

**Incidencia de aflatoxinas y fumonisinas en
diferentes dietas balanceadas y en la carne de
bovinos estabulados**

Lia Graciela Rosa Rodríguez

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2020

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Incidencia de aflatoxinas y fumonisinas en diferentes dietas balanceadas y en la carne de bovinos estabulados

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Lia Graciela Rosa Rodríguez

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2020

Incidencia de aflatoxinas y fumonisinas en diferentes dietas balanceadas y en la carne de bovinos estabulados

Lia Graciela Rosa Rodríguez

Resumen. Los granos forman parte del 50-58% de las dietas balanceadas suministradas al ganado estabulado. Las micotoxinas presentes en alimentos balanceados contaminados provocan efectos adversos en la salud de los animales y humanos. Las aflatoxinas y fumonisinas son las micotoxinas más frecuentes en piensos. El objetivo del presente estudio fue cuantificar los niveles de aflatoxinas y fumonisinas en cuatro diferentes dietas destinadas en cada etapa de engorde para ganado estabulado, en una finca en la aldea El Cerro del Vigía (municipio de Catacamas, Olancho, Honduras) y en las respectivas muestras de carne una vez sacrificados. El ganado fue alimentado durante 120 días con las dietas y al día 122 fueron sacrificados. Se recolectaron nueve muestras por dieta y 10 muestras de carne de 10 animales seleccionados al azar. Las muestras se analizaron con fluorimetría ELISA. La dieta final presentó los máximos niveles de aflatoxinas (9.2 ppb) y fumonisinas (4.2 ppm). Los niveles de aflatoxinas en las muestras de carne fueron menores que el límite de detección (1.4 ppb) y el máximo nivel de fumonisinas observada fue de 0.41 ppm. Se encontró mayor incidencia de aflatoxinas en las dietas y mayor incidencia de fumonisinas en las muestras de carne. Ningún valor encontrado de fumonisinas y aflatoxinas en las muestras de las dietas y carne superaron los niveles máximos tolerados en alimentos y piensos establecidos por la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés).

Palabras clave: ELISA, ganado, micotoxinas.

Abstract. Grains comprise between 50-58% of feed diets supplied to stabled cattle. Mycotoxins present in contaminated feeds cause health problems to animals and humans. Aflatoxins and fumonisins are the most common mycotoxins found in feed. The objective of the study was to quantify the levels of aflatoxins and fumonisins in four different diets fed in each stabled beef cattle from a farm in the village of El Cerro del Vigía (municipality of Catacamas, Olancho, Honduras) and in meat samples once they were slaughtered. Cattle were fed with the diets for 120 days and on day 122, they were slaughtered. Nine samples per diet, and 10 meat samples from 10 randomly selected animals were collected. The samples were analyzed with Fluorometric ELISA. The final diet presented the highest levels of aflatoxins (9.2 ppb) and fumonisins (4.2 ppm). The aflatoxins levels in the meat samples were below the detection limit (1.4 ppb) and the maximum level of fumonisins observed was 0.41 ppm. A higher incidence of aflatoxins was found in the diets and a higher incidence of fumonisins in the meat samples. Neither values of fumonisins and aflatoxins found in the diets and meat samples respectively, exceeded the maximum allowed levels in food and feed established by the Food and Drug Administration (FDA).

Key words: Cattle, ELISA, mycotoxins.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---------------------------------------|-----------|
| Portadilla | i |
| Página de firmas | ii |
| Resumen | iii |
| Índice general | iv |
| Índice de Cuadros | v |
| | |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 3 |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 6 |
| 4. CONCLUSIONES..... | 11 |
| 5. RECOMENDACIONES..... | 12 |
| 6. LITERATURA CITADA | 13 |

ÍNDICE DE CUADROS

| Cuadros | Página |
|--|--------|
| 1. Formulación porcentual de las cuatro dietas suministradas al ganado estabulado en el Cerro del Vigía por un periodo de 120 días | 3 |
| 2. Resultados de los análisis estadísticos de las dietas en base a los resultados de aflatoxinas (ppb) y fumonisinas (ppm). | 6 |
| 3. Valores medios y máximos de aflatoxinas y fumonisinas en cada dieta. | 7 |
| 4. Resultados de análisis de aflatoxinas y micotoxinas en muestras de carne por el método DC-ELISA..... | 9 |

1. INTRODUCCIÓN

La producción de carne utilizando el sistema de estabulación o “feedlot”, conocido por su nombre en inglés, ha tenido un incremento considerable en los últimos años en Centroamérica. El engorde de ganado en estabulación representa un sistema intensivo de confinamiento enfocado en alimentar de manera constante al ganado con dietas balanceadas para aumentar su masa muscular y deposición de grasa. En contraste con la ganadería extensiva, el sistema de engorde estabulado comprende una inversión en infraestructura, alimentación, costos laborales y médicos más altos (Alshannaq y Yu 2017), pero con resultados en un lapso de 100-120 días.

Varios ganaderos en Honduras han adoptado la nueva tendencia de engorde de ganado estabulado, el cual está reemplazando paulatinamente el engorde por pastoreo. La producción y el consumo de carne de res en el país y a nivel Centroamericano se han elevado en los últimos años. Según las autoridades de la Secretaría de Agricultura y Ganadería (SAG), Honduras mensualmente exporta dos millones de dólares en carne de res al mercado internacional (Funes 2018). Así mismo, se espera que para el 2027 el consumo global de carne per cápita aumente a 35.4 kg. (FAO 2018).

Las dietas suministradas al ganado estabulado mayormente están elaboradas con granos como el maíz y soya, los cuales son la fuente de energía y proteína. Desafortunadamente, cerca del 25% de la producción global de granos se contaminan por micotoxinas cada año (Marin *et al.* 2013). Por lo tanto, existe una posibilidad latente que los piensos destinados para la alimentación del ganado de engorde estabulado presenten contaminación por micotoxinas.

Las micotoxinas son metabolitos secundarios de los hongos que comprometen la inocuidad de los alimentos y por consecuencia, la salud de los humanos y animales. La incidencia natural de este tipo de toxinas en el alimento para consumo humano y animal se ha convertido en un problema de salud de interés (Pleadin *et al.* 2019). Las micotoxinas de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, y *Penicillium* son los contaminantes más frecuentes en alimentos y piensos (Sweeney 1998). La contaminación por micotoxinas en los cultivos puede ocurrir durante el crecimiento, recolección, procesamiento, empaque, distribución y almacenamiento de los productos alimenticios (Pereira *et al.* 2014). Así mismo, dichas micotoxinas se encuentran con mayor prevalencia en granos o cereales como el maíz, soya y arroz (Akinmusire *et al.* 2019).

Algunas micotoxinas como las aflatoxinas (B1, B2, G1, G2 y M1), fumonisinas (B1 y B2) producen efectos cancerogénicos, además de otras patogenicidades provocadas por su toxicidad (Ostry *et al.* 2017). La fumonisina B1 promueve cáncer y defectos en el tubo neural en animales y cáncer hepático y esofágico en humanos (Moretti *et al.* 2013). Así mismo, se ha reportado que la presencia de aflatoxinas en los alimentos está relacionado con carcinoma hepatocelular y cáncer de hígado en humanos y animales (Xie *et al.* 2016). Los animales que consumen alimentos contaminados por aflatoxinas pueden transferir este contaminante a la carne, leche y huevos exponiendo al ser humano a poner en riesgo su salud al ser consumidos (FDA 2020).

Los granos comprenden entre el 50-58% de las dietas suministradas al ganado estabulado. Por lo tanto, se realizó un estudio para evaluar la incidencia de Aflatoxinas y Fumonisinias en las dietas del ganado y su carne tomando en consideración su propiedad de bioacumulación en fluidos, órganos y tejidos (Escrivá *et al.* 2017). Considerando la problemática descrita, se plantearon los siguientes objetivos en este estudio:

- Detectar presencia y niveles de aflatoxinas y fumonisinas en cuatro diferentes dietas suministradas a un determinado lote de ganado de engorde estabulado.
- Determinar niveles de aflatoxinas y fumonisinas en la carne del lote de ganado alimentado con las dietas evaluadas.
- Identificar y cuantificar qué tipo de micotoxina (aflatoxinas o fumonisinas) tiene mayor incidencia en las diferentes dietas y en la carne del lote de ganado estabulado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del estudio

El estudio se llevó a cabo en un lote de ganado de engorde estabulado en la aldea El Cerro del Vigía (municipio de Catacamas, Olancho, Honduras). Las muestras de las dietas se recolectaron en el Cerro del Vigía y las muestras de carne se obtuvieron de los animales cosechados en Agroindustrias del Corral, ubicado en Carretera CA-5, Km 121, Siguatepeque, Comayagua, Honduras. Los análisis químicos de las cuatro dietas se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ), ubicado en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Km. 30, carretera a Danlí, departamento de Francisco Morazán, Honduras. Las muestras de carne se analizaron en la empresa Agrobiotek Laboratorio que está ubicado en Tegucigalpa, Honduras.

Elaboración y recolección de muestras de dietas y carne

Dietas. Las cuatro dietas fueron elaboradas en un proceso semi-automático a base de las siguientes materias primas: heno, maíz, coquito, soya, urea, calcio, melaza y aceite de maíz. El porcentaje de inclusión de maíz aumentó y el porcentaje de heno, como fuente de materia seca, disminuyó gradualmente en cada dieta a medida que transcurrió el tiempo de engorde (Cuadro 1). La formulación de las dietas fue elaborada por un especialista en nutrición.

Cuadro 1. Formulación porcentual de las cuatro dietas suministradas al ganado estabulado en el Cerro del Vigía por un periodo de 120 días.

| Dieta | Heno (%) | Maíz (%) | Coquito (%) | Soya (%) | Urea (%) | Calcio (%) | Melaza (%) | Aceite maíz (%) |
|--------------|-----------------|-----------------|--------------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|------------------------|
| Recibimiento | 30 | 27 | 25.4 | 8 | 0.4 | 0.2 | 8 | 1 |
| Transición 1 | 20 | 35 | 26 | 6 | 0.6 | 0.4 | 11 | 1.5 |
| Transición 2 | 15 | 38 | 26 | 4 | 0.8 | 0.4 | 13.8 | 2 |
| Final | 10.3 | 50 | 20 | 3.5 | 1 | 0.2 | 15 | 0 |

Los ingredientes fueron vertidos en un mezclador automático de cuchilla para obtener una mezcla final homogénea. Las mezclas se almacenaron en sacos de nylon para facilitar el transporte hacia el lote de ganado. Las dietas eran elaboradas diariamente, dos tandas por día, una en la mañana y

la segunda a mediodía. El ganado estabulado era alimentado tres veces al día. Las dietas de Recibimiento, Transición 1 y 2, se suministraron durante 7 días cada una; la dieta final comprendió del día 21 al 120. El tiempo de suministro de cada dieta dependió de la ganancia de peso del ganado. La fase de toma de muestras se efectuó de mayo a agosto del 2020, correspondiente al ciclo de engorde del ganado bovino establecido por sus propietarios. Se recolectaron muestras de las cuatro dietas (Recibimiento, Transición #1, Transición #2 y Final) suministradas al ganado bovino en estabulación. Por cada dieta, se elaboraron tres lotes y de cada lote se extrajeron tres sub-muestras entre 300 – 500 g cada una en bolsas Ziploc®. El total de las muestras de las dietas fueron 36 (nueve muestras por cada dieta). Las muestras de las dietas se trasladaron al Laboratorio de Análisis de Alimento (LAAZ) para efectuar los análisis de micotoxinas.

Carne. El ganado bovino estabulado fue trasladado a la empresa Agroindustrias del Corral para ser cosechados a finales del mes de agosto cuando completaron su ciclo de engorde (4 meses). Se tomaron diez muestras aleatorias, una muestra por animal de 0.45 kg cada una. Las diez muestras de carne eran el músculo *semitendinoso*, o mano de piedra, conocido comúnmente. Las muestras fueron congeladas y trasladadas el siguiente día a las instalaciones de la empresa Agrobiotek Laboratorios, en hieleras para mantener su temperatura entre 0 – 4 °C.

Detección aflatoxinas y fumonisinas en alimentos

En el LAAZ y Agrobiotek Laboratorios se detectó la presencia y cuantificación de aflatoxinas y fumonisinas bajo el método de flurometría y ensayos competitivos por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) a través de columnas de inmunoafinidad para fumonisinas y aflatoxinas de VICAM. El límite de detección inferior en el LAAZ para las muestras de las dietas fue de 0.25 ppm (partes por millón) y 1 ppb (partes por billón) y el límite superior de 100 ppm y 50 ppb para fumonisinas y aflatoxinas, respectivamente. El límite inferior para detección de aflatoxinas y fumonisinas en Agrobiotek Laboratorio fue de 1.4 ppb y 1.4 ppm, respectivamente.

Análisis de fumonisinas totales

La cuantificación de fumonisinas totales en las muestras de dietas y carne se realizó mediante fluorometría utilizando el equipo de VICAM series 4EX (Watertown, MA, EUA). Para la preparación de las muestras se utilizó el método 2001.06 de la AOAC (Bird *et al.* 2002).

Brevemente, se agregaron 50 g de la muestra (dieta o carne), 5 g de NaCl y 100 mL de Metanol grado HPLC al 80% como solución extractora en una licuadora Oster® y se mezcló por 1 minuto. Las muestras de las dietas fueron previamente molidas y filtradas por una malla de acero inoxidable de 1 mm. La mezcla se vertió sobre un papel de filtro estriado, posteriormente 10 mL del filtrado se mezcló con 40 mL de Tween-20/25% PBS y se sometió a un segundo filtrado usando un filtro de microfibra. Se tomó 5 mL del extracto, se colocó en una jeringa de vidrio y se pasaron por las

columnas para fumonisinas a una velocidad de 1 - 2 gotas/segundo. Se realizaron tres lavados a la columna de inmunoafinidad; el primero con 5 mL de Tween-20/2.5% PBS y los dos siguientes con la solución de buffer de fosfato (PBS) a una velocidad de 1 - 2 gotas/segundo hasta que solamente circulara aire por la columna. La elusión de las fumonisinas en las columnas de inmunoafinidad se realizó utilizando 1 mL de metanol grado HPLC (pureza, 99.98%). El eluido se recolectó en celdas de vidrio y se agregó 1 mL de solución desarrolladora, se mezcló con un vortex y se midió la concentración de fumonisinas en ppm utilizando el fluorómetro VICAM serie-4EX.

Análisis de aflatoxinas totales

La cuantificación de aflatoxinas totales en las muestras de dietas y carne se realizó mediante fluorometría utilizando el equipo de VICAM series 4EX. Para el análisis se utilizó el método 991.31B de la AOAC (Nesheim *et al.* 1999).

Brevemente, se agregaron 25 g de la muestra (dieta o carne), 5 g de NaCl y 125 mL de Metanol grado HPLC al 70% como solución extractora en una licuadora Oster® y se mezcló por 2 minutos. Las muestras de las dietas fueron previamente molidas y filtradas por una malla de acero inoxidable de 1 mm. La mezcla se vertió sobre un papel de filtro estriado, posteriormente 15 mL del filtrado se mezcló con 30 mL de agua desionizada y se sometió a un segundo filtrado usando un filtro de microfibras y embudo. Se tomó 15 mL del extracto filtrado, se colocó en jeringas de vidrio y se pasaron por las columnas para aflatoxinas a velocidad de 1-2 gotas/segundo. Se realizaron dos lavados a la columna de inmunoafinidad con 10 mL de agua desionizada cada uno y a una velocidad de 1-2 gotas/segundo. Para la extracción de las aflatoxinas en la columna, se realizó la elusión utilizando 1 mL de metanol grado HPLC (pureza, 99.98%). El eluido se recolectó en celdas de vidrio y se agregó 1 mL de solución desarrolladora, se mezcló con un vortex y se midió la concentración de aflatoxinas en ppb utilizando el fluorómetro VICAM serie-4EX.

Diseño experimental y análisis estadístico

Se realizó un estudio descriptivo longitudinal ideal para medir incidencia. Se usó un Diseño de Bloques Completos al azar (BCA) con tres repeticiones para el análisis de las dietas y un análisis univariado para las muestras de carne para determinar la estadística descriptiva de las variables en estudio. La variable evaluada en las muestras fue cuantificación de aflatoxinas y fumonisinas. Los tratamientos evaluados en el experimento fueron las cuatro diferentes dietas: Dieta 1 (Recibimiento), Dieta 2 (Transición #1), Dieta 3 (Transición #2) y Dieta 4 (Final).

El análisis estadístico se realizó a través de un análisis de varianza (ANDEVA) para evaluar la significancia del modelo y una separación de medias a través de una prueba Duncan al 95% designificancia. Toda la información fue analizada mediante el programa "Statistical Analysis System" (SAS versión 9.4®).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Presencia de aflatoxinas y fumonisinas en las diferentes dietas

Los resultados de los análisis de detección de aflatoxinas y fumonisinas en las cuatro diferentes dietas (Recibimiento, Transición 1, Transición 2 y Final) demostraron que existe diferencia estadística entre los tratamientos con $P < .0001$ (Cuadro 2). Es decir, al menos una de las dietas presentó diferentes niveles de aflatoxinas y fumonisinas en comparación con el resto. La coexistencia de micotoxinas en los piensos se debe a tres principales razones (i) algunos hongos tienen la habilidad de producir simultáneamente un sin número de micotoxinas (ii) la mayoría de los granos básicos o “commodities” sufren contaminación por hongos y (iii) las dietas destinadas para consumo animal están principalmente elaboradas por granos básicos o materias primas de origen vegetal (Marin *et al.* 2013). Es por ello que, (Akinmusire *et al.* 2019), reporta una incidencia del 80% de fumonisinas y aflatoxinas en muestras de piensos principalmente conformados en su mayoría de maíz, harina de pescado, harina de soya y coquito para pollos de engorde.

Cuadro 2. Resultados de los análisis estadísticos de las dietas en base a los resultados de aflatoxinas (ppb) y fumonisinas (ppm).

| Micotoxinas | CV (%) | Pr>F |
|-------------|--------|--------|
| Aflatoxinas | 33.10 | <.0001 |
| Fumonisin | 37.64 | <.0001 |

CV (%): Coeficiente de Variación.

Pr>F: Diferencia significativa entre tratamientos ($P \leq 0.05$).

El maíz molido, harina de soya y coquito eran las principales materias primas provenientes de granos u origen vegetal que conformaban las dietas en el presente estudio. La presencia de estas materias primas de origen vegetal representaba un 60.4, 67, 68 y 73.5% respectivamente de la dieta 1-4. La dieta final presentó mayor incidencia de aflatoxinas y fumonisinas con valores máximos de 9.2 ppb y 4.2 ppm respectivamente, esto debido al mayor contenido de granos en su formulación (Cuadro 3). La fumonisina B1, metabolito producido por las especies *Fusarium proliferatum* y *F. verticillioides* (Upadhaya *et al.* 2010), es el contaminante más común en maíz y también se puede encontrar en sorgo, trigo, cebada, soya y plantas medicinales (Bennett y Klich 2003). Sin embargo, la aflatoxina B1, producida por el *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, es la más prevalente en granos cultivado en los trópicos y subtrópicos debido a que estas especies producen mayor toxina en un clima cálido y con alta humedad (Upadhaya *et al.* 2010). Por lo tanto, hubo mayor incidencia de aflatoxinas que fumonisinas en todas las dietas.

Cuadro 3. Valores medios y máximos de aflatoxinas y fumonisinas en cada dieta.

| Dieta | Media | | Valor máximo reportado | |
|--------------|-------------------|--------------------|------------------------|--------------------|
| | Aflatoxinas (ppb) | Fumonisinias (ppm) | Aflatoxinas (ppb) | Fumonisinias (ppm) |
| Recibimiento | 3.17 ^b | 1.77 ^b | 4.5 | 2.4 |
| Transición 1 | 2.79 ^b | 1.11 ^b | 4 | 2.1 |
| Transición 2 | 3.20 ^b | 1.49 ^b | 6 | 2.3 |
| Final | 6.21 ^a | 2.95 ^a | 9.2 | 4.2 |

^a ^b: Medias con letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre los tratamientos ($P \leq 0.05$)

En el presente estudio no se realizaron análisis de micotoxinas en las materias primas, por lo tanto, se considera que las principales fuentes de micotoxinas en las dietas fueron el maíz molido, la harina de soya y coquito. De acuerdo con el análisis de materias primas realizados por Akinmusire y colaboradores (2019), se encontraron valores promedios de micotoxinas (aflatoxinas y fumonisinas) en maíz de 176 ppb y 825 ppm respectivamente, en harina de soya de 38 ppb y 45 ppb respectivamente y en coquito de 162 ppb y 90 ppm respectivamente. En comparación con los resultados anteriormente mencionados por Akinmisure (2019), los resultados de aflatoxinas y fumonisinas no sobrepasaron los límites máximos permitidos por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, por sus siglas en inglés) para alimentos derivados de maíz u otros cereales para ganado de engorde, pero no cumple con el valor máximo permitido de aflatoxinas en Honduras. Los límites establecidos por el FDA son de 300 ppb para aflatoxinas (FDA Sat, 2020b) y 60 ppm (FDA Sat, 2020a) para fumonisinas establecidos para rumiantes mayores a los tres meses de edad para sacrificio. Sin embargo, Honduras solo ha establecido niveles máximos permisibles para aflatoxinas de 20 ppb para todos los alimentos y maíz (Domínguez 2009)

Los bajos niveles de micotoxinas en el estudio se atribuyen los factores como manejo, rápida rotación de inventario y buena calidad de las materias primas. Las dietas son elaboradas en la misma finca que se llevó a cabo el estudio. La finca dispone de una bodega para materias primas con aeración y protección de la lluvia, lo cual, permite que no esté expuesta a condiciones de altas temperaturas y alta humedad. Las dietas son elaboradas diariamente y en promedio a la semana se elaboran 172 kg de ración, que representa aproximadamente 19 kg diarios. Las dietas no son almacenadas, sino que son directamente suministradas al ganado tras la elaboración, permitiendo menos posibilidad de proliferación de micotoxinas preexistentes en la materia prima. Así mismo, el maíz que conforma el mayor porcentaje de las dietas y la soya son importados. Las materias primas de exportación presentan mejor calidad y son sujetas a regulaciones más estrictas que el producto nacional.

Repercusiones de la ingesta de micotoxinas en la salud de humanos y animales

La FDA ha controlado los niveles de micotoxinas, específicamente de aflatoxinas, desde 1969 debido a las extremas preocupaciones por la contaminación por micotoxinas en alimentos y

piensos. El valor máximo permisible de aflatoxinas en alimentos para consumo humano es de 20 ppb (FDA Sat, 2020a) y de fumonisinas es de 4 ppm (FDA Sat, 2020b) . La ingesta de piensos contaminados por altos niveles de micotoxinas puede causar desordenes reproductivos, inmunológicos y de rendimiento. Un estudio dirigido por (Custodio *et al.* 2020) consistió en suministrar dietas contaminadas con una dosis baja de aflatoxinas y fumonisinas (15 ppb y 45 ppm, respectivamente) a una parte de ganado de engorde raza Nellore de 4 meses de edad. La parte restante del ganado fue alimentado por una dieta control. Se alimentó al ganado diariamente con estas dietas *ad libitum* por 97 días. Al final del estudio se reportó que el ganado alimentado con la dieta contaminada presentó un bajo rendimiento reflejado en la ganancia diaria de peso en comparación con el ganado que recibió la dieta control. En este estudio no se realizó análisis de incidencia de micotoxinas en la carne de los bovinos del estudio.

Los efectos de las micotoxinas en los animales dependen de la edad del animal, cantidad consumida, tiempo de exposición y tipo de toxinas (Upadhaya *et al.* 2010). Otro estudio reflejó que los terneros de 4 días a 4 meses de edad son más sensibles a aflatoxinas, con dietas con niveles de 2, 220 o 440 ppb, al mostrar una disminución notable del ritmo del crecimiento (Keyl y Booth 1971; ONU 1982). En los animales mayores de cuatro meses no presentaron cambios significativos. Sin embargo, terneros de raza cruzada de 6 a 8 meses de edad no mostraron cambios en la ganancia diaria de peso al suministrarles alimento contaminado de 300 a 400 ppb de aflatoxinas por 133 días. Las ganancias diarias de peso cambiaron significativamente al aumentar la dosis de 700 y 1000 ppb. Los animales alimentados con 700 ppb de aflatoxinas sufrieron un aumento de tamaño considerable de su hígado y los animales alimentados con la dosis de 1000 ppb presentaron hígados anormales al presentar color grisáceo y textura aspera. (Keyl y Booth 1971). Tanto las aflatoxinas como las fumonisinas han sido relacionadas con cancer de hígado en humanos. La FB1 es la más prevalente y tóxica de las fumonisinas. El Centro Internacional de Investigación sobre el Cancer clasificó la FB1 como 2B, posible cancerígena para humanos (IARC 2002). Las micotoxinas son normalmente metabolizadas en el hígado y riñones, especialmente la aflatoxina, ya que son consideradas fuertes hepatoxinas y se han atribuido de causar necrosis en el hígado (Ashiq 2015).

Bioacumulación de micotoxinas

Las micotoxinas presentes en piensos pueden ser absorbidas por los animales y acumulada en la carne, leche y huevos (Becker-Algeri *et al.* 2016), convirtiéndose en un riesgo para la salud humana y así mismo afectar el metabolismo de los tejidos (Kinoshita *et al.* 2018). Debido a la característica bioacumulativa de las micotoxinas en la carne se realizaron análisis de aflatoxinas y fumonisinas en la carne de algunos bovinos pertenecientes al estudio (Cuadro 4). Los resultados indican que la presencia de aflatoxinas fue debajo del nivel mínimo de detección (1.4 ppb) y el máximo nivel de fumonisinas encontradas en la carne fue de 0.44 ppm. Ambos resultados no sobrepasan los límites establecidos para alimentos por la FDA en Estados Unidos (aflatoxinas 20 ppb y fumonisinas 4 ppm). Honduras actualmente no tiene una política vigente para regular micotoxinas en alimentos.

Si bien es cierto, los niveles de aflatoxinas en las dietas fueron mayor que los niveles fumonisinas y los resultados de la carne reportan mayor presencia de fumonisinas que aflatoxinas. Se ha

comprobado que los rumiantes son más resistentes a aflatoxinas y menos sensibles a los efectos de las fumonisinas al igual que los pollos (Capcarova *et al.* 2016). Los rumiantes son menos afectados por micotoxinas que los monogástricos debido a que los microorganismos ruminales tienen la capacidad de inactivar algunos de estos compuestos (Upadhaya *et al.* 2010). Las principales micotoxinas que estos microorganismos pueden degradar son las ocratoxinas y aflatoxinas B1. (Upadhaya *et al.* 2010). (Upadhaya SDevi *et al.* 2009) reportaron una degradación de 42% de aflatoxinas cuando fueron incubadas *in vitro* en fluido ruminal de búfalo. Los principales microorganismos responsables por la degradación de micotoxinas son los protozoarios del rumen. Al incubar jugo ruminal, (Cavret y Lecoeur 2006) demostraron que los protozoarios realizan el 90-100% del metabolismo ruminal y el resto es debido a bacterias.

Cuadro 4. Resultados de análisis de aflatoxinas y micotoxinas en muestras de carne por el método DC-ELISA.

| Muestra | Aflatoxinas (ppb) | Fumonisin (ppm) |
|----------------|--------------------------|------------------------|
| 1 | < 1.4 | < 0.20 |
| 2 | < 1.4 | < 0.20 |
| 3 | < 1.4 | < 0.20 |
| 4 | < 1.4 | < 0.20 |
| 5 | < 1.4 | 0.33 |
| 6 | < 1.4 | 0.24 |
| 7 | < 1.4 | 0.41 |
| 8 | < 1.4 | < 0.20 |
| 9 | < 1.4 | < 0.20 |
| 10 | < 1.4 | < 0.20 |

Por otra parte, las fumonisinas son micotoxinas hidrofílicas, estructuralmente diferentes de otras micotoxinas como la aflatoxinas, por ello, se pueden disolver completamente en solventes orgánicos (Alshannaq y Yu 2017). Debido a su hidrofiliidad, las fumonisinas no pueden ser acarreadas a la leche de bovino y la acumulación de FB1 es bien leve en tejidos comestibles como la carne (Richard 2007). Esto puede explicar por qué los niveles de aflatoxinas y fumonisinas son bajos en los resultados de análisis de micotoxinas en la carne, desafortunadamente, existen pocas fuentes literarias que midan específicamente la bioacumulación de micotoxinas en carne de bovino. La capacidad ruminal de metabolizar la aflatoxina y la conformación estructural de la fumonisina son responsables de una baja bioacumulación en los tejidos de los bovinos.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés) estima que aproximadamente el 25% de los cereales producidos en el mundo son contaminados por micotoxinas (FAO 2018). Las micotoxinas pueden entrar a la cadena alimenticia durante su crecimiento en campo, almacenamiento o durante el embarque y manejo que propicien el crecimiento de hongos. La mayoría de micotoxinas son termo resistentes, por lo tanto, se pueden

encontrar en harinas o alimentos procesados, las aflatoxinas y fumonisinas son unas de ellas. Las aflatoxinas pueden sobrevivir procesos como el rostizado, extrusión y horneado. Así mismo, las fumonisinas solo pueden ser reducidas con procesos que sobrepasen los 150 °C (Capcarova *et al.* 2016).

Existen en el mercado secuestrantes de micotoxinas con agentes orgánicos, inorgánicos y biológicos, los cuales se añaden a las dietas y contrarrestan los niveles y efectos de las micotoxinas en el organismo del animal. El método de acción de los secuestrantes orgánicos e inorgánicos consisten en que el agente secuestrante se adhiere a la toxina creando un compuesto toxina-secuestrador que pasa por todo el sistema gastrointestinal y es eliminado por medio de las excretas (Gallo y Masoero 2010). Por otra parte, algunos agentes biológicos son capaces de alterar la estructura molecular de la micotoxina y convertirla en un metabolito no tóxico que también es expulsado por las excretas del animal (Pietri *et al.* 2009). Entre los agentes orgánicos se encuentran las arcillas para reducir intoxicación por AFB1 en ganado (Gallo *et al.* 2010), las células de levaduras como agente orgánico (Custodio *et al.* 2020) y bacterias como la *Eubacterium* BBSH 797 como agente biológico (Pietri *et al.* 2009). Un estudio reciente realizado por (Custodio *et al.* 2020), reporta una recuperación parcial del rendimiento de un hato de ganado estabulado al adicionar un secuestrante de micotoxinas a base de células de levadura, en una dieta exógenamente contaminada por aflatoxinas y fumonisinas. La adición de secuestrantes de micotoxinas en los piensos puede ser una medida preventiva y correctiva que se puede utilizar en casos de piensos contaminados.

El mejor tratamiento contra las micotoxinas es la prevención. Es importante el control y monitoreo desde campo, implementar buenas prácticas agrícolas, un adecuado acondicionamiento de los granos como un secado apropiado, condiciones óptimas de almacenamiento, manejo adecuado de insectos ya que estos son vectores, uso de secuestrantes, entre otros. Así mismo, es fundamental la proyección del gobierno y programa de regulaciones rigurosas de micotoxinas en los países, tanto para producto nacional y de importación, ya que, el riesgo que presentan las micotoxinas para la salud humana y animal es inherente.

4. CONCLUSIONES

- Se detectó la presencia de aflatoxinas y fumonisinas en las 4 dietas evaluadas. La dieta final presentó los mayores niveles de aflatoxinas y fumonisinas debido a su alto contenido de granos en su formulación, sin embargo, no superan los niveles máximos tolerados establecidos para piensos de ganado de engorde.
- Los niveles de aflatoxinas y fumonisinas en la carne del lote de ganado estuvieron por debajo del límite establecido por la FDA.
- Hubo mayor incidencia de aflatoxinas que fumonisinas en las cuatro diferentes dietas, y hubo mayor incidencia de fumonisinas que aflatoxinas en la carne del lote de ganado evaluado.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar en futuros estudios análisis de micotoxinas en las materias primas utilizadas para la elaboración de piensos para bovinos de engorde para determinar la principal fuente de micotoxinas en las dietas.
- Analizar incidencia de micotoxinas en el hígado de bovinos en estabulación, ya que, ahí se encuentra la mayor acumulación y daño causado por micotoxinas.
- Evaluar en estudios fisiológicos la capacidad ruminal de metabolizar la aflatoxina y la conformación estructural de la fumonisina de los bovinos.

6. LITERATURA CITADA

- Akinmusire OO, El-Yuguda A-D, Musa JA, Oyedele OA, Sulyok M, Somorin YM, Ezekiel CN, Krska R. 2019. Mycotoxins in poultry feed and feed ingredients in Nigeria. *Mycotoxin Res.* 35(2):149–155. eng. doi:10.1007/s12550-018-0337-y.
- Alshannaq A, Yu J-H. 2017. Occurrence, Toxicity, and Analysis of Major Mycotoxins in Food. *International Journal of Environmental Research and Public Health.* 14(6):632. en. <https://www.mdpi.com/1660-4601/14/6/632/htm>. doi:10.3390/ijerph14060632.
- Ashiq S. 2015. Natural Occurrence of Mycotoxins in Food and Feed: Pakistan Perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* 14(2):159-175. doi:10.1111/1541-4337.12122.
- Becker-Algeri TA, Castagnaro D, Bortoli K de, Souza C de, Drunkler DA, Badiale-Furlong E. 2016. Mycotoxins in Bovine Milk and Dairy Products: A Review. *Journal of food science.* 81(3):R544-52. eng.
- Bennett JW, Klich M. 2003. Mycotoxins. *Clinical microbiology reviews.* 16(3):497–516. eng. doi:10.1128/cmr.16.3.497-516.2003.
- Bird CB, Malone B, Rice LG, Ross PF, Eppley R, Abouzied MM. 2002. Determination of total fumonisins in corn by competitive direct enzyme-linked immunosorbent assay: collaborative study. *J AOAC Int.* 85(2):404–410. eng.
- Capcarova M, Zbynovska K, Kalafova A, Bulla J, Bielik P. 2016. Environment contamination by mycotoxins and their occurrence in food and feed: Physiological aspects and economical approach. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes.* 51(4):236–244. eng. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26786025/>. doi:10.1080/03601234.2015.1120617.
- Cavret S, Lecoœur S. 2006. Fusariotoxin transfer in animal. *Food Chem Toxicol.* 44(3):444–453. eng. doi:10.1016/j.fct.2005.08.021.
- Custodio L, Prados LF, Figueira DN, Yiannikouris A, Gloria EM, Holder VB, Pettigrew JE, Santin E, Resende FD, Siqueira GR. 2020. Mycotoxin-contaminated Diets and an Adsorbent Affect the Performance of Nellore Bulls Finished in Feedlots. *Animal: an international journal of animal bioscience.* https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32290894/?from_erm=effects+of+mycotoxins+in+feedlot+cattle&from_filter=ds1.y_5&from_pos=2. doi:10.1017/S1751731120000737.
- Domínguez W. 2009. Estudio de caso- Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Honduras: Enfermedades transmitidas por los alimentos y su impacto socioeconómico. *Estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua; [consultado 2020 Oct 11].* 139–157. <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/011/i0480s/i0480s05.pdf>.

- Escrivá L, Font G, Manyes L, Berrada H. 2017. Studies on the Presence of Mycotoxins in Biological Samples: An Overview. *Toxins (Basel)*. 9(8). eng. doi:10.3390/toxins9080251.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2007. Cuadro 3: Niveles máximos tolerados para las micotoxinas en los alimentos, en los productos lácteos y en las raciones animales (encuesta 2002/2003). [lugar desconocido]: [editorial desconocida]; [actualizado 2007 Jan 5; consultado 2020 Oct 11]. <http://www.fao.org/3/y5499s/y5499s0g.htm>.
- [FAO] Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. 7 1 OECD-FAO Agricultural Outlook 2018-2027. [lugar desconocido]: OECD Publishing. http://www.fao.org/3/i9166e/i9166e_Chapter6_Meat.pdf.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2000. Guidance for Industry: Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed. FDA; [consultado 2020 Oct 2]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-action-levels-poisonous-or-deleterious-substances-human-food-and-animal-feed>.
- [FDA] Food and Drug Administration. 2001. Guidance for Industry: Fumonisin Levels in Human Foods and Animal Feeds. FDA; [consultado 2020 Oct 2]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-fumonisin-levels-human-foods-and-animal-feeds>.
- Funes E. 2018 Apr 15. SAG: Al mes Honduras exporta dos millones de dólares en carne de res. *Diario Tiempo Digital de Honduras*; [consultado 2020 Oct 26]. <https://tiempo.hn/carne-de-res-en-honduras-sag/>.
- Gallo A, Masoero F. 2010. In vitro models to evaluate the capacity of different sequestering agents to adsorb aflatoxins. *Italian Journal of Animal Science*. 9(1):e21. en. doi:10.4081/ijas.2010.e21.
- Gallo A, Masoero F, Bertuzzi T, Piva G, Pietri A. 2010. Effect of the inclusion of adsorbents on aflatoxin B1 quantification in animal feedstuffs. *Food additives & contaminants. Part A, Chemistry, analysis, control, exposure & risk assessment*. 27(1):54–63. eng. doi:10.1080/02652030903207219.
- [IARC] International Agency for Research on Cancer. 2002. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 82:1–556. eng.
- Keyl AC, Booth AN. 1971. Aflatoxin effects in livestock. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 48(10):599–604. eng. doi:10.1007/BF02544571.
- Kinoshita A, Keese C, Meyer U, Starke A, Wrenzycki C, Dänicke S, Rehage J. 2018. Chronic Effects of Fusarium Mycotoxins in Rations with or without Increased Concentrate Proportion on the Insulin Sensitivity in Lactating Dairy Cows. *Toxins (Basel)*. 10(5). eng.
- Marin S, Ramos AJ, Cano-Sancho G, Sanchis V. 2013. Mycotoxins: occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem Toxicol*. 60:218–237. eng. doi:10.1016/j.fct.2013.07.047.

- Moretti A, Susca A, Mulé G, Logrieco AF, Proctor RH. 2013. Molecular biodiversity of mycotoxigenic fungi that threaten food safety. *International Journal of Food Microbiology*. 167(1):57–66. eng. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23859402/>. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.06.033.
- Nesheim S, Trucksess MW, Page SW. 1999. Molar absorptivities of aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in acetonitrile, methanol, and toluene-acetonitrile (9 + 1) (modification of AOAC Official Method 971.22): collaborative study. *J AOAC Int*. 82(2):251–258. Eng.
- Ostry V, Malir F, Toman J, Grosse Y. 2017. Mycotoxins as human carcinogens-the IARC Monographs classification. *Mycotoxin Res*. 33(1):65–73. eng. doi:10.1007/s12550-016-0265-7.
- Pereira VL, Fernandes JO, Cunha SC. 2014. Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends in Food Science & Technology*. 36(2):96–136. doi:10.1016/j.tifs.2014.01.005.
- Pleadin J, Frece J, Markov K. 2019. Mycotoxins in food and feed. *Adv Food Nutr Res*. 89:298. eng. doi:10.1016/bs.afnr.2019.02.007
- Pietri A, Bertuzzi T, Piva G, Binder EM, Schatzmayr D, Rodrigues I. 2009. Aflatoxin Transfer from Naturally Contaminated Feed to Milk of Dairy Cows and the Efficacy of a Mycotoxin Deactivating Product. *International J. of Dairy Science*. 4(2):34–42. doi:10.3923/ijds.2009.34.42.
- Pleadin J, Frece J, Markov K. 2019. Mycotoxins in food and feed. *Adv Food Nutr Res*. 89:298. eng. doi:10.1016/bs.afnr.2019.02.007.
- Richard JL. 2007. Some major mycotoxins and their mycotoxicoses--an overview. *International Journal of Food Microbiology*. 119(1-2):3–10. eng. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.07.019.
- Sweeney M. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*. 43(3):141–158. doi:10.1016/S0168-1605(98)00112-3.
- Upadhaya SD, Park MA, Ha JK. 2010. Mycotoxins and Their Biotransformation in the Rumen: A Review. *Asian Australas. J. Anim. Sci [Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 23(9), 1250-1260]*. 23(9):1250–1260. doi:10.5713/AJAS.2010.R.06.
- Xie L, Chen M, Ying Y. 2016. Development of Methods for Determination of Aflatoxins. *Critical reviews in food science and nutrition*. 56(16):2642–2664. eng. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25840003/>. doi:10.1080/10408398.2014.907234.