad del establo, utilizando la prueba cuantitativa de aflatoxina M₁ Charm® MRL (MRLAFMQ), que emplea un equipo de prueba

de campo que comprende un inmunoensayo de flujo lateral que puede determinar la AFM₁. La muestra de leche se agitó antes de realizar el análisis, luego se identificó la tira con el código de la muestra y se colocó en el equipo.

Se levantó la parte adhesiva de la tira y con la pipeta se agregó 300 µg de leche en la zona marcada, luego se reselló la tira con el mismo adhesivo y después de 15 minutos de incubación, el lector ROSA-M comenzó a registrar las señales y a mostrar los resultados. Este equipo cuantifica a partir de $\geq 0,015$ µg/kg; por lo tanto, puede detectar concentraciones de 0,050 µg/kg AFM₁, que es el límite máximo residual establecido por la Unión Europea. El rango de cuantificación es de 0 a 0.1 µg/kg.

3.1.8. Análisis estadístico

Las variables en estudio fueron AFB₁ y AFM₁ son representadas como el promedio \pm desviación estándar; también se presentan los valores mínimo y máximo de concentración de aflatoxinas. Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk, no observándose una distribución normal de los datos. Por lo cual se utilizaron las pruebas no paramétricas de Wilcoxon y la de Kruskal – Wallis con un nivel de significancia de p valor < 0.05, usando el software estadístico R 3.6.1

3.2. EVALUACIÓN DEL USO DE UN SECUESTRANTE PARA DISMINUIR LA ABSORCIÓN DE AFLATOXINA B₁

3.2.1. De los animales y sus instalaciones

Las características del establo se han descrito en la sección 3.1.1; se seleccionaron 12 vacas de la raza Holstein Friesian, multíparas con producción de leche promedio por día en litros 19.0 ± 0.86 , días en leche = 220 ± 20 , la edad = 3.2 ± 0.5 años y condición corporal 2.7 ± 0.2 . Se acondicionaron 02 corrales con un área de 250 metros cuadrados cada uno, los cuales tenían comederos y bebederos para albergar a 06 vacas en cada corral.

3.2.2 De la alimentación

Se formuló una dieta de acuerdo con los requerimientos nutricionales para la producción de leche y el peso que tenían los animales. La ración de cada uno de los animales proveía por animal 160.6 µg de AFB₁ (la ración se preparó con 7.3 kg de maíz nacional que fue comprado

con un contenido de 22 µg de AFB₁/kg). El secuestrante (carbonato de calcio más fragmentos de levaduras, Vitafix, Nuscience) fue incluido a una dosis de 150g/vaca/día siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los animales fueron alimentados con una ración que se observa en la Tabla 2.

Tabla 2: Ración experimental suministrada a las vacas en lactación

Alimento	Cantidad (kg/vaca/día)
Heno de alfalfa	6
Chala de maíz	20.48
Maíz molido	7.3
Harina integral de soya	0.50
Torta de soya	3.49
Melaza de caña	1.01
*Premezcla (rumensin, bicarbonato de sodio, bicarbonato de calcio y sal)	1.4

*El secuestrante es añadido a la premezcla.

El concentrado (ración experimental menos el aporte de heno de alfalfa y chala de maíz) se tenía preparado y el forraje se adicionaba diariamente. Los animales fueron alimentados dos veces al día (Anexo 5).

3.2.3 Muestras de leche

Las vacas fueron ordeñadas dos veces al día, a las 10:00 a.m. y 6:30 p.m., momento en el cual se tomaron las muestras de leche de cada una de las vacas y se preparó una muestra mixta del ordeño del día, la cual fue analizada los días 5 y 6 de cada periodo experimental. Además, se registró la producción diaria de leche de cada vaca (Anexo 6).

3.2.4. Cuantificación del contenido de Aflatoxina M₁ en la leche

El procedimiento se ha descrito en la sección 3.1.7

3.2.5. Tasa de transferencia de Aflatoxina B₁ a Aflatoxina M₁

La tasa de transferencia se define como la cantidad de AFB₁ del alimento transformado en AFM₁ presente en la leche. La tasa fue calculada en base a la cantidad de AFB₁ consumida y la cantidad de AFM₁ excretada en leche, en los dos periodos experimentales, usando la siguiente fórmula:

$$\frac{\text{AFM}_1 (\mu\text{g/l} \times \text{producción de leche (kg/vaca/día)})}{\text{Consumo de AFB}_1 (\mu\text{g/vaca/día})} \times 100$$

3.2.6. De los tratamientos

El estudio fue diseñado con dos periodos experimentales y dos tratamientos por periodo experimental. Entre los dos periodos experimentales hubo un periodo de descanso que tuvo una duración de 6 días (ración libre de AFB₁) y cada periodo experimental tuvo una duración de 6 días. Al final del periodo de descanso, los animales fueron asignados al otro tratamiento. Los doce animales seleccionados fueron divididos aleatoriamente en dos corrales, los cuales fueron identificados como T1 y T2, según el periodo experimental. En cada corral, seis vacas permanecieron por dieciocho días. En la Tabla 3, se observa cómo fue la distribución de los periodos experimentales y los tratamientos.

Antes del inicio del periodo experimental 1 y al final del periodo de descanso se analizó cada uno de los alimentos que formaban parte de la ración, con la finalidad que estuviesen libres de AFB₁.

Tabla 3: Distribución de los periodos experimentales y tratamientos

N° de animales	Periodo		
	Periodo Experimental 1 (6 días)	de descanso (6 días)	Periodo Experimental 2 (6 días)
6 vacas	T1	Alimento libre de AFB ₁	T2
6 vacas	T2	Alimento libre de AFB ₁	T1

T1 = Alimento contaminado con AFB₁; T2 = Alimento contaminado con AFB₁ con adición de secuestrante

3.2.7. Análisis estadístico

La variable de estudio fue AFM_1 , que se reportó como promedio y desviación estándar. Para evaluar la eficacia del secuestrante entre los tratamientos, se utilizó el diseño sobre cambio simple con un nivel de significancia del valor de $p < 0.05$ (García 2011), se usó el software estadístico R 3.6.1.

3.3. CONTENIDO DE AFLATOXINA B₁ EN ALIMENTOS PARA VACUNOS

3.3.1. Localización

Se identificaron tres distribuidoras que se dedican a la venta de alimentos para ganado, que se encuentran ubicados al sur de Lima, en la ciudad de Lurín, provincia de Lima, Departamento de Lima. El clima en Lurín es un clima árido. Durante el año son escasas las precipitaciones, con un promedio anual de 42 mm. La temperatura media anual fue de 21.0 °C y la humedad fue de 80 por ciento en promedio.

3.3.2. Muestras de alimento

El muestreo se realizó en dos épocas del año en el mes de julio del 2020 (invierno) y en el mes de enero del 2021 (verano). Para realizar el muestreo de los alimentos se utilizó el protocolo de la Comisión Europea No 401/2006 (Anexo 3).

Se muestreó maíz, afrecho y torta de soya de cada una de las distribuidoras. La temperatura en invierno, en la semana de muestreo osciló entre 16 y 19 °C y la humedad promedio fue de 95 por ciento; en el muestreo de verano la temperatura osciló entre 21 y 27°C con una humedad promedio de 71 por ciento. Una unidad de muestreo (n), comprendía la muestra global, que consistía en la suma de todas las muestras elementales recogidas de cada alimento. Como describe Whitaker (2006), las porciones elementales se tomaron de varios lugares del lote. El muestreo siguió las recomendaciones de la CE (2006).

3.3.3. Cuantificación de contenido de aflatoxinas B₁

Las muestras de maíz, torta de soya y afrecho se enviaron en bolsas de papel al laboratorio de Battilana para el análisis de aflatoxinas totales. El laboratorio utiliza el equipo VICAM,

que realiza la detección a través de anticuerpos monoclonales aprobado por AOAC y USDA – GIPSA.

3.3.4. Análisis estadístico

La variable de estudio fue AFB₁, que se reporta en µg/kg en dos estaciones del año. Se realizó la prueba de normalidad de Shapiro Wilk, no observándose una distribución normal de los datos. Por lo cual se utilizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney con un nivel de significancia del valor de $p < 0.05$, se usó el software estadístico R 3.6.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CONTENIDO DE AFLATOXINA B₁ EN LOS ALIMENTOS Y AFLATOXINA M₁ EN LECHE

4.1.1. Contenido de AFB₁ en los alimentos

El contenido de AFB₁ encontrado en los alimentos con los que se prepararon las raciones de las vacas lecheras del establo, se muestran en la Tabla 4. De las 235 muestras analizadas durante un año, el 40 por ciento (n=93) presentó contenido de AFB₁ y de este porcentaje el 4.25 por ciento (n=10) superó el LMR establecido por la Unión Europea que es de 5 µg/kg.

Tabla 4: Contenido promedio de AFB₁ expresado en (µg/kg) en los diferentes insumos usados en la ración en un año

Alimentos	N° Muestras	% de muestras sobre el LMR	*N° de muestras [1 - 4.9]	AFB ₁ (µg/kg)		
				Min - Max	Promedio	DS
Maíz	77	2.59	35	0 - 5.6	0.89	1.22
Torta de soya	69	0	32	0 - 2.8	0.75	0.86
Harina. integral de soya	64	0	13	0 - 1.8	0.23	0.5
Pasta de algodón	10	50	5	1 - 9.0	4.3	2.71
Afrecho de trigo	15	20	8	0 - 8	2.47	2.59
TOTAL	235	4.25	93	0 - 9	1.7	1.66

*N de muestras que están por debajo del LMR (Límite Máximo Residual)

El 50 por ciento de las muestras de pasta de algodón en los dos meses en que se muestreó, presentaron un contenido de AFB₁ mayor a 5 µg/kg. El 20 por ciento de las muestras de afrecho de trigo tuvieron un contenido mayor al LMR. Sin embargo, el contenido promedio fue de 2.47

$\mu\text{g}/\text{kg}$ (valores inferiores a LMR establecido). El contenido promedio de AFB_1 para el maíz fue de $0.89 \mu\text{g}/\text{kg}$, mientras que para la torta de soya fue de $0.75 \mu\text{g}/\text{kg}$ siendo ambos significativamente superiores ($P < 0.05$) a la harina integral de soya que tuvo un contenido de $0.23 \mu\text{g}/\text{kg}$. Estos tres últimos alimentos se utilizaron durante todo el año.

Los resultados del contenido de AFB_1 según el mes y el alimento se presentan en la Tabla 5. De las 77 muestras analizadas de maíz, el 45 por ciento ($n=35$) presentó contaminación por AFB_1 . Sin embargo, sólo el 2.59 por ciento de las muestras estuvieron por encima del LMR, siendo $5.6 \mu\text{g}/\text{kg}$ el valor más alto encontrado en un lote, que llegó en el mes octubre. En el maíz analizado, la contaminación de AFB_1 en el mes de diciembre fue significativamente mayor ($P < 0.05$) que la observada en el mes de febrero. En este estudio se encontró que el 2.59 por ciento del maíz presentaba un contenido sobre el LMR, resultados similares al contenido reportado de 3.3 por ciento, por Caballero *et. al.* (2001), en el estudio con maíz importado de los establos de Lima.

En el caso de la torta de soya ($n=69$), el 46.4 por ciento de las muestras contenían AFB_1 , pero ninguna superaba el LMR. El contenido más alto se detectó en el mes de diciembre, con un promedio de $1.92 \mu\text{g}/\text{kg}$, siendo este contenido significativamente mayor ($P < 0.05$) al detectado en el mes de junio. De un total de 64 muestras de harina integral de soya, el 20 por ciento presentó contenido de AFB_1 sin pasar el LMR. La torta de soya es la que obtuvo el menor nivel de contaminación de AFB_1 , lo cual puede ser atribuido a la presencia de fitoalexina, que inhibe la producción de AFB_1 producida por el hongo (Song y Karr 1993).

La pasta de algodón sólo se utilizó en los meses de junio y julio, el 100 por ciento de estas muestras contenían AFB_1 , y el 50 por ciento de ellas estaban por encima del LMR, siendo este alimento, el que presentó el contenido más alto de AFB_1 ($9 \mu\text{g}/\text{kg}$) de los alimentos muestreados que llegaron al establo. El afrecho de trigo fue usado durante 5 meses, y el contenido más alto se encontró en el mes de junio ($3.6 \mu\text{g}/\text{kg}$). Estos alimentos pueden haber sido afectados por la humedad ambiental en el cultivo, transporte o almacenamiento lo que favoreció la presencia de aflatoxinas (Martínez *et al.* 2013).

Tabla 5: Promedio mensual del contenido de AFB₁ expresado en µg/kg porcentaje de positivos y límites mínimos y máximos en maíz, torta de soya, harina integral de soya, pasta de algodón y afrecho de trigo. (*LMR = Límite máximo residual)

Meses	MAÍZ			TORTA DE SOYA			HARINA INTEGRAL DE SOYA			PASTA DE ALGODÓN			AFRECHO DE TRIGO		
	N° de Muestras/ N°>LMR*	AFB ₁ (µg/kg)		N° de Muestras/ N°>LMR	AFB ₁ (µg/kg)		N° de Muestras/N° >LMR*	AFB ₁ (µg/kg)		N° de Muestras/ N°>LMR*	AFB ₁ (µg/kg)		N° de Muestras/ N°>LMR*	AFB ₁ (µg/kg)	
		Promedio			Promedio			Promedio	Min. -		Promedio			Promedio	
	(%)	±DS	Min. - Max	(%)	±DS	Min. - Max	(%)	±DS	Max	(%)	±DS	Min. - Max	(%)	±DS	Min. - Max
Febrero	8/0 (0)	0±0	0 - 0	2/0 (0)	0±0	0 - 0	5/0 (0)	0.4±0.54	0 - 1						
Marzo	7/0 (0)	0.72±0.68	0 - 1.4	7/0 (0)	1.02±0.72	0 - 1.8	4/0 (0)	0.72±0.88	0 - 1.8				2/0 (0)	1.85±0.63	1.4 - 2.3
Abril	7/0 (0)	1.17±0.61	0 - 1.6	7/0 (0)	0.84±1.05	0 - 2.1	4/0 (0)	0.65±0.78	0 - 1.6				2/0 (0)	1.15±0.07	1.1 - 1.2
Mayo	9/0 (0)	0.65±0.63	0 - 1.4	9/0 (0)	0.87±0.86	0 - 1.9	6/0 (0)	0.53±0.82	0 - 1.7						
Junio	9/0 (0)	0.57±1.39	0 - 4.2	9/0 (0)	0±0	0 - 0	6/0 (0)	0.16±0.40	0 - 1	5/2 (40)	4.0±3.16	1.0 - 9.0	5/1 (20)	3.6±2.96	0.0 - 8.0
Julio	8/0 (0)	0.21±0.60	0 - 1.7	5/0 (0)	0.22±0.49	0 - 1.1	6/0 (0)	0±0	0 - 0	5/3 (60)	4.6±2.5	1.0 - 7.0	5/2 (40)	2.4±3.36	0.0 - 7.0
Agosto	5/0 (0)	1.26±1.20	0 - 2.7	5/0 (0)	0.56±0.76	0 - 1.4	6/0 (0)	0±0	0 - 0				1/0 (0)	1	1
Setiembre	5/0 (0)	0.78±0.75	0 - 1.7	5/0 (0)	0.76±1.04	0 - 2.	6/0 (0)	0±0	0 - 0						
Octubre	5/2 (40)	2.38±2.76	0 - 5.6	5/0 (0)	0.72±0.65	0 - 1.2	6/0 (0)	0.16±0.40	0 - 1						
Noviembre	4/0 (0)	1.67±1.68	0 - 4	5/0 (0)	1.24±0.76	0 - 1.8	6/0 (0)	0.16±0.40	0 - 1						
Diciembre	5/0 (0)	2.18 ± 0.53	1.6 - 2.9	5/0 (0)	1.92±0.68	1.1 - 2.8	4/0 (0)	0.25±0.5	0 - 1						
Enero	5/0(0)	0.62 ±0.88	0 - 1.9	5/0 (0)	0.72±0.86	0 - 1.8	5/0 (0)	0.2±0.44	0 - 1						

4.1.2. Caracterización del almacenaje de los alimentos usados en las raciones de los vacunos en el establo

En cuanto a las instalaciones, existe una zona donde se almacenan los alimentos, el cual cuenta con una persona encargada; el lugar es desinfectado mensualmente y se lleva el registro de la fecha y producto usado en la desinfección, cuenta con un higrómetro, para medir la humedad, la cual se registra diariamente. El lugar se encuentra limpio, no se observan insectos ni roedores, pero si la presencia de aves. La instalación cuenta con un techo impermeable, no presenta paredes, el piso es de cemento lo que facilita la limpieza y desinfección. El no contar con paredes favorece el ingreso de aves las que pueden romper los sacos, contaminarlos y deteriorar el alimento lo que favorecería la presencia de aflatoxinas (Codex Alimentarius 2012). Los servicios higiénicos están limpios y desinfectados, cuentan con agua y desagüe. El almacén tiene ventilación e iluminación natural, se lleva registro de limpieza diaria y después de carga y descarga de los alimentos.

El transporte de los alimentos se realizó a través de camiones, los camiones son inspeccionados antes que ingresen al establo, cuentan con ficha de fumigación antes de cargar el alimento. Los camiones no cuentan con una lona impermeable que recubra los alimentos transportados, lo que puede favorecer que el producto se humedezca (Manual FAO 2014). El establo cuenta con una ficha en la cual se registra la fecha de ingreso (se le asigna un número de lote), la cantidad, la procedencia y la fecha de término del producto.

El orden que se sigue en el almacén es el siguiente: los alimentos que llegan no se mezclan con los que llegaron anteriormente. Los alimentos que llegan a granel son ensacados. Los forrajes son registrados de igual forma y no se mezclan forrajes de diferente procedencia. Los alimentos de movimiento rápido se encuentran cerca al despacho. Los lotes antiguos separados de lotes nuevos. Se ordenan los sacos sobre parihuelas, las que se encuentran a 15 cm del piso, de los lotes al techo existe un metro. Los sacos no están bien estibados, se encuentran almacenados unos sobre otros. El estibado de los sacos no cumple con la guía de SENASA (2016) que señala la separación de un metro entre sacos estibados (Anexo 7). El almacenamiento de los sacos se observa en la Figura 3. Al no ser el estibado correcto favorece el aumento de la temperatura en las zonas centrales y en las primeras filas de los sacos, lo que contribuye a un aumento de la producción de *Aspergillus* y consecuentemente de AFB₁, tal como lo señala en el estudio que realizó Abiola *et al.* (2021).



Figura 3: Almacenamiento de sacos.

4.1.3. Contenido de aflatoxina M₁ en leche

De un total de 529 muestras de leche, el 16 por ciento (n=86) presentó un contenido de AFM₁ superior al LMR establecido para la Unión Europea, con un valor promedio de 0,064 µg/kg, lo que difiere de lo encontrado en Arequipa por Ortiz (2009), en ese estudio 10 establos fueron muestreados y las muestras de leche de todos ellos fueron negativas para AFM₁ según el LMR de la Unión Europea. Ortiz (2009) señaló que la alimentación de las vacas de esta zona está basada en cantidades limitadas de concentrado y ensilado de maíz, y que el medio anaerobio del ensilado de maíz no favorece la producción de AFB₁.

El contenido de AFM₁ encontrado en este estudio, está por debajo de lo encontrado en otros países. En México y Brasil, se encontró que el 18.6 y 59.6 por ciento de las muestras analizadas tuvieron un LMR mayor a la norma de la Unión Europea. (Goncalves *et al.* 2017 y Landeros *et al.* 2012).

Durante los 12 meses del periodo de estudio, solo las muestras del mes de setiembre estuvieron por debajo del LMR. El mayor porcentaje de muestras con contenido de AFM₁ por encima del LMR, fue observado en el mes de diciembre con un 45 por ciento, siendo

significativamente mayor ($P < 0,05$) que en los otros meses del estudio (tabla 6). Por el contrario, el mayor porcentaje de muestras sin contenido de AFM₁ se observó en los meses de agosto y septiembre.

Tabla 6: Contenido de AFM₁ en leche en µg/kg en los diferentes meses del año

MESES	N° de muestras /N° de >LMR	% de muestras >LMR	Promedio (µg/kg) ± SD	Min - Max
Febrero	55/3	5.45	0.022 ± 0.013	0 - 0.047
Marzo	38/10	26.31	0.031 ± 0.014	0 - 0.064
Abril	38/4	10.52	0.028 ± 0.014	0 - 0.062
Mayo	44/9	20.45	0.027 ± 0.019	0 - 0.082
Junio	46/14	30.43	0.028 ± 0.02	0 - 0.081
Julio	44/7	15.90	0.02 ± 0.021	0 - 0.087
Agosto	44/2	4.54	0.013 ± 0.015	0 - 0.052
Setiembre	44/0	0	0.012 ± 0.013	0 - 0.038
Octubre	44/3	6.81	0.014 ± 0.015	0 - 0.059
Noviembre	44/12	27.27	0.03 ± 0.015	0 - 0.052
Diciembre	44/20	45.45	0.04 ± 0.016	0 - 0.085
Enero	44/2	4.54	0.017 ± 0.015	0 - 0.075

AFM₁ Límite Máximo Residual = 0.05 PPB. SD=Desviación Estándar

Los meses de junio y diciembre presentaron el mayor número de muestras con contenido de AFM₁ superior al LMR, este resultado obtenido para este mes de junio estaría relacionado con el contenido de AFB₁ en la pasta de algodón y el afrecho de trigo que tuvo el 40 y 20 por ciento de muestras por encima del LMR. En el mes de diciembre todas las muestras de maíz, torta de soya y harina integral de soya tenían contenido de AFB₁, inferior al LMR. Sin embargo, la ingestión de AFB₁ en estos tres alimentos puede haber dado como resultado el incremento del contenido de AFM₁ en leche.

Variaciones en la tasa de transferencia pueden ser observadas: por las diferencias existentes entre las especies animales, la variabilidad individual (Battacone *et al.* 2005), tasa de ingestión, tasa de digestión, salud del animal, capacidad de biotransformación del hígado,

estado de la lactancia y producción de leche (Fink-Gremmels 2008 y Masoero *et al.* 2007). Además, podría haber otros factores en el manejo del forraje verde durante el transporte, el almacenamiento de los alimentos que favorece la presencia de AFB₁ en la ración o el manejo y limpieza de los comederos, los cuales no han sido abordados en el presente estudio.

4.2. EVALUACIÓN DEL USO DE UN SECUESTRANTE PARA DISMINUIR LA ABSORCIÓN DE AFLATOXINA B₁

4.2.1. Producción de leche

La producción de leche promedio para el último día del estudio fue de 20.58 l/día para el T1 (alimento contaminado con AFB₁) y 19.1 l/día para el T2 (alimento contaminado con AFB₁ más secuestrante), la producción de leche no fue afectada ($p>0.05$) por los tratamientos.

En investigaciones en las cuales se utilizaron paredes de levaduras o sus componentes, para disminuir el contenido de AFM₁ en la leche y en las cuales la contaminación de la ración osciló entre 342 y 2800 µg de AFB₁/vaca/día con un tiempo de exposición entre 5 y 7 días. Los autores no reportaron disminución en el consumo de la ración y por lo tanto no ocasionó una reducción en la producción de leche. (Kutz *et al.* 2009; Xiong *et al.* 2015; Ogunade *et al.* 2016; Goncalvez *et al.* 2016 y Rodríguez *et al.* 2019).

4.2.2. Contenido de Aflatoxina M₁ en la leche

La Unión Europea establece límites para AFB₁ de 5 µg/kg de alimento y para AFM₁ 0.05 µg/l de leche. En Estados Unidos la concentración de AFM₁ es regulada por Food and Drug Administration (FDA) quien estableció como límite para aflatoxinas M₁ 0.5 µg/l de leche y aflatoxina B₁ de 20 µg/kg en la ración. En este estudio el concentrado estuvo contaminado con 160.6 µg de AFB₁, que es equivalente a 14.45 µg/kg de materia seca, superior a la Unión Europea, pero inferior a FDA.

El contenido promedio de AFM₁ en leche para los días 5 y 6 fue de 0.66 y 0.6 µg/l para el T1, y 0.58 y 0.57 µg/l para el T2 respectivamente (Tabla 7), cantidades superiores a lo que señala FDA y la legislación de la Unión Europea como LMR. La adición del secuestrante a base de paredes de levaduras no logró disminuir el contenido ($p>0.05$) de AFM₁ a cantidades por debajo del LMR en el 100 por ciento de las muestras de leche. Sin embargo, en el T2 se

observó que el 42 (n=5) por ciento de las muestras tuvieron cantidades menores al LMR en comparación con el T1; en el cual solo un 17 (n=2) por ciento de las muestras estuvo por debajo del LMR del FDA.

Tabla 7: Efecto de los tratamientos sobre la producción de leche, el contenido de Aflatoxina M₁ en leche y la tasa de transferencia de Aflatoxina B₁ a Aflatoxina M₁

Parámetros evaluados	Tratamientos	
	AFB ₁	AFB ₁ + S
	Promedio ± DS	Promedio ± DS
Producción de leche (l)		
Día 5	20.36 ± 7.53	18 ± 7.51
Día 6	20.58 ± 5.63	19.1 ± 5.29
Contenido de AFM₁ e leche (µg/l)		
Día 5	0.66 ± 0.16	0.58 ± 0.28
Día 6	0.6 ± 0.19	0.57 ± 0.26
Tasa de Transferencia (%)		
Día 5	8.4 ± 3.5	6.75 ± 4.5
Día 6	7.68 ± 3.7	6.47 ± 5.7

El promedio es el resultado de 12 observaciones realizadas para los días 5 y 6 del experimento. DS= Desvío Estándar

Los resultados encontrados concuerdan con los estudios realizados por Ogunade *et al.* (2016), quienes al adicionar paredes de levaduras en raciones contaminadas con AFB₁ (1725 µg/vaca/día), reportaron 0.74 µg/l de leche de AFM₁, de igual forma Rojas *et al.* (2014) con raciones contaminadas con 880 µg de AFB₁/vaca/día, reportaron 1.19 µg de AFM₁/l de leche; Kissel *et al.* (2013), al utilizar raciones contaminadas con 2080 µg de AFB₁/vaca/día y adicionar glucamanos, la cantidad de AFM₁ en leche fue de 2.69 µg/l de leche; Kutz *et al.* (2009), con raciones contaminadas con 2500 µg de AFB₁/vaca/día y usando como secuestrante paredes de levaduras, reportaron 1.84 µg/l de leche de AFM₁.

La combinación de Montmorrillonita de sodio y fragmentos de levaduras adicionados a raciones contaminadas con 342 $\mu\text{g}/\text{AFB}_1/\text{vaca}/\text{día}$, logró disminuir el contenido de AFM_1 en leche (0.088 $\mu\text{g}/\text{l}$) por debajo de lo establecido por FDA (Xiong *et al.* 2015). Por otro lado, Rodríguez *et al.* (2019) al utilizar paredes de levaduras más arcillas en raciones contaminadas (2800 $\mu\text{g}/\text{AFB}_1/\text{vaca}/\text{día}$), consiguieron disminuir el contenido de AFM_1 (0.2 $\mu\text{g}/\text{l}$) en leche por debajo del LMR que señala FDA.

Aazami *et al.* (2019) utilizaron como secuestrantes, paredes de levaduras y β -glucano (componente de la pared de las levaduras) en raciones de ovinos. La AFB_1 fue administrada oralmente a través de cápsulas (480 μg), el análisis se realizó al tercer y quinto día, obteniendo que el secuestrante a base de paredes de levaduras no logró disminuir el contenido de AFM_1 al tercer día. Recién al decimoquinto día se logró disminuir por debajo del LMR, mientras que el secuestrante a base de β -glucano disminuyó AFM_1 (0.04 $\mu\text{g}/\text{l}$) a partir del tercer día por debajo del LMR para la Unión Europea. La diferencia de los resultados encontrados por diferentes investigadores se puede deber a diferencia en el metabolismo de la AFB_1 en el hígado, lo que está relacionado con la cantidad de las enzimas microsomales entre las diferentes especies; las diferentes concentraciones de AFB_1 en las raciones y la cantidad de días de exposición a la ración contaminada y al secuestrante.

El efecto protector de las levaduras se basa en el contenido de manano y β -glucano de las paredes celulares, lo que podría sugerir que el contenido de estos compuestos fue insuficiente para secuestrar la AFB_1 . Aunque, estos resultados también podrían estar relacionados a otros factores, como que el maíz haya estado contaminado con ochratoxina A, fumonisinas y zeararelonas (Raj *et al.* 2020) y que estos fragmentos de levaduras hayan secuestrado estas micotoxinas (Bueno 2014) o que el secuestrante (Kihal *et al.* 2020) se haya unido a vitaminas y aminoácidos razón por la cual disminuyó su eficacia.

En este estudio la ración no fue totalmente mezclada, para evitar la contaminación de la máquina y garantizar el consumo total del alimento contaminado. Primero se agregó el concentrado y luego el forraje, este procedimiento puede haber favorecido que los animales consuman el concentrado que tiene partículas más pequeñas, lo que ocasiona un pasaje más rápido por el tracto gastrointestinal impidiendo que el secuestrante actúe sobre la AFB_1 (Queiroz *et al.* 2012).

En todas las investigaciones consultadas no se reporta el porcentaje de muestras que lograron una disminución de AFM₁ por debajo del LMR por el uso de secuestrantes. En este estudio se ha observado variabilidad entre los resultados para el contenido de AFM₁, por ejemplo, en el tratamiento con secuestrante el rango ha ido desde no detectado hasta 0.9 µg/l de leche. Además, el 42 por ciento de las muestras presentaron contenido de AFM₁ por debajo del LMR establecido por FDA, lo que es importante para la salud humana y animal, por lo que debería ser tomado en cuenta.

La reducción de la cantidad de AFM₁ en la leche, al adicionar el secuestrante fue del 5 por ciento, lo que es semejante a lo encontrado por Kutz *et al.* (2009), quienes reportaron una reducción del 4 por ciento con los componentes de paredes de levaduras utilizados como secuestrantes, pero inferior a lo reportado por Díaz *et al.* (2004), quienes lograron un 59 por ciento, usando también paredes de levaduras. Al utilizar una mezcla de arcillas con paredes de levaduras Xiong *et al.* (2015) y Rodríguez *et al.* (2019) obtuvieron una reducción del 18 y 63 por ciento respectivamente. En el estudio realizado por Gonçalves *et al.* (2019), quienes utilizaron diferentes presentaciones de la pared celular como secuestrante de AFB₁, reportaron que la pared celular de la levadura y la levadura parcialmente deshidratada (de cervecería) redujeron la AFM₁ en la leche en 69.8 y 62.8 por ciento, respectivamente; mientras que la levadura autolizada y la levadura seca (caña de azúcar) redujeron los niveles de AFM₁ en 45.6 y 47.5 por ciento, respectivamente, lo que sugiere que diferentes formas de presentación de la pared de levadura tendrían diferente eficacia en la reducción de AFM₁.

4.2.3. Tasa de transferencia de Aflatoxina B₁ a Aflatoxina M₁

La tasa de transferencia de AFB₁ del alimento a AFM₁ en la leche para el día 5 y 6 fue de 8.4 y 7.68 por ciento para el T1 y 6.75 y 6.47 para el T2 respectivamente, no encontrándose diferencias ($p > 0.05$) entre los tratamientos (Figura 4). Los resultados del T2 en este estudio son mayores a lo reportado por Kutz *et al.* (2009), quienes reportaron una tasa de transferencia de 2.52 por ciento al incluir un secuestrante (aluminosilicatos más paredes de levaduras) en la ración contaminada con 2500 µg de AFB₁. Gonçalves *et al.* (2016) utilizando paredes de levaduras y levadura deshidrata obtuvieron una tasa de transferencia de 0.51 y 0.37 por ciento al sexto día de alimentar a vacas con 480 µg de AFB₁, mientras que

en otros estudios en los cuales se usó una combinación de arcillas y levaduras, se tuvo una tasa de transferencia de 1 y 6 por ciento (Rodríguez *et al.* 2019).

En el estudio realizado por Hernández-Valdivia *et al.* (2021), reportaron una tasa de transferencia de 0.71 a 0.78 por ciento. Bervis *et al.* (2021) en la investigación que realizaron en España, muestreando en diferentes regiones raciones completas y leche de vaca, registrando una tasa de transferencia de 8.8 por ciento, porcentaje semejante al T1 y mayor al T2, mientras que Rangel-Muñoz *et al.* (2020), reportaron 0.09 por ciento como tasa de transferencia para vacunos lecheros que consumieron raciones contaminadas con 621 µg de AFB₁.

La tasa de transferencia puede variar de animal a animal dependiendo de diversos factores tales como la cantidad de AFB₁ en la ración, el metabolismo del hígado, la producción de leche, animales con mayor producción de leche tienen una tasa de transferencia mayor (Fink-Gremmels 2008; Xiong *et al.* 2015 y Bervis *et al.* 2021). Otros estudios han señalado, que influye también el día en que se realiza el análisis de leche, se ha observado que la tasa de transferencia disminuye del día tres al día quince del experimento o si los animales se encuentran al principio o al final de la lactación (Mazoero *et al.* 2007 y Aazami *et al.* 2019) estos factores pueden haber influido en los resultados encontrados.

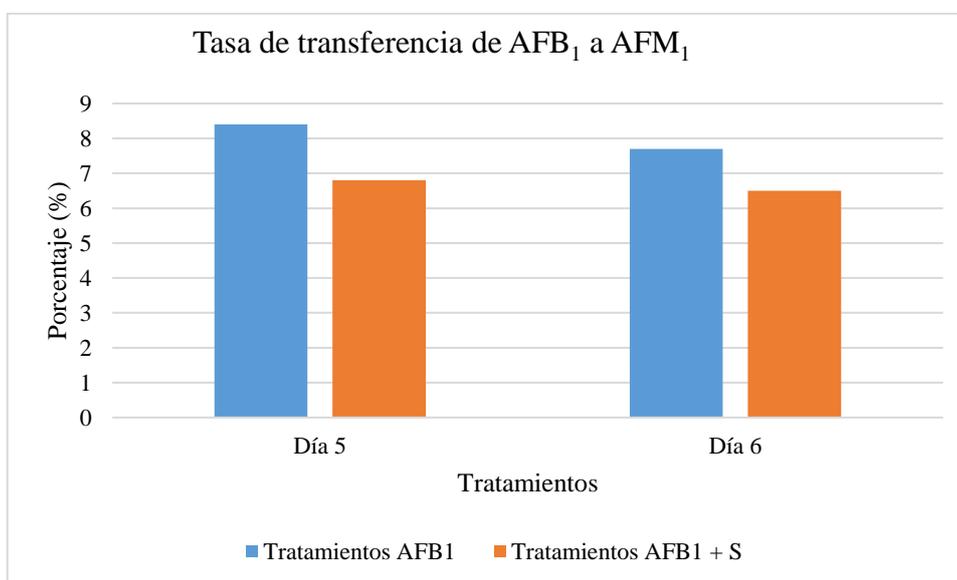


Figura 4: Tasa de transferencia de AFB₁ a AFM₁ en los dos tratamientos (cada barra representa el promedio de 12 observaciones)

En el periodo en el cual se retiró el alimento contaminado con AFB₁ en las raciones de las vacas, no se reportó AFM₁ en leche al día 5 y 6, lo que coincide con lo encontrado en otros estudios, que señalan que, a partir del segundo día de retiro del alimento contaminado, la AFM₁ ya no es detectada en leche (Xiong *et al.* 2015; Ogunade *et al.* 2016 y Rodríguez *et al.* 2019).

4.3. CONTENIDO DE AFLATOXINA B₁ EN ALIMENTOS PARA VACUNOS DE LA ZONA DE LURIN

Se recolectaron en total 18 muestras en las dos estaciones del año. El contenido de AFB₁ encontrado en maíz, torta de soya y afrecho se muestran en las Tabla 8. Se observó que de las 18 muestras analizadas en las dos estaciones del año (invierno y verano), el 61.33 por ciento (n= 11) de las muestras presentaron contenido de AFB₁ menor al LMR de la Unión Europea (5 µg/kg), el 33.33 (n = 6) por ciento de las muestras se encontraron por debajo del límite de detección y el 5.56 por ciento (n = 1) presentaron contenido mayor al LMR de la Unión Europea. No se encontraron diferencias (p>0.05) entre el contenido de AFB₁ de estos alimentos.

Cuadro 8: Contenido de AFB₁ (µg/k) en afrecho, maíz y torta de soya en la estación de verano e invierno

Alimentos	Invierno		Verano	
	Promedio	Min - Max	Promedio	Min - Max
Afrecho	0.77 ± 0.12	0.7 - 0.9	1.77 ± 0.47	1.4 - 2.4
Maíz entero	9.1 ± 14.04	0.5 - 25.3	DLD	DLD
Torta de soya	0.5 ± 0.17	0.4 – 0.7	DLD	DLD

DLD = Debajo del Límite de detección

En la estación de invierno las muestras de afrecho y torta de soya presentaron contenido de AFB₁, sin pasar el LMR establecido por la Unión Europea. El 33.3 (n=1) por ciento de las muestras de maíz presentaron contenido de 25 µg de AFB₁/kg el cual es mayor al LMR. En la estación de verano solo el afrecho presentó contenido de AFB₁, sin pasar el LMR. El 100 por ciento de las muestras de maíz y de torta de soya no presentaron contenido detectable de

AFB₁. No se encontraron diferencias ($p>0.05$) entre la estación de invierno y verano, para los alimentos analizados.

Los resultados encontrados en este estudio de 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ en torta de soya, son menores a los obtenidos en el muestreo realizado en los molinos de la ciudad de Chincha, donde se obtuvo un contenido de 1.8, $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB₁ (Guerrero y Parreño 2018). El contenido promedio de AFB₁ en el maíz (9.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) fue menor a lo reportado por Rojas *et al.* (2021) quienes muestrearon y analizaron maíz de mercados de Lima y reportó un contenido de 33.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB₁. En el estudio realizado en China se reportó el siguiente contenido de AFB₁: en el maíz 33 $\mu\text{g}/\text{kg}$, en el afrecho de trigo fue de 9.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y en la torta de soya 1.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Xiong *et al.* 2018), valores superiores a los encontrados en este estudio. El contenido de AFB₁ en maíz es menor a lo encontrado por Raj *et al.* (2020) en África (264 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y en Europa (54 $\mu\text{g}/\text{kg}$), pero mayor a lo encontrado en Asia (6 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y América Latina (1 $\mu\text{g}/\text{kg}$), en ese estudio también se tomaron muestras de Perú y en esa oportunidad no se detectó contenido de AFB₁.

La FAO (2014), señala que uno de los alimentos más susceptibles a la contaminación por AFB₁ es el maíz y que la contaminación se puede deber a que no se realizan buenas prácticas agrícolas en la cosecha o no hay un buen manejo de la poscosecha, que estarían relacionados con la desecación adecuada del maíz, que debe tener una humedad menor al 15 por ciento antes de las 48 horas de cosechado (Negash 2018) y el almacenamiento posterior con el control de la humedad y la temperatura.

Los resultados obtenidos en el maíz para la estación de invierno coinciden con lo encontrado por Bervis *et al.* (2021), en el muestreo de las raciones para animales en 4 provincias de España, donde encontró mayor contenido de AFB₁ en invierno y lo relacionó con el mayor porcentaje de maíz que se usa en invierno que en verano. A su vez Costamagna *et al.* (2018) en los alimentos muestreados en dos provincias que pertenecen a la principal cuenca lechera de argentina, en los cuales el promedio del contenido de AFB₁ fue mayor en invierno que en verano. Sin embargo, Hernández y Navarro (2015) en su estudio reportaron que en la estación de primavera el contenido de AFB₁ fue mayor que invierno, seguido del verano y que el otoño presentó el menor contenido. Estos resultados estarían relacionados con las

variaciones existentes en temperaturas y humedad en las estaciones de verano e invierno en las diferentes regiones y países.

En el caso de la zona de estudio Lurín, los resultados encontrados estarían relacionados con la mayor humedad en los meses de la estación de invierno, lo que favorece la contaminación con aflatoxinas en el almacenamiento (Armijo y Calderón 2009).

V. CONCLUSIONES

1. El contenido promedio de AFM₁ en leche durante los 12 meses de estudio no excedió el límite máximo residual de la legislación Europea de 0.05 µg/l, en una explotación intensiva de la costa norte del país. Sin embargo, el 16 por ciento de las muestras tenían un nivel de AFM₁ superior al límite máximo residual. Por lo que es necesario un programa de monitoreo continuo.
2. El contenido promedio de AFB₁ en muestras de maíz, torta de soya y harina integral de soya no excedió el límite máximo residual de 5 µg/kg. La pasta de algodón y el afrecho de trigo que fueron usados por un corto periodo del año, mostraron una gran susceptibilidad a la contaminación con AFB₁, por lo que deben ser monitoreados continuamente.
3. En este estudio los tratamientos, ración contaminada con AFB₁ y ración contaminada con AFB₁ más la adición del secuestrante, no afectaron la producción de leche en los días de exposición.
4. La adición de un secuestrante a base de fragmentos de levaduras a la ración contaminada con AFB₁, no logró disminuir el contenido de AFM₁ en la leche por debajo de 0.5 µg/l que norma la FDA en el 100 por ciento de las muestras, solo lo logró en el 42 por ciento de estas. Sin embargo, esta disminución es importante para la salud humana y animal. La tasa de transferencia de AFB₁/AFM₁ fue semejante con o sin secuestrante en la dieta de los vacunos.
5. En las distribuidoras de alimentos de Lurin, el contenido de AFB₁ en los alimentos no estuvo influenciado por la estación del año. Sin embargo numericamente el maíz (9.1 µg/kg) fue el que presentó en promedio el mayor contenido de AFB₁ en la estación de invierno, superando el LMR. Se debe monitorear el alimento cuando llegue a la distribuidora y controlar las condiciones de humedad y temperatura en el almacenamiento.

VI. RECOMENDACIONES

1. Que La industria láctea realice los esfuerzos para cumplir las normas de Límites máximos residuales para aflatoxinas, lo que garantizaría la seguridad relacionada con el consumo de leche.
2. Implementar procedimientos estandarizados para hacer frente a una eventual contaminación de los insumos debería validarse en todos los establos.
3. Implementar procedimientos estandarizados para almacenamiento y transporte de los alimentos, que se utilizan para consumo de los animales.
4. Implementar un programa de monitoreo periódico de AFB₁ en alimentos y AFM₁ en leche, teniendo en cuenta la norma de la Unión Europea.
5. Es necesario realizar investigaciones con diferentes tipos y dosis de secuestrantes, que nos lleven a encontrar métodos eficaces y económicos para secuestrar la aflatoxina y así conseguir leche libre de AFM₁

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abiola, S; Njie, C; Mwanza, M. 2021. Behaviour of *Aspergillus parasiticus* in aflatoxin production as influenced by storage parameters using response surface methodology approach. *International Journal of Food Microbiology* 357(2):1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109369>.

Aazamia, M; Hasan, M; Nasria, F; Mojtahedia, M; Battacone, G. 2019. Effect of yeast cell wall and (1→3)- β -D-glucan on transfer of aflatoxin from feed to milk in Saanen dairy goats. *Animal Feed Science and Technology* 254 (1): 114191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2019.05.014>.

Armijo, J. y Calderón, J. 2009. Esquema de acciones para evitar, controlar y desinfectar productos de hongos y aflatoxinas. *Revista Peruana Química. Ing. Quím.* 12 (2):15-24

Battacone, G; Nudda, A; Palomba, M; Pascale, M; Nicolussi, P; Pulina, G. 2005. Transfer of aflatoxin B₁ from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. *Journal of Dairy Science* 88 (9):3063-3069. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72987-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72987-8)

Battacone, G; Nudda, A; Rassu, S; Decandia, M; Pulina G. 2012. Excretion pattern of aflatoxin M₁ in milk of goats fed a single dose of aflatoxin B₁. *Journal of Dairy Science* 95(5): 2656-2661. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2011-5003>.

Bervis, N; Lorán, S; Juan, T; Carramiñana, JJ; Herrera, A; Ariño, A; Herrera, M. 2021. Field Monitoring of Aflatoxins in Feed and Milk of High-Yielding Dairy Cows under Two Feeding Systems. *Toxins* 2021 (13): 201. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins13030201>

Bilandžić, N; Varenina, I; Kolanović, BS; Luburić, ĐB; Benić, M; Cvetnić, L. 2016. Monitoring of aflatoxin M1 in raw cow milk in Croatia during Winter 2015. *Mljekarstvo*, 66(1): 81–85. DOI: 10.15567/mljekarstvo.2016.0109.

Bogantes-Ledezma, P; Bogantes-Ledezma, D; Bogantes-Ledezma; S. 2004. Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense* 46 (4): 174-178. DOI: <https://doi.org/10.51481/amc.v46i4.157>

Bueno, DJ. 2014. Efectos de los secuestrantes de micotoxinas en los piensos. Sitio Argentino de Producción Animal. Repositorio digital de acceso abierto. Disponible en: https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/intoxicaciones/206-micotoxinas.pdf

Caballero, J; Arbaiza, T; Lucas, O. 2001. Niveles críticos de aflatoxina en muestras de maíz para consumo animal en Lima metropolitana *Revista de Investigación Veterinaria de Perú*. 12(1): 125-127

Capelli, A; Suárez, G; García y Santos, C. 2019. Aflatoxinas en alimentos y leche de vaca de 18 establecimientos comerciales de las regiones centro-sur y oriente de Uruguay. *Veterinaria (Montevideo)*, 55 (212): 52-56. DOI: <https://doi.org/10.29155/vet.55.212.2>

Chohan, KA; Awan, F; Ali, MM; Iqbal, U; Ijaz, M. 2016. Assessment of aflatoxin in dairy concentrate feeds, total mixed rations, silage and various feed ingredients in Pakistan. *Pakistan Journal Zoological* 48 (1): 277–280. Disponible en: [http://zsp.com.pk/pdf48/277-280%20\(35\)%20Short%20communications%20QPJZ-0050-2015%2017-8-15.pdf](http://zsp.com.pk/pdf48/277-280%20(35)%20Short%20communications%20QPJZ-0050-2015%2017-8-15.pdf)

Choudhary A. and Kumari P. 2010. Management Of Mycotoxin Contamination In Preharvest And Post Harvest Crops: Present Status And Future Prospects. *Journal of Phytology*. 2(7): 37-52. Disponible en: www.journal-phytology.com

Codex-Alimentarius. 2012. Prevención y reducción de la contaminación de los alimentos y piensos. Primera edición. (en línea, sitio web) Disponible en: <https://www.fao.org/3/i2556s/i2556s.pdf>

Costamagna, D; Gaggiotti, M; Signorini, M. 2018. INTA – Estación Experimental Agropecuaria Rafaela Información Técnica de Producción Animal. Publicación Miscelánea VI (4): 20 -24. Disponible en: https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/84989/CONICET_Digital_Nro.b8334bf5-3bee-489a-88fd-f83d7784b4fb_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Díaz, D.E; Hagler, W.M; Blackwelder, JT; Eva, JA; Hopkins, BA; Anderson, KL; Jones, FT; Whitlow, LW. 2004. Aflatoxin Binders II: Reduction of Aflatoxin M₁ in Milk by Sequestering Agents of Cows Consuming Aflatoxin in Feed. *Mycopathologia* 57(2):233-41. DOI: 10.1023/b:myco.0000020587.93872.59.

Díaz, D. 2005. The Mycotoxin blue book. Nottingham, Nottingham University Press. Reino Unido 349 p.

Deng Y. and Szczerba M. 2011. Computational evaluation of bonding between aflatoxin B₁ and smectite. *Applied Clay Science* 54(1):26-33. DOI: 10.1016/j.clay.2011.07.007

Dragacci, S; Grosso, F. 2001. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography for determination of aflatoxin M₁ in liquid milk. *Journal of AOAC International* 84 (2): 437-443. DOI: 10.1093/jaoac/84.2.437

European Commission (EC), 2006. European Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union* L 70: 12-34.

European-Commission. 2006. Commission regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (en línea). *Official Journal of the European Union* 364:5-24. Disponible en: <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2006R1881:20100701:EN:PDF>

Fallah, AA; Rahnama, M; Jafari, T; Saci-Dehkordi SS. 2011. Seasonal variation of aflatoxin M₁ contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. *Food Control*, 22: 1653 – 1656. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.03.024

FAO (Food and Agriculture Organization). 2004. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Disponible en <http://www.fao.org/3/a-y5499s.pdf>.

FAO e IFIF. 2014. Buenas prácticas para la industria de piensos – Implementación del Código de Prácticas Sobre Buena Alimentación Animal. Manual FAO de producción y sanidad animal. No 9. Roma. Disponible en: <https://www.fao.org/3/i1379s/i1379s.pdf>

FDA (Food and Drug Administration). 2000. Guidance for Industry: Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed. Accessed. Disponible: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-action-levels-poisonous-or-deleterious-substances-human-food-and-animal-feed>

Fink-Gremmels, J. 2008. The role of mycotoxins in the health and performance of dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1): 84–92. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.12.034>.

Flores-Flores, M.E. and Gonzalez-Penas, E., 2018. Short communication: Analysis of mycotoxins in Spanish milk. *Journal of Dairy Science*. 101:113- 117. DOI: <https://10.3168/jds.2017-13290>

Gimeno, A. 2004. Aflatoxina M₁ no leite. Riscos para a saúde pública, prevenção e controlo. *Revista de la Associação Portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais (IACA). Alimentação Animal* 49: 32-44. Disponible en: https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo1790.pdf

Gimeno, A; Martins, ML. 2011. Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos. Tercera Edi. *Special Nutrients, I* (ed.). Miami-USA, s.e. 1-130 p. Disponible en: <https://www.specialnutrients.com/pdf/book/3%20edicion%20MICOTOXINAS%20LR%20Secure.pdf>

Gizachew, D; Szonyi, B; Tegegne, A; Hanson, J; Grace, D. 2016. Aflatoxin contamination of milk and dairy feeds in the Great Addis Ababa milk shed, Ethiopia, *Food Control*. 59: 773–779. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.060>

Guerrero, A; Parreño, J. 2018. Determinación de micotoxinas por el método de Elisa en soya para aves en producción en la provincia de Chíncha, año 2016. *Revista Sociedad Química del Perú*. 84(1): 2. ISSN 1810-634X

Gonçalez, E., M. M. Pinto, S. Manginelli, and J. D. Felicio. 2004. Intoxicação de vacas leiteiras por farelo de algodão naturalmente contaminado com aflatoxinas. *Ciencia. Rural* 34:171–174. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782004000100026>

Gonçalves B.L., Gonçalves J.L., Rosim R.E., Cappato L.P., Cruz A.G, Oliveira C.A.F., Corassin C.H. 2016. Effects of different sources of *Saccharomyces cerevisiae* biomass on milk production, composition, and aflatoxin M₁ excretion in milk from dairy cows fed aflatoxin B₁, *Journal of Dairy Science*. 100 (7): 5701-5708. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12215>.

Gonçalves, L., Dalla-Rosa, A., Gonzales, S. L., Feltes, M. M. C., Badiale-Furlong, E., & Dors, G. C. 2017. Incidence of aflatoxin M₁ in fresh milk from small farms. *Food Science and Technology*. 37: 11-15. DOI:10.1590/1678-457X.06317

Guía de Almacenamiento de Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos. 2016. INOCUIDAD AGROALIMENTARIA SENASA. Disponible en: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2016/03/GUIAALMACENAMIENTO-DE-ALIMENTOS-WEB.pdf>

Hashemi, M. (2016a). Aflatoxin B₁ levels in feedstuffs from dairy cow farms in south of Iran. *Food and Agricultural Immunology*, 27(2): 251-258. DOI:10.1080/09540105.2015.1086319

Hernández, R. and Navarro, I. 2015. Surveillance of aflatoxin content in dairy cow feedstuff from Navarra (Spain). *Animal Feed Science and Technology* 200: 35-46. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2014.12.002

Hernandez-Valdivia, E; Valdivia-Flores, A; Cruz-Vazquez, C; Martínez-Saldaña, M; Quezada-Tristan, T; Rangel-Muñoz, E; Ortiz-Martinez, R; Medina-Esparza, L; JaramilloJuarez, J. 2021. Diagnosis of Subclinical Aflatoxicosis by Biochemical

Changes in Dairy Cows under Field Conditions (en línea). The Pakistan Veterinary Journal 41(01):33-38. DOI: <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2020.075>

Herrera, QL. 2012. Puesta a punto y validación de un método de análisis de aflatoxinas en frutos secos y cereales. Tesis de Maestría, Universidad de Zaragoza, Departamento de producción animal y ciencia de los alimentos, Zaragoza, España. 56 p.

Huaracha, M. 2021. Determinación de *Aspergillus* spp. y aflatoxinas en alimentos destinados al consumo de bovinos (*bos taurus*) y aflatoxina M₁ en leche provenientes de la asociación FONGAL Moquegua. TESIS Para optar el Título Profesional de ingeniero agroindustrial. Universidad Nacional de Moquegua. Disponible en: https://repositorio.unam.edu.pe/bitstream/handle/UNAM/270/D095_72198937_T-1644356981.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Hussein, HS; Brasel, JM. 2001. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology* 167: 101–134. DOI: 10.1016/s0300-483x(01)00471-1

Hussein, I; Anwar, J; Asi, M; Munawar, M; Kashif, M. 2010. Aflatoxin M₁ contamination in milk from five dairy species in Pakistan. *Food Control* 21:122-4. DOI: 10.1016/j.foodcont.2008.12.004

IARC (International Agency for Research on Cancer, Francia) Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Summary of data reported and evaluation. IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk to Humans. Lyon, France 2002:82

Jouany, JP; Yiannikouris, A. and Bertin, G. 2005. How yeast cell wall components can alleviate mycotoxicosis in animal production and improve the safety of edible animal products. *Journal Animal Science*. 14 (1):171–190. DOI: <https://doi.org/10.22358/jafs/70361/2005>.

Jouany, JP. (2007). Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Animal Feed Science and Technology*, 137(3-4): 342-362. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2007.06.009

Kabak, B; Dobson, A. y Var, I. 2006. Strategies to prevent mycotoxin contamination of food and animal feed: A review. *Critical Review in food Science and Nutrition*. 46(8): 593-619. DOI: 10.1080/10408390500436185

Kihal, A; Rodriguez-Prado, M; Godoy, C; Cristofol, C; Calsamiglia, S. 2020. In vitro assessment of the capacity of certain mycotoxin binders to adsorb some amino acids and water-soluble vitamins. *Journal of Dairy Science*. 103: 4. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17561>

Kihal, A; Rodríguez-Prado, M. and Calsamiglia, M. 2023. A network meta-analysis on the efficacy of different mycotoxin binders to reduce aflatoxin M1 in milk after aflatoxin B1 challenge in dairy cows *Journal Dairy Science* 106:5379–5387. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2022-23028>

Kuiper-Goodman, T. (1994). “Prevention of Human Mycotoxicoses Through Risk Assessment Risk Management”. In: J.D.Miller H.L.Trenholm (eds.), *Mycotoxins In Grain, Compounds Other Than Aflatoxin*. Eagan Press, St.Paul, Minnesota. 439-469 p.

Kissell, L; Davidson, S; Hopkins, B.A; Smith, GW. and Whitlow LW. 2013. Effect of experimental feed additives on aflatoxin in milk of dairy cows fed aflatoxin-contaminated diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 97 (4): 694–700. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2012.01311.x

Kogan, G. and Kocher, A. 2007. Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*. 109 (1): 161-165. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.134>

Kutz, RE., Sampson JD., Pompeu LB, Ledoux DR, Spain JN, Vázquez-Añón M, Rottinghaus GE. 2009. Efficacy of Solis, NovasilPlus, and MTB-100 to reduce aflatoxin M₁ levels in milk of early to mid lactation dairy cows fed aflatoxin B₁. *Journal Dairy Science* 92(8):3959-63. Doi: 10.3168/jds.2009-2031.

Landeros, P; Noa, M; López, Y; González, D; Noa, E; Real, M; Juárez, C; Medina, M. 2012. Niveles De Aflatoxina M₁ En Leche Cruda Y Pasteurizada Comercializada En La

Zona Metropolitana De Guadalajara, México. Revista de Salud Animal. 34 (1): 40-45. (en línea, Web) <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v34n1/rsa06112.pdf>

Londoño, EM. y Martínez, MM. Aflatoxinas en alimentos y exposición dietaria como factor de riesgo para el carcinoma hepatocelular 2017. Revista de Biosalud. 16(1): 53-66. DOI: 10.17151/biosa.2017.16.1.7

Martínez, MM; Vargas del Río, LM; Gómez, VM. 2013. Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención. Revista de Biosalud. 12(2): 89-109. ISSN 1657-9550.

Masoero, F; Galloa, A; Moschinia, M; Pivaa, G; Diaza, D. 2007. Carryover of aflatoxin from feed to milk in dairy cows with lower high somatic cell counts. Animal. 1:1344-1350. DOI: 10.1017/S1751731107000663

Mejía, N; Alvarado, P; Vásquez, N. 2014. Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en Mercados de Trujillo (Perú) Revista Científica de Estudiantes Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo – Perú. REBIOLEST. 2(2): e30. (en línea) <https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/747>

MERCOSUR/GMC (Mercado Común del Sur, Uruguay) Resolution 25/02 (2002). Reglamento técnico MERCOSUR sobre límites máximos de aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz.

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego, Perú) Decreto Supremo que aprueba el reglamento de la Leche y Productos Lácteos. D. S. N° 007 – 2017 – MINAGRI

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego, Perú). Estudio de la Ganadería Lechera en el Perú. Análisis de su estructura, Dinámica y Propuesta de Desarrollo, 2017.

Mora-Medina, R; Lora-Benítez, A; Molina-López, A; Ayala-Soldado, N; Moyano-Salvago, R. 2023. Effects of chronic low-dose aflatoxin B1 exposure in lactating Florida dairy goats, Journal of Dairy Science. 106 (5): 3641-3649. Doi: <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22704>
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030223001224>

Munksgaard, L; Larsen, J; Werner, H; Andersen, PE. and Viuf, BT. 1987. Carry over of aflatoxin from cows' feed to milk and milk products. *Milchwissenschaft* 42:165–167

Negash, D. 2018. A review of aflatoxin: occurrence, prevention, and gaps in both food and feed safety. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering* 8(2):190–197. DOI: 10.15406/JNHFE.2018.08.00268

Official Journal of the European Union. (2003a). “Amending Regulation (EC) 466/2001 as regard aflatoxins”. 12 December 2003. Commission Regulation (EC) No. 2174/2003. L326/12.

Ogunade, I; Arriola, K; Jiang, Y; Driver, J; Staples, C; Adesogan, A. 2016. Effects of 3 sequestering agents on milk aflatoxin M₁ concentration and the performance and immune status of dairy cows fed diets artificially contaminated with aflatoxin B₁. *J. Dairy Sci.* 99:6263–6273. Doi: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-10905>

Onyemelukwe, GC; Ogoina, D; Ibiam, GE; Ogbadu, GH. 2012. Aflatoxins in body fluids and food of Nigerian Children with protein – energy malnutrition. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development* 12(5):6553-6566. (en línea) <https://www.ajol.info/index.php/ajfand/article/view/80485>

Ortiz, C. 2009. Análisis De Aflatoxina M₁ En Leche Fresca De Establos Lecheros De Arequipa- *Revista de Investigación Veterinaria Perú* 20 (1): 139-141. (en línea) <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v20n1/a21v20n1.pdf>

Peraica M., Radic B., Lucic A. y Pavlovic M. 1999 Efectos toxicos de las micotoxinas en el ser humano. *Bulletin of the World Health Organization* 77 (9): 754 – 766. (en línea) <http://higiene.unex.es/bibliogr/micotoxi/toxici.pdf>

Prandini, A.; Tansini, G.; Sigolo, S.; Filippi, L. and Laporta P., G. 2009. On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology* 47: 984-991. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.10.005>.

Queiroz, OC; Han, M; JH; Staples, CR. and Adesogan, A.T. 2012. Effect of adding a mycotoxin-sequestering agent on milk aflatoxin M₁ concentration and the performance

and immune response of dairy cattle fed an aflatoxin B1-contaminated diet. *Journal Dairy Science* 95:5901–5908. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2011-5287>

Rajeev, B. and Ravishankar, VR. 2010. Mycotoxins in Food and Feed: Present Status and Future Concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 9: 57-81. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2009.00094.x>

Raj, J; Hunor, F; Jakovčević, Z; Vasiljević, M; Magan, N. 2021. Múltiples micotoxinas detectadas en el maíz cosechadas en el 2020 en cuatro continentes. *Mycotoxin site*. Com Recuperado de: <https://mycotoxinsite.com/multiples-micotoxinas-detectadas-maiz-cosechado-2020-cuatro-continentes/>

Rangel-Muñoz, EJ; Valdivia-Flores, AG; Moreno-Rico, O; Hernández-Delgado, S; Cruz Vázquez, C; De-Luna-López, MC; Quezada-Tristán, T; Ortiz-Martínez, R; Máyek-Pérez, N. 2020. Caracterización de *Aspergillus Flavus* y cuantificación de aflatoxinas en pienso y leche cruda de vacas en Aguascalientes, México (en línea). *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 11(2):435-454. DOI: <https://doi.org/10.22319/rmcp.v11i2.5686>

Reyes, W; Martínez, S; Espinosa, V; Vera, M; De Lucas, E; Rojo, F. 2009. Aflatoxinas totales en raciones de bovinos y AFM₁ en leche cruda obtenida en establos del estado de Jalisco, México. *Técnica Pecuaria en México*. 47(2):223-230. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/613/61312116009.pdf>

Rodríguez, RO; Ledoux, DR; Rottinghaus, GE; Borutova, R; Averkieva, O; and McFadden, TB. 2019. Feed additives containing sequestrant clay minerals and inactivated yeast reduce aflatoxin excretion in milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 102:6614–6623. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16151>

Rojas, J.; Chacón, M.; Díaz, A.; Castañeda, L. 2021. Cuantificación de aflatoxinas carcinogénicas en alimentos no procesados y su implicación para el consumo en Lima, Perú. *Nutrición Hospitalaria*. 38(1):146-151. DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.03240>.

Ruiz Quiroz, J. 2016. Las micotoxinas y salud. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82(4), 387-388. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2016000400001&lng=es&tlng=es.

Shephard, G. 2003. Exposición humana a las aflatoxinas y fumonisinas. Disponible en: <file:///F:/articulo%20para%20aflatoxinas/AFLATOXINA%20EN%20HUMANOS/Shepard%202003%20Exposici%C3%B3n%20humana%20a%20AF.pdf>

Song, DK. And Karr, AL. 1993. Soybean phytoalexin, glyceollin, prevents accumulation of aflatoxin B₁ in cultures of *Aspergillus flavus*. *Journal of Chemical Ecology* 19: 1183 – 1194. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00987379>

Starkl, V. 2008. Biotransformación, adsorción, bioprotección; tres estrategias combinadas garantizan el éxito en el control de micotoxinas. Disponible en: <http://www.engormix.com/MAmicotoxinas/articulos/biotransformacionadsorcionbioproteccion-tres-t2110/251-p0.htm>

Steven, S; Tess, M. 2008. Lateral Flow Quantitative Method for the Detection of Mycotoxins. *ACS Symposium Series*. 1001. 314-319. DOI: 10.1021/bk-2008-1001.ch019.

Tapia - Salazar, M; García Pérez, OD; López, MN; Ricquemarie, D; Villarreal-Cavazos, D; Cruz-Suarez, LE. 2010. Usos de secuestrantes para disminuir la toxicidad de micotoxinas en alimentos para acuicultura. Programa Maricultura. México, Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. pp. 514 – 546. Disponible en: <https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/119>

Tsakiris, N; Tzatzarakis, MN; Athanasios, K; Alegakis, AK; Vlachou, MI; Renieri, E. A. 2013. Risk assessment scenarios of children's exposure to aflatoxin M₁ residues in different milk types from the Greek market. *Food Chem. Toxicol.* 56: 261–265. DOI: 10.1016/j.fct.2013.02.024

Tolosa, J; Rodríguez-Carrasco, Y; Ruiz, M.J; Vila-Donat, P. 2021. Multi-mycotoxin occurrence in feed, metabolism and carry-over to animal-derived food products: A review. *Food and Chemical Toxicology* 158: 112661. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112661>

Vásquez, P. 2006. Evaluación de aflatoxinas en suplementos para vacas lecheras en la sabana de Bogotá, y su relación con aflatoxina m1 en leche. Tesis para optar el Título de Zootecnista. Universidad De La Salle Facultad De Zootecnia Bogotá D.C. 91 p.

Veldman, A; Meijs, J; Borggreve, G; Heeres-van der G, T. 1992. Carry-over of aflatoxin from cows' food to milk. *Anim. Prod.* 55:163–168. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0003356100037417>

Williams, JH; Phillips, TD; Jolly, PE; Stiles, JK; Jolly, CM; Aggarwal, D. 2004. Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *American Journal of Clinical Nutrition.* 80:1106-1122. DOI: 10.1093/ajcn/80.5.1106

Whitlow, LW. And Hagler, WM. 2005. An association of mycotoxins with production, health and reproduction in dairy cattle and guidelines for prevention and treatment. *Proc. South West Nutricion, Conference.* (Pag. 124 – 128). Disponible en: https://en.engormix.com/mycotoxins/mycotoxins-dairy-cattle/association-mycotoxins-production-health_a33919/

Whitlow, L. W. (2006). Evaluation of mycotoxin binders. In *Proceedings of the 4th Mid-Atlantic Nutrition Conference* (pp. 132-143). Disponible en: https://biofuelscoproducts.umn.edu/sites/biofuelscoproducts.umn.edu/files/2021-09/cfans_asset_413777.pdf

Xiong, JL; Wang, YM; Nennich, TD; Li, Y. and Liu, JX. 2015. Transfer of dietary aflatoxin B1 to milk aflatoxin M1 and effect of inclusion of adsorbent in the diet of dairy cows. *Journal Dairy Science.* 98:2545–2554. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7842>

Xiong JL., Xiong LL., Zhou HL., Liu YL., Wu, LY. 2018. Occurrence of aflatoxin B1 in dairy cow feedstuff and aflatoxin M1 in UHT and pasteurized milk in central China. *Food Control* 92 (5): 386-390. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.022>

Xiong, J; Peng, L; Zhou, H; Lin, B; Yan, P; Wu, W; Liu, Y; Wu, L; Qiu, Y. 2020. Prevalence of Aflatoxin M₁ in raw milk and three types of liquid milk products in central-

south China (en línea). Food Control 108:106840. DOI:
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.106840>.

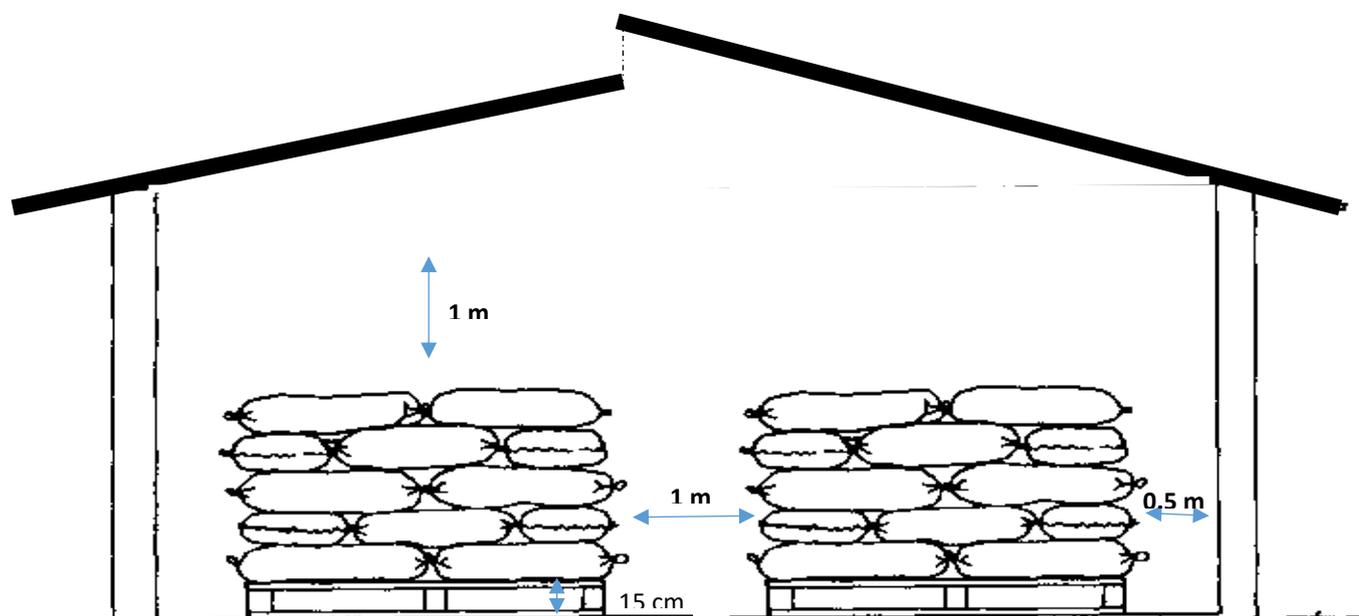
Yard, EE; Daniel, JH; Lewis, LS; Rybak, ME; Paliakov, EM; Kim, AA. 2013. Human aflatoxin exposure in Kenya, 2007: a crosssectional study. Food Addit Contam Part Chem Anal Control Expo Risk Assess 30(7):1322-31. DOI:
10.1080/19440049.2013.789558

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Lista de cotejo de almacén (elaborado según manual de SENASA).

1	INSTALACIONES Y EQUIPOS	SI	NO	OBSERVACIONES
2	Existe un edificio o zona donde se almacenen los insumos			
3	Existe un encargado del almacén			
4	Se realiza la desinfección			
5	Existe higrómetro (grado de humedad)			
6	El local se encuentra sin residuos de alimento, grasa u otro material			
7	Existen insectos			
8	Existen roedores			
9	Existen pájaros			
10	Techo impermeable al agua			
11	Paredes lisas y de color claro			
12	Piso liso, sin grietas, antideslizante			
13	Piso y paredes de fácil limpieza			
14	Cuenta con servicios higiénicos			
15	Servicio higiénicos limpios, desinfectados			
16	Cuenta con agua y desagüe			
17	Ventilación natural, no polvo, no gases			
18	Iluminación natural			
19	Iluminación artificial			
20	Registro de limpieza de almacén			
21	Limpieza diaria después de carga y descarga			
22	Instrumentos de limpieza guardados fuera del almacén			
23	Cuenta con zonas de salida libres			
	TRANSPORTE			
24	La descarga y carga se hace Camión almacén (no ptos. Intermedios)			
25	Los insumos no son muy manipulados			
26	Registro de control de ingreso y de salida			
27	Cuenta con depósitos para desechos con tapa			
	ORDENAMIENTO			
28	Insumos de movimiento diario cerca al despacho			
29	Lotes antiguos no están en contacto con lotes nuevos (ruta señalada)			
30	Parihuelas a 15 cm del piso (mínimo)			
31	Del techo a los lotes 1 metro			
32	Producción apilada a 0.5 m de paredes y columnas			
33	Los insumos están etiquetados			

Anexo 2: Estibado correcto de sacos en almacén



Anexo 3: Protocolo para muestreo.

Definiciones

Lote: cantidad identificable de un producto alimenticio, entregada en una vez y que presenta, a juicio del agente responsable, características comunes, como el origen, la variedad, el tipo de envase, el envasador, el expedidor o el marcado;

Sublote: parte de un lote más grande designada para aplicar en ella el método de muestreo; cada sublote deberá estar separado físicamente y ser identificable;

Muestra elemental: cantidad de material tomada en un único punto del lote o sublote;

Muestra global: agregación de todas las muestras elementales tomadas del lote o sublote;

Muestra de laboratorio: muestra destinada al laboratorio.

Número de muestras elementales que deben tomarse, en función del peso del lote de cereales y productos a base de cereales

Peso del lote (en toneladas)	Número de muestras elementales	Peso de la muestra global (en kg)
≤ 0,05	3	1
> 0,05-≤ 0,5	5	1
> 0,5-≤ 1	10	1
> 1-≤ 3	20	2
> 3-≤ 10	40	4
> 10-≤ 20	60	6
> 20-≤ 50	100	10

(Reglamento de la Comisión Europea No 401/2006)

Antes del muestreo se debe tener en consideración lo siguiente:

- Dado que la distribución de las micotoxinas no es por lo general homogénea, las muestras se prepararán y, sobre todo, homogeneizarán, con sumo cuidado.
- Para el análisis de las aflatoxinas conviene evitar en la medida de lo posible la luz del día durante la operación, puesto que las aflatoxinas se descomponen progresivamente bajo la influencia de la luz ultravioleta.

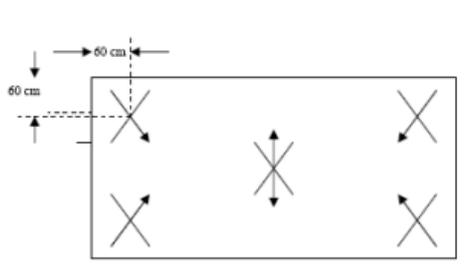
- **Procedimiento para muestreo de insumos a granel**

Para muestrear insumos a granel se utiliza el calador sonda con celdas.



Calador sonda

Los puntos de muestreo están relacionados con la cantidad de insumos que trae la tolva. Pueden ser cinco puntos de muestreo, uno por vértice y uno al centro.



Vagones o bodegas rectangulares de 0.1-15 toneladas, muestrear 5 puntos	
Vagones o bodegas rectangulares de 15-50 toneladas, muestrear 8 puntos.	
Vagones o bodegas rectangulares de 30-50 toneladas, muestrear 11 puntos.	

Puntos de muestreo en camiones

El calador es introducido con las celdas hacia arriba y cerradas. Luego se abren las celdas y con movimiento ascendente y descendente del calador para que las celdas se llenen de insumo.

Cerrar las celdas y retirar el calador depositando el insumo en el depósito de muestreo.

Se procede del mismo modo con todos los puntos de muestreo y tomar una muestra de cada boquilla. Mezclar las caladas y las muestras provenientes de las boquillas en el depósito de muestreo para obtener una muestra homogénea.

Procedimiento para muestreo de insumos en sacos:

1. Para muestrear insumos que vienen en sacos se utiliza el calador de bolsas que corresponda de acuerdo a la clasificación.



2. Introducir el calador en el saco con el canal hacia arriba.
3. Mover el mismo para que se llene de insumo. Retirar el calador y depositar en las bolsas de muestras.
4. El peso de la muestra elemental será de aproximadamente 100 g
5. La cantidad mínima de sacos a muestrear de cada lote será

$$n = \frac{\text{Peso del lote} \times \text{Peso de la muestra elemental}}{\text{Peso de la muestra global} \times \text{Peso de un envase individual}}$$

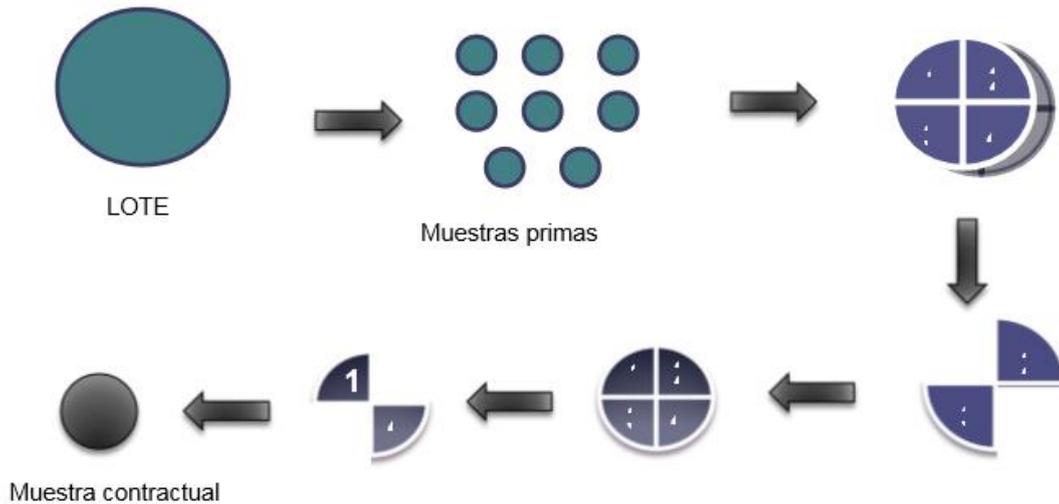
Reducción de la muestra

Para reducir la muestra es indispensable realizar el método de cuarteo que consiste en lo siguiente: (Tejada 1992).

El material homogenizado se coloca en una superficie plana y se extiende en una capa gruesa.
- Se divide en 4 partes iguales. - Se descartan dos de los cuartos opuestos entre sí eliminando el material contenido en ello.

Se mezclan las dos partes restantes hasta homogenizar la muestra y se extiende nuevamente sobre la superficie.

Se repite la operación de reducción y homogenización hasta conseguir el peso o tamaño adecuado de la muestra.



Método del cuarteo

Fuente: Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, FMVZ-UNAM,

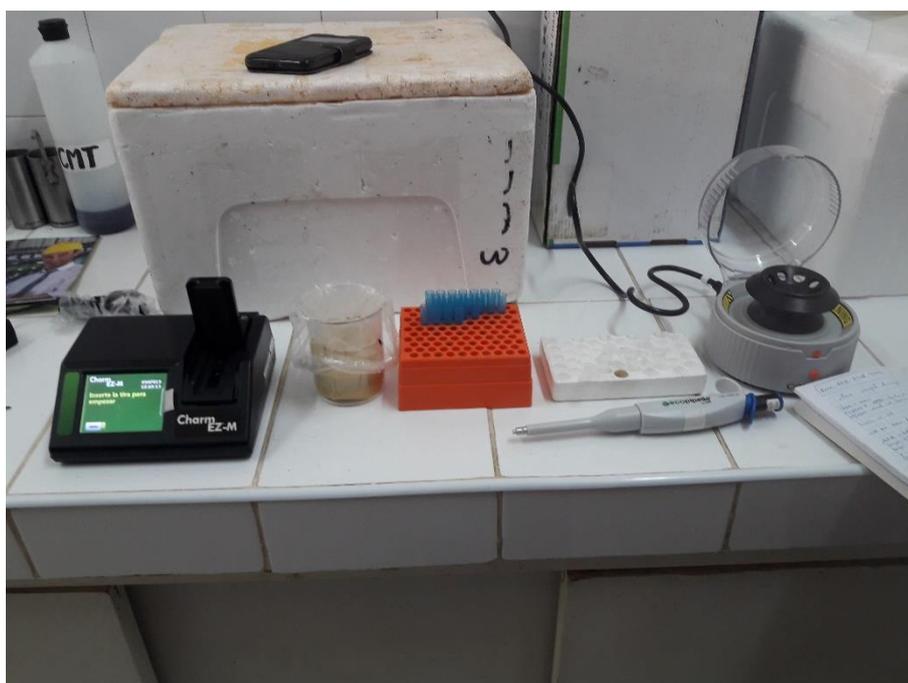
Procedimiento para muestrear leche

La muestra global deberá ser de al menos un litro.

El lote se mezclará bien, en la medida de lo posible y siempre que ello no afecte a la calidad del producto, por medios manuales o mecánicos inmediatamente antes de procederse al muestreo.

Se tomará tres muestras elementales por tanque para formar la muestra global.

Anexo 4: Muestreo de alimentos y equipo de analisis



Anexo 5: Suministro de alimento a las vacas del experimento



Anexo 6: Muestreo y equipo para análisis de AFM₁



Anexo 7. Resultados de la producción de leche y el contenido de Aflatoxina M₁

Producción de leche (l) diaria de las vacas según tratamiento																
Tratamientos	Día	Vacas en tratamiento						PROM	Vacas en tratamiento						PROM	Tratamiento
		A	B	C	D	E	F		A1	B1	C1	D1	E1	F1		
Ración libre de AFB1	5	15.5	20.5	19	14.5	12	29	18.4167	17	19.5	17.5	22	29.5	20.5	21	Ración libre de AFB1
	6	16	19	21	15	19	32	20.3333	19	16	10	16	28	20	18.1667	
Promedio		15.75	19.75	20.00	14.75	15.50	30.50	19.38	18.00	17.75	13.75	19.00	28.75	20.25	19.58	Promedio
Ración con AFB1 + S	5	17	17	20	16	16	34	20	20	19.5	19	22	30	20.5	21.83	Ración con AFB1
	6	14.5	18	17.5	24.5	14.5	30.5	19.9167	19.5	22	20.5	22	32	20	22.67	
Promedio		15.75	17.50	18.75	20.25	15.25	32.25	19.96	19.75	20.75	19.75	22.00	31.00	20.25	22.25	Promedio
Ración libre de AFB1	5	16	14	20	11.5	11	28	17	20	18	15	15.5	24	14	17.75	Ración libre de AFB1
	6	13.5	15.5	17.5	6	15	28.5	17	17	19	18	15	24	15	18.00	
Promedio		14.75	14.75	18.75	8.75	13.00	28.25	16.70	18.50	18.50	16.50	15.25	24.00	14.50	17.88	Promedio
Ración con AFB1	5	16.00	18.5	19.00	12.00	16.00	30.00	18.60	19.5	18.5	16	15.5	16	8	15.60	Ración con AFB1 + S
	6	16.00	18.00	21.00	10.50	15.50	30.00	18.50	19	19.5	15	19	26	11	18.25	
Promedio		16.00	18.00	20.00	11.25	15.75	30.00	18.55	19.25	19.00	15.50	19.00	21.00	9.50	17.21	Promedio
Concentración de AFB1 en leche (ug/l)																
Tratamientos	Día	Vacas en tratamiento						PROM	Vacas en tratamiento						PROM	Tratamiento
		A	B	C	D	E	F		A1	B1	C1	D1	E1	F1		
Ración libre de AFB1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Ración libre de AFB1
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Promedio																Promedio
Ración con AFB1 + S	5	0.759	0.605	0.99	0.682	0.495	1.078	0.768	0.561	0.946	0.627	0.825	0.737	0.858	0.76	Ración con AFB1
	6	0.65	0.62	0.92	0.83	0.47	0.9	0.732	0.67	0.5	0.65	0.95	0.7	0.58	0.68	
Promedio		0.70	0.61	0.96	0.76	0.48	0.99	0.750	0.62	0.72	0.64	0.89	0.72	0.72	0.72	Promedio
Ración libre de AFB1	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Ración libre de AFB1
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Promedio																Promedio
Ración con AFB1	5	0.45	0.71	0.61	0.44	0.48	0.71	0.57	0.33	0.62	0.35	0.5	0.24	0.17	0.37	Ración con AFB1 + S
	6	0.74	0.62	0.54	0.17	0.39	0.68	0.52	0.39	0.56	0.47	0.7	0.31	0	0.41	
Promedio		0.60	0.67	0.58	0.31	0.44	0.70	0.55	0.36	0.59	0.41	0.60	0.28	0.09	0.39	Promedio

Anexo 8: Protocolo sugerido para prevenir contaminación de AFB₁

Este protocolo ha sido diseñado para empresas ganaderas de crianza intensiva de ganado vacuno lechero, que preparan raciones totalmente mezcladas con insumos que compran regularmente y que elaboran ensilado.

Transporte:

- Las tolvas de los camiones que transportan los insumos deben estar limpias y protegidas con lona para evitar la humedad.
- El transportista deberá tener el registro de limpieza y desinfección de la tolva.
- Se muestrearán los insumos para análisis de AFB₁ antes que ingresen al almacén o cada 30 días.
- Trimestralmente se enviará una muestra de las diferentes raciones completas proporcionada a vacas para análisis de AFB₁
- Se registrará la fecha y procedencia de cada insumo que llegue al almacén.

Almacenamiento:

- Buena ventilación, evitar zonas de alta humedad y protegidos de la lluvia
- Limpieza permanente de la zona donde se almacenan los insumos
- Utilizar sacos limpios y en buen estado
- Los sacos deben estar sobre tarimas con una separación del suelo de 15 cm.
- Los sacos apilados tendrán una separación de 0.5 metro de la pared
- El apilamiento de sacos no deberá sobrepasar los 2 metros de altura
- Las instalaciones deben ser desinfectadas trimestralmente

Insumos:

- En el caso que los granos (maíz, soya, trigo) tengan más de 5 por ciento de grano partido debe realizarse análisis de AFB₁.
- Los insumos que presenten una concentración alta de AFB₁, deberán ser diluidos hasta conseguir menos de 5 µg/kg en la ración.

Comederos:

- Los comederos deberán limpiarse todos los días.
- No se suministrará la ración sobre restos de la ración del día anterior.
- Debe mantenerse el manejo de ingrediente más antiguo es el que se usa primero.

Este programa preventivo es monitoreado en su efectividad mediante el análisis cada 15 días de AFM₁ de la leche almacenada en tanque. Adicionalmente considerando los niveles de AFB₁ en alimentos y AFM₁ en leche, así como los niveles deseados de AFM₁ en leche se deberá incluir, a un nivel adecuado, el uso de agentes detoxificadores de micotoxinas en la ración.