Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano

Departamento de Agroindustria Alimentaria

Ingeniería Agroindustria alimentaria

Proyecto Especial de Graduación

Cuantificación rápida de deoxinivalenol (DON) y aflatoxinas totales en materias primas y producto balanceado para cerdos y vacas lactantes.

Estudiante

Laura Sofía Mérida Arellano

Asesores

Luis Maldonado, Ph.D.

Edward Moncada, MAE.

Honduras, septiembre 2024

Autoridades

SERGIO ANDRÉS RODRÍGUEZ ROYO

Rector

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

ADELA ACOSTA

Director(a) nombre Departamento Académico

JULIO NAVARRO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros....4

Índice de Figuras....5

Índice de Anexos....6

Resumen....7

Abstract....8

Introducción....9

Materiales y Métodos / Metodología....12

Ubicación del Estudio....12

Tipo de Estudio....12

Descripción tratamientos....12

Formulación de Dietas....13

Muestreo....14

Obtención de Micotoxinas....15

Preparación y Análisis de Muestras....15

Diseño Experimental y Análisis Estadístico....17

Resultados y Discusión....18

Tamaño de partícula o tamizaje....18

Aflatoxinas totales....18

Deoxinivalenol (DON)....23

Conclusiones....28

Recomendaciones....29

Referencias....30

Anexo....31

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Descripción de tratamientos. 12

Cuadro 2 Dieta vacas alta producción lechera 13

Cuadro 3 Dieta vacas Cerdo de engorde 13

Cuadro 4 Dieta Cerdos de Gestación 14

Cuadro 5 Tamizaje de materias primas y producto final. 18

Cuadro 6 Concentraciones de aflatoxinas totales en materias primas y dietas evaluadas. 19

Cuadro 7 Resumen de concentraciones de aflatoxinas totales entre materia prima y producto final. 21

Cuadro 8 Concentraciones de Deoxinivalenol (DON) en materias primas y dietas evaluadas. 24

Cuadro 9 Resumen de concentraciones de deoxinivalenol entre materias primas y producto final. 25

Índice de Figuras

Figura 1 Método de muestreo 14

Figura 2 Correlación entre niveles de Aflatoxinas totales en materias primas y dieta final. 22

Figura 3 Correlación entre niveles de Deoxinivalenol en materias primas y dieta final. 26

Índice de Anexos

Anexo A Revisión De Las Concentraciones Máximas Tolerables Para Ciertas Micotoxinas En El Alimento 31

Anexo B Regresión lineal de DON de Dieta cerdo de gestación 33

Anexo C Regresión lineal de DON de Dieta cerdo de engorde 34

Anexo D Regresión lineal de DON de Dieta de vacas de alta producción de leche 35

Resumen

Las micotoxinas son compuestos tóxicos producidos por hongos que afectan la salud animal, disminuyen el rendimiento productivo y afectan la calidad de productos como leche y carne. Este estudio evaluó materias primas (soya, maíz, semolina de arroz) y dietas balanceadas de la Planta de Concentrados de Zamorano, con el fin de correlacionar las concentraciones de micotoxinas en materias primas y en el alimento balanceado final. Se realizaron pruebas de tamizaje para uniformidad de muestras, procesando las materias primas y dietas con kits comerciales para cuantificar aflatoxinas totales y deoxinivalenol (DON). Para el análisis del tamizaje se usó un Diseño Completamente al Azar y separación de medias Duncan; los niveles de aflatoxinas y DON se analizaron con una prueba T de estudiante y un análisis de correlación. Los resultados indicaron que la mayoría de las materias primas presentaron mayores concentraciones de micotoxinas que el producto final. La harina de maíz mostró los mayores niveles de DON, con rangos de 0.1-5.1 ppm, mientras que la soya y semolina estuvieron bajo el límite permitido de 0.2 ppm. Las aflatoxinas en las materias primas y dietas se encontraron en rangos de 0.8-5.7 ppb, dentro de los límites aceptables. Se observó una correlación significativa de 0.9907 entre las concentraciones de DON en materias primas y dietas finales. Finalmente, se recomienda realizar un análisis confirmatorio mediante HPLC.

Palabras clave: Correlación, límites establecidos, micotoxinas, tamizaje.

Abstract

Mycotoxins are toxic compounds produced by fungi that negatively impact animal health, reducing productive performance and affecting the quality of derived products such as milk and meat. This study evaluated raw materials (soy, corn, and rice semolina) and several balanced diets from the Zamorano Animal Feed Plant, aiming to determine if there is a correlation between mycotoxin concentrations in the raw materials and the final balanced feed. Screening tests were conducted to ensure sample homogeneity, followed by processing the raw materials and balanced diets using commercial kits to quantify total aflatoxins and deoxynivalenol (DON). A Completely Randomized Design was employed for screening analysis, applying Duncan's multiple range test for mean separation. Total aflatoxins and DON levels were analyzed using a Student's t-test and correlation analysis. Results indicated that, in most cases, the raw materials presented higher mycotoxin concentrations than the final balanced feed. Cornmeal had higher concentrations of DON, ranging from 0.1-5.1 ppm, while soy and rice semolina were within permissible limits, below 0.2 ppm. Aflatoxin levels were found within the established limit, ranging from 0.8-4.5 ppb for raw materials and 2.2-5.7 ppb in the diets. A significant correlation of 0.9907 was observed between DON concentrations in the raw materials and balanced products. It is recommended to conduct a confirmatory analysis using High-Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Keywords: Correlation, established limits, mycotoxins, screening.

Introducción

Las micotoxinas son compuestos tóxicos producidos por algunos tipos de hongos conocidos como filamentosos o mohos, de los cuales crecen en numerosos alimentos o piensos, este crecimiento se puede dar antes o después de cosecha, durante el almacenamiento o en entornos húmedos y cálidos (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2023). A lo largo de las décadas, los científicos han identificado numerosos tipos de micotoxinas, cada una con propiedades tóxicas distintas. La micotoxicología nace en 1962, debido a una crisis veterinaria, donde murieron alrededor de 100 000 pavos. Debido a esto, la importancia de las micotoxinas ha crecido, puesto que, representa una amenaza directa para la salud de las personas y animales que consumen estos alimentos (Serrano-Coll y Cardona-Castro, 2015).

Existen una cantidad bastante extensa de estas toxinas donde algunas son más conocidas por su riesgo toxico para la salud del consumidor o animal, provocando ciertas enfermedades como problemas hepáticos, renales, gastrointestinales, entre otros para los humanos. Por otro lado, para consumo animal puede dar problemas productivos, reducción consumo de alimentos entre otros. Una micotoxina de suma importancia y de las más investigada son las aflatoxinas, las cuales son sustancias químicas producidas por cepas toxigénicas, principalmente de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, son frecuentemente encontradas en alimentos como maíz, arroz, maní y otros. La ingesta de aflatoxina puede producir aflatoxicosis (Ledezma et al., 2004). Por otro lado, está la deoxinivalenol (DON) o vomitoxina una micotoxina producida por el género Fusarium (*F. graminearum, F. culmorum*), uno de los contaminantes habituales de los cereales a escala mundial; formado por tres anillos parcialmente fusionados que incorpora un enlace epoxi, que lo hace resistente a los tratamientos térmicos y a la cantidad de agua disponible (Food and Agriculture Organization [FAO], 2003).

La presencia de micotoxinas en granos depende del desarrollo de cepas fúngicas específicas, sujetas a factores ambientales como humedad del sustrato y temperatura ambiente, además del método de procesamiento o producción y almacenamiento. Los cultivos más afectados son los

cereales: maíz, sorgo, trigo y arroz, semillas oleaginosas: soja, cacahuete, girasol y algodón, entre otros (OMS, 2023). La prevalencia de las micotoxinas es alta en todo el mundo, estimando el 25% de los cultivos a nivel mundial se ven afectados anualmente (Magnoli et al., 2019).

La presencia de estas toxinas en piensos en la alimentación de porcinos y vacas lactantes de alta producción es un grave problema mundial, en el cual existirán repercusiones negativas. Estas provocan una gran variedad de síntomas, dependiendo del tipo de toxina, del tiempo de exposición, la dosis, la edad de animal, sexo o categoría, nivel de nutrición, entre otros. Los cerdos son muy susceptibles a las aflatoxinas, en niveles bajos puede afectar en el rendimiento del cerdo debido a la ingesta reducida de alimento y la supresión del sistema inmune, por el contrario, una alta dosis puede ocasionar la muerte (Rocha y Cavaglieri, 2011). No obstante, la producción lechera debido a su capacidad de transferirse del pienso a la leche, tienen efectos negativos los cuales son; reducción de la producción de la leche y grasa, disminución del consumo de alimento y eficiencia de conversión alimenticia (ICA), lesiones hepáticas, efectos inmunosupresores clasificación como agente carcinogénico (Cano, 2018).

Por otro lado, la existencia de Deoxinivalenol en los piensos pueden inducir a disminución en la ingesta de alimento, uniones estrechas entre los enterocitos, aumento en la concentración de la inmunoglobulina A, desarrollo de lechones, infertilidad y abortos (Sosa et al., 2017). En cambio, en vacas lactantes sus principales efectos negativos son; reducción significativa de la producción de leche, aumento de células somáticas, fallos reproductivos y limitada detoxificación (Cano, 2018).

Debido a esto existen más de 40 métodos aprobados y publicados por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, Association of Official Analytical Collaboration), en las cuales utilizan diferentes técnicas para la cuantificación de micotoxinas. Actualmente, para el procesamiento de las muestras se realiza una extracción en fase sólida y sus variantes como la microextracción y extracción con columna de intercambio iónico, asimismo, técnicas para confirmación, como sistemas

de cromatografía en capa fina, la cromatografía líquida, cromatografía gas, entre otros (Borja y Calvo, 2017).

El objetivo de este estudio Determinar el contenido de aflatoxinas totales y deoxinivalenol (DON) en harina de soya, maíz y semolina de arroz por medio de un método rápido ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Cuantificar aflatoxinas totales y deoxinivalenol (DON) en el alimento balanceado para cerdos de engorde, cerdas de gestación y vacas de alta producción de la Planta de Concentrados de Zamorano. Establecer la correlación del contenido de aflatoxinas totales y deoxinivalenol (DON) en la materia prima y el balanceado final obtenido de estas.

Los objetivos específicos incluyen:

Materiales y Métodos

Ubicación del Estudio

El estudio se realizó en la Planta de Concentrados de Zamorano donde se realizó el muestreo de las materias primas y producto terminado. Los experimentos se realizaron en el Laboratorio de Análisis de Alimentos (LAAZ) de la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano ubicado en el kilómetro 30 de la carretera de Tegucigalpa a Danlí, San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras.

Tipo de Estudio

Se realizó un estudio con el fin de cuantificar de manera rápida los niveles de deoxinivalenol (DON) y aflatoxinas totales en materias primas y producto balanceado para cerdos y vacas lactantes. Este tipo de estudio permitió analizar y comparar la incidencia de micotoxinas en materias primas y como estas tienen un efecto correlativo con el producto final

Descripción Tratamientos

En el Cuadro 1 se muestran los tratamientos para los dos análisis de micotoxinas realizados. Estos se llevaron a cabo en las muestras de maíz (*Zea mays*), soya (*Glycine max*), Semolina de arroz (*Oryza sativa*), concentrado de cerdo de engorde, cerdas en gestación y vacas de alta producción.

Cuadro 1

Descripción de tratamientos a los cuales se les realizó análisis de aflatoxinas totales y deoxinivalenol.

Tratamientos
Soya cerda de gestación
Soya cerdo engorde
Soya alta producción
Maíz cerda gestación
Maíz cerdo engorde
Maíz alta producción
Semolina de arroz cerda gestación
Semolina de arroz de cerdo engorde
Semolina de arroz de alta producción
Dieta de cerdo gestación
Dieta de cerdo de engorde
Dieta de alta producción

Formulación de Dietas

En esta investigación se basó en 3 formulaciones para las dietas de Vacas alta producción lechera, Cerdo de engorde y Cerdo de gestación de la Planta de Concentrados de Zamorano (Cuadro 2, 3 y 4).

Cuadro 2

Dieta vacas alta producción lechera de la Planta de Concentrados de Zamorano.

Ingrediente	Porcentaje (%)
Bicarbonato de Sodio	1.35
Fertilizante Urea	0.35
Maíz Amarillo Molido	20
Salvado de Trigo	6.5
Sal Común	0.3
Maíz Comercial	22
Semolina de Arroz	3.4
Melaza	9
Harina de Coquito	2
Harina de Soya	30
Aceite de Palma	0.7
Grasa Soprepasante	2.35
Núcleo Estándar	2.05
Total	100

Cuadro 3

Dieta vacas Cerdo de engorde de la Planta de Concentrados de Zamorano

Ingrediente	Porcentaje (%)
Maíz Comercial	72.5
Aceite de Palma	1.8
Semolina de Arroz	5
Harina de Soya	15.1
Carbonato de Calcio Gris Fino	1.09
Biofos	0.4
Lisina	0.28
Metionina	0.01
Treonina	0.02
Melaza	3
Sal Común	0.5
Vitamina de Cerdo 2	0.3
Total	100

Cuadro 4

Dieta Cerdos de Gestación de la Planta de Concentrados de Zamorano

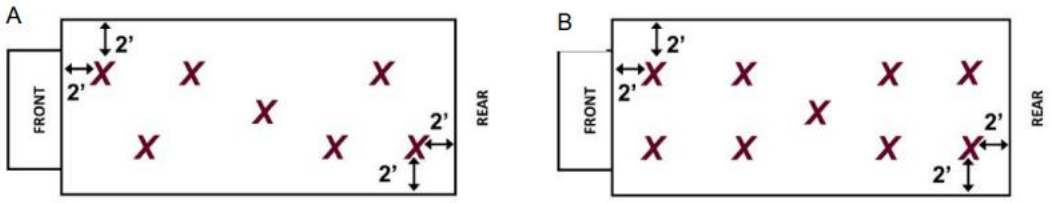
Ingrediente	Porcentaje (%)
Maíz Comercial	73.75
Aceite de Palma	2
Semolina de Arroz	5
Harina de Coquito	5
Harina de Soya	12
Carbonato de Calcio Gris Fino	1.19
Fosfato de Calcio (Biofos)	0.26
Mycofix	0.1
Sal Común	0.5
Vitamina de Cerdo 1	0.2
Total	100

Muestreo

Se realizó un muestreo por cada una de las harinas por medio de "One-sample strategy handbook" que muestra un patrón modificado aprobado para recolectar una muestra representativa, como se muestra en la Figura 1.

Figura 1

Método de muestreo



Nota. Office of the Texas State Chemist 2022

Este método de muestreo tuvo un ligero cambio, al ser lotes de sacos se contabilizó los sacos a usar por dieta de las materias primas a usadas y se tomó muestras al azar.

Obtención de Micotoxinas

Se recolectó un kilogramo por cada muestra, de los cuales se tomaron 50 gramos para pasarlos por tamices US MESH No. 20, 30, 40, 60 y 100. Se esperaba que el 95% de las partículas lograran pasar a través del tamiz de malla 20, el cual tiene una abertura de 0.85 mm (US mesh 20, 841 µm), lo que permite obtener una muestra fina y uniforme, necesaria para una correcta extracción y análisis de las micotoxinas. Se realizaron tres repeticiones por muestra.

Preparación y Análisis de Muestras

El procedimiento de preparación de muestras para el análisis de deoxinivalenol se basó en los instructivo veratox para DON 5/5 de Neogen de estos productos constando de dos fases. En la primera fase, se utilizó dilución 1:10, por lo cual, se utilizaron 20 gramos en 200 mL de agua destilada, se agitó a 200 rpm durante 1 hora, luego se dejó reposar durante 2 minutos, para finalmente filtrar el contenido en tubos cónicos hasta un 45-50 mL. En la segunda fase, se realizó el análisis por tandas, esto se debió a que el equipo utilizado solo acepta un máximo de 24 micropocillos para realizar la lectura. Para la primera tanda, se atemperaron los reactivos y cinco controles a usar a una temperatura entre 18 y 30 °C. Se utilizaron 23 micropocillos rojos en los cuales, se les colocó 100 µL del conjugado en cada uno, luego se agregó 100 µL de los controles y muestras extraídas. Con los micropocillos mezclados con micropipeta, se transfirieron 100 µL en los pocillos con anticuerpos transparentes, se dejaron incubar durante tres minutos y en los primeros 20 segundos se mezclaron haciendo movimientos suaves. Se elimina el contenido de los pocillos con anticuerpos y se lavaron con agua desionizada cinco veces. Se retiró el resto de agua desionizada dando golpes contra una toalla de papel absorbente. Después, se trasladaron 100 µL de sustrato a los pocillos con anticuerpos. Se incubaron 2 minutos, agitando los primeros 10 a 20 segundos. Por último, se colocó 100 µL de solución roja, “Stop solución”, a los pocillos con anticuerpos y se deslizaron de atrás para adelante en una superficie plana.

Finalmente, estos micropocillos, se limpiaron de la parte de abajo con cuidado a evitar rayones, y se realizó la lectura en el lector Stat-Fax 4700 de Neogen de 650 nm. El resultado, para considerarse válido debe tener un coeficiente (R^2) por encima de 0.980.

De la misma manera, se preparó las muestras para el análisis de aflatoxinas totales, basándose en el instructivo 16008 Aflatoxin by Veratox (Neogen, MI, EE. UU.). Se comienza por una dilución de la muestra para su extracción de micotoxinas en una relación 1:5, utilizando 50 gramos de muestra por 250 mL de una solución Metanol: Agua (70:30), para luego ser agitada por una hora a 200 rpm. Seguidamente, de filtró la muestra en papel filtro en tubos cónicos recogiendo 30 a 50 mL del extracto.

Posteriormente, se realizó el análisis por tandas, esto se debió a que el equipo utilizado solo acepta un máximo de 24 micropocillos para realizar la lectura. Para la primera tanda, se atemperaron los reactivos y cuatro controles a usar a una temperatura entre 18 y 30 °C. Se utilizaron 24 micropocillos rojos en los cuales, se les coloco 100 µL del conjugado en cada uno, luego se agregó 100 µL de los controles y muestras extraídas, una pipeta de ocho canales, mezclando el líquido en los pocillos pipeteándolo hacia arriba y abajo tres veces. Luego transfieren 100 µL a los pocillos recubiertos con anticuerpos, se dejaron incubando dos minutos, mezclando los primeros 20 a 30 segundos. Posteriormente, se desechó el contenido de estos pocillos y con agua desionizada se enjuagó cinco veces, para luego en un papel toalla dar golpes para eliminar el agua restante. Después, se colocaron 100 µL de sustrato en los pocillos con el método de sobrellenado y se dejó tres minutos, mezclando los primeros 10 a 20 segundos. Por último, se agregaron 100 µL de solución roja, “Red Stop solution”, en cada pocillo y se mezclan una última vez en una superficie plana.

Finalmente, estos pocillos, se limpiaron por la parte de abajo con cuidado a evitar rayones, y se realizó la lectura en el lector Stat-Fax 4700 de Neogen de 650 nm. El resultado, para considerarse valido debe tener un coeficiente por encima de 0.980 (R^2).

Diseño Experimental y Análisis Estadístico

En el presente estudio se evaluaron tres materias primas distintas, dos dietas para cerdos y una dieta para vacas de alta producción. Se usó un Diseño Completamente al Azar con tres repeticiones por tratamiento para el análisis del tamizaje o tamaño de partícula de las muestras. Se aplicó una separación de medias por el método Duncan a un nivel de significancia de 95% ($P<0.05$). Los resultados de aflatoxinas totales y deoxinivalenol se analizaron por medio de una una prueba T de estudiante pareada y se realiazó un análisis de correlación entre los resultados esperados y los resultados obtenidos en las dietas finales. Para el análisis de estadístico se utilizó el software SAS (Statistical Analysis System) en línea.

Resultados y Discusión

Tamaño de Partícula o Tamizaje

Según los resultados presentados en el Cuadro 5, se pudo definir cuales muestras necesitaron un molido para obtener un tamaño de partícula que permitiera una extracción eficiente de las micotoxinas. Según el método 991.31 de la AOAC, se requiere que al menos el 95% de una muestra triturada pase a través de un tamiz con una malla específica para asegurar la homogeneidad, permitiendo una tolerancia de ± 1% para variaciones menores en el proceso de la molienda. Es decir, todas las materias primas y las dietas presentaron un tamaño de partícula inferior a 841 µm. No obstante, la harina de soya desgrasada no alcanzó el tamaño de partícula requerido, por lo cual, se realizó una molienda a cada una de las repeticiones utilizadas.

Cuadro 5

Tamizaje de materias primas y producto final (%).

Muestra	Medias (%) ± DE
Semolina de arroz	99.0 ± 0.0^{A}
Maíz	96.7 ± 0.6^{AB}
Engorde	95.0 ± 0.3^{B}
Gestación	95.8 ± 0.2^{B}
Alta Producción	94.1 ± 0.3^{B}
Soya	89.0 ± 4.0^{C}
R^2	0.86
CV%	1.76

Nota. CV: coeficiente de variación; R^2: r cuadrado; DE: desviación estándar; A-C: medias seguidas de letras distintas en la misma columna indican diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) entre los tratamientos.

Aflatoxinas Totales

En el Cuadro 6, se presentan las concentraciones obtenidas por materia prima y por dieta. En ellas se visualiza que existe una mayor tendencia a que las concentraciones de materias primas sean más altas en comparación con los niveles de aflatoxinas medidos en sus respectivas dietas. Además, de mostrar si existe o no una diferencia significativa entre las materias y los concentrados. Estos

resultados se presentan según partes por billón (ppb). Las aflatoxinas afectan diversos animales y sus órganos, entre esos animales se encuentran los rumiantes que, al consumo de alimentos contaminados por aflatoxinas, pueden ser excretadas en leche, orina semen y bilis, además de encontrarse en la carne y en las vísceras como el hígado y riñón. (Jiménez y Celis, 2020).

Cuadro 6

Concentraciones de aflatoxinas totales en materias primas y dietas evaluadas.

Materia Prima	Concentración obtenida (ppb)	Proporción según formulación	Concentración esperada (ppb)	Dieta	Concentración obtenida (ppb)	Pr>|t|
Soya	2.2	0.3				
Maíz	4.3	3.2	3.6	Gestación 1	5.7	
Semolina *	2.9	0.1				
Soya	6.9	0.8				
Maíz	4.8	3.5	4.5	Gestación 2	3.9	0.86
Semolina *	2.7	0.1				
Soya	3.6	0.4				
Maíz	5.1	3.8	4.3	Gestación 3	2.2	
Semolina *	1.2	0.1				
Soya	1.8	0.3				
Maíz	3.4	2.5	2.8	Engorde 1	4.9	
Semolina *	2.1	0.1				
Soya	6.2	0.9				
Maíz	4.0	2.9	4.0	Engorde 2	2.9	0.91
Semolina *	2.3	0.1				
Soya	5.6	0.8				
Maíz	3.9	2.8	3.8	Engorde 3	2.5	
Semolina *	2.1	0.1				
Soya	1.9	0.6				
Maíz	3.5	0.8	1.5	Alta producción 1	3.1	
Semolina *	4.0	0.1				
Soya	0.5	0.2				
Maíz	2.6	0.6	0.8	Alta producción 2	3.2	0.01
Semolina *	2.0	0.1				
Soya	1.3	0.4				
Maíz	4.0	0.9	1.3	Alta producción 3	4.6	
Semolina *	2.0	0.1				

Nota. ppb: partes por billón (ug/kg); Pr>|t|: Probabilidad; *Semolina de arroz.

Los limites varían según diversos factores; entre ellos están, tipo de micotoxina, la especie animal, las materias primas, el pienso, entre otros. Los límites establecidos de aflatoxinas para cerdas son de 25 ppb, para cerdos de engorde, se tienen dos límites, estos dependen del peso del animal, si

el cerdo es mayor o igual a 34-57 kg de peso vivo tiene una tolerancia de 50 ppb y los cerdos con peso mayor a 57 kg de peso vivo, su límite máximo es de 100 ppb. No obstante, por otro lado, tenemos los bovinos de producción de leche, que ellos tienen un rango de 5 a 25 ppb (Gimeno, 2009). Por lo cual, en los resultados no se encuentran concentraciones por arriba de los límites establecidos tanto las dietas como las materias primas. Solo las dietas de alta producción mostraron una diferencia significativa, indicando que los niveles de aflatoxinas totales en las materias primas son distintos a los obtenidos en el producto final. No obstante, las dietas de cerdos de engorde y de gestación no mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$).

El Cuadro 7 presenta los datos relacionados con tres tipos de dietas (Gestación, Engorde y Alta Producción) y compara los valores de "Materia prima" y "Producto final", junto con una probabilidad asociada. Al realizar tres (3) muestreos individuales de cada materia prima, medir sus niveles de aflatoxinas y considerar su proporción de uso en cada dieta, se encontró que, para las dietas de cerdos y sus respectivas materias primas, no existe una diferencia significativa entre los niveles de aflatoxinas totales.

Las materias primas de la dieta de gestación mostraron una desviación estándar baja (± 0.14 ppb). Sin embargo, el producto final presentó una mayor variabilidad entre los resultados obtenidos (± 1.75 ppb). Por otro lado, la dieta de engorde obtuvo una desviación estándar de ± 1.29 ppb, indicando que la variabilidad de los datos es alta al comparar la variabilidad de las materias primas de la misma, la cual fue de ± 0.64 ppb y con una probabilidad de 0.91, lo que indica que no existió una diferencia significativa entre estas variables (materias primas y dietas). Por último, la dieta de alta producción lechera presentó una diferencia significativa entre las concentraciones de materias primas y producto final. El coeficiente de variación es significativamente más alto en la materia prima (51.7%) en comparación con el producto final (32.3%), lo que indica que hay una mayor dispersión relativa en los valores de la materia prima entre las dietas. En un estudio de distribución de la contaminación por aflatoxinas en maíz se llegó a la conclusión que, había una diferencia estadísticamente significativa en

las muestras entre los niveles de fracción y los niveles totales de contaminación con aflatoxinas (Micotti et al., 2004). Esto puede ser debido a diversos factores como el tipo de kit de análisis utilizado, el efecto de la matriz alimenticia, adecuada homogenización de la muestra, el solvente usado para la extracción, entre otros.

Cuadro 7

Resumen de concentraciones de aflatoxinas totales entre materia prima y producto final.

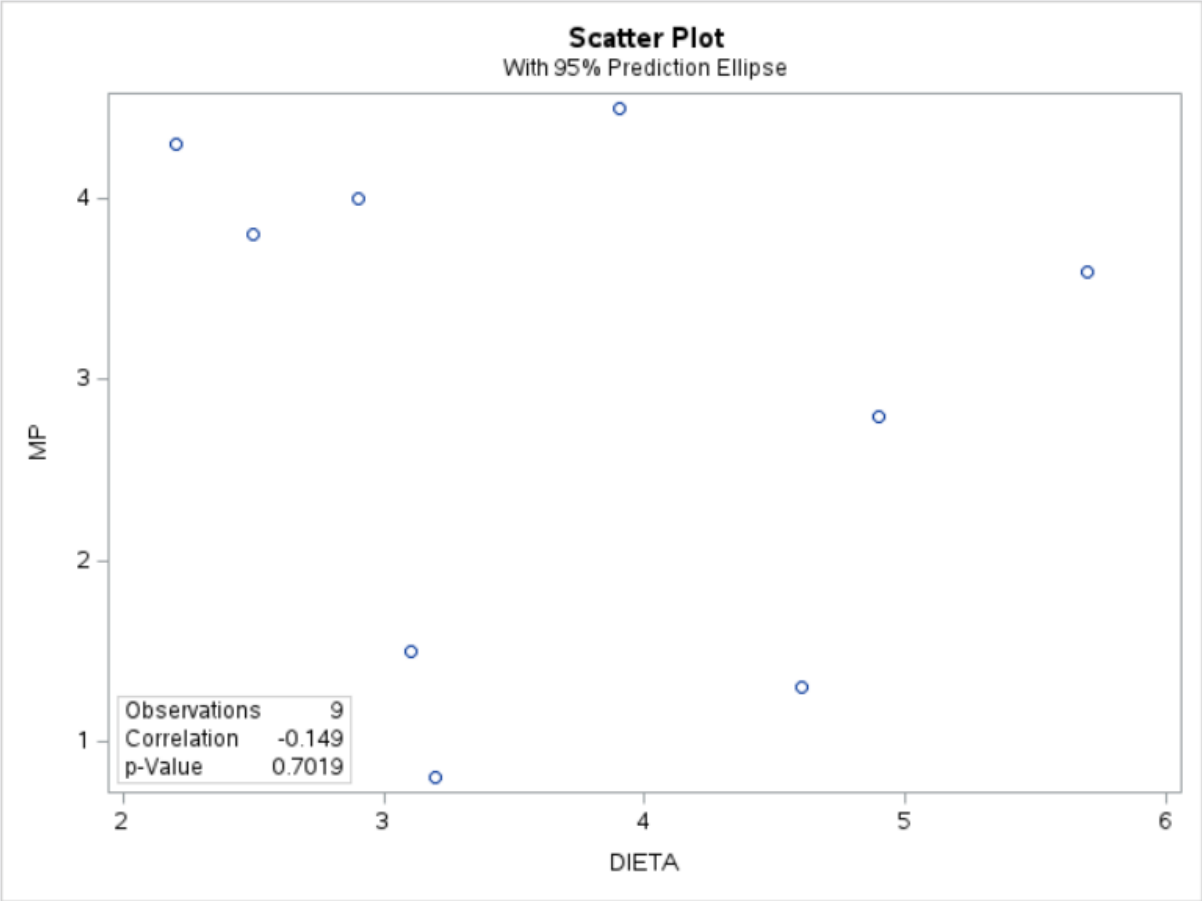
Dieta	Materia prima Media (ppb) ± DE	Producto final Media (ppb) ± DE	Probabilidad
Cerdo de gestación	4.40 ± 0.14	3.39 ± 1.75	0.86
Cerdo de engorde	3.53 ± 0.64	3.43 ± 1.29	0.91
Vaca de alta Producción	1.20 ± 0.36	3.63 ± 0.36	0.01
CV (%)	51.7	32.3	

Nota. CV: coeficiente de variación; DE: desviación estándar; ppb: partes por billón (ug/kg).

La Figura 2 presenta la dispersión que ilustra la correlación entre las concentraciones iniciales y finales de aflatoxinas en un conjunto de datos compuesto por 9 observaciones. Este análisis busca determinar si existe una relación significativa entre las dos variables, proporcionando información clave sobre la dinámica de las aflatoxinas en el contexto estudiado. A través de la representación visual, se pretende evaluar la fuerza y dirección de la correlación, así como su relevancia estadística, lo que permitirá entender mejor los factores que pueden influir en la presencia de aflatoxinas en los productos analizados.

Figura 2

Correlación entre niveles de Aflatoxinas totales en materias primas y dieta final.



La correlación calculada de -0.149 indica una relación negativa muy débil entre las concentraciones iniciales y finales de aflatoxinas, sugiriendo que no hay una asociación significativa entre estas variables. El valor-p de 0.7019, que supera el umbral de 0.05, implica que no se puede rechazar la hipótesis nula de ausencia de correlación. Esto sugiere que las variaciones en las concentraciones iniciales no impactan significativamente las finales. Además, la elipse de predicción del 95% en el gráfico refuerza la amplia dispersión de los datos, lo que podría deberse a la variabilidad en los procesos de muestreo y análisis, así como a otros factores no considerados que afectan las concentraciones de aflatoxinas. Uno de estos factores no considerados que pudo afectar las concentraciones de estas toxinas fue el uso de inactivadores de micotoxinas, los cuales se emplean en varias dietas de la Planta de Concentrados de Zamorano. Según Peng et al. (2019), los secuestrantes

o aglutinantes de micotoxinas pueden llegar a afectar los resultados del análisis de micotoxinas por el método de ELISA, el cual es el principio del kit de Neogen utilizado en el presente estudio. Estos aglutinantes pueden reducir significativamente la capacidad de extracción de mezclas de solventes como metanol/agua para el análisis de micotoxinas.

Deoxinivalenol (DON)

El Cuadro 8 presenta los datos relacionados con la concentración de deoxinivalenol en diferentes dietas, abarcando varias etapas de gestación y engorde. Se observaron variaciones significativas en las concentraciones obtenidas de DON (ppm) según la dieta y el tipo de materia prima utilizada, como maíz, soya y semolina de arroz.

Se encontraron variaciones significativas en las concentraciones obtenidas, que van desde 0.2 ppm hasta 6.6 ppm, dependiendo de la materia prima utilizada, como maíz, soya y semolina de arroz. En las materias primas destaca el maíz, teniendo las concentraciones más altas, principalmente en el primer muestreo, el cual fue un lote distinto a los demás muestreos, sugiriendo que este ingrediente podría ser una fuente importante de deoxinivalenol. Se encontró que las concentraciones obtenidas en algunas dietas superaron los niveles esperados de esta micotoxina. Aunque algunos animales tienen bastante tolerancia a los efectos de DON, los cerdos son de las especies más sensibles a esta micotoxina, en el cual, uno de sus mayores efectos es que aumenta la permeabilidad del epitelio digestivo, lo que conlleva a pérdida de peso, reducción de nutrientes, entre otros. Debido a estos peligrosos efectos, se consideran concentraciones máximas tolerables; para cerdos adultos con un peso 34-57 kg (de peso vivo) se permiten 0.250 ppm, este valor también aplica para los cerdos adultos con un peso mayor a 57 kg de peso vivo y para las cerdas en gestación. Por otro lado, los bovinos lecheros también tienen como su límite establecido un valor de 0.250 ppm (Gimeno, 2009). Por lo que, considerando este criterio, se puede observar que todas las dietas tuvieron niveles de DON por encima del límite establecido, al igual que algunas de las materias primas.

Cuadro 8

Concentraciones de Deoxinivalenol (DON) en materias primas y dietas evaluadas.

Materia Prima	Concentración obtenida (ppm)	Proporción según formulación	Concentración esperada (ppm)	Dieta	Concentración obtenida (ppm)	Pr|t|
Soya	0.2	0.0				
Maíz	6.6	4.9	4.9	Gestación 1	5.8	
Semolina*	0.1	0.0				
Soya	0.0	0.0				
Maíz	1.7	1.3	1.3	Gestación 2	1.2	0.90
Semolina*	0.1	0.0				
Soya	0.0	0.0				
Maíz	0.3	0.2	0.2	Gestación 3	0.3	
Semolina*	0.1	0.0				
Soya	0.2	0.0				
Maíz	7.0	5.1	5.1	Engorde 1	6.5	
Semolina*	0.2	0.0				
Soya	0.2	0.0				
Maíz	1.1	0.8	0.8	Engorde 2	1.3	0.80
Semolina*	0.2	0.0				
Soya	0.1	0.0				
Maíz	0.2	0.1	0.2	Engorde 3	0.3	
Semolina*	0.3	0.0				
Soya	0.0	0.0				
Maíz	6.2	1.4	1.4	Alta producción 1	2.5	
Semolina*	0.3	0.0				
Soya	0.0	0.0				
Maíz	0.2	0.0	0.0	Alta producción 2	0.3	0.60
Semolina*	0.0	0.0				
Soya	0.0	0.0				
Maíz	0.3	0.1	0.1	Alta producción 3	0.2	
Semolina*	0.1	0.0				

Nota. ppm: partes por millón (mg/kg); Pr|t|: Probabilidad; *Semolina de arroz

El Cuadro 9 presenta los datos relacionados de concentración de DON medidos para tres tipos de dietas (Gestación, Engorde y Alta Producción), así como sus materias primas. Se realizó una comparación estadística entre las medias obtenidas para la contaminación de DON (ppm) de cada materia prima y su aporte según su uso en proporción de las dietas finales; es así como se compararon los valores de DON en "Materias primas" y "Productos finales", junto con una probabilidad asociada. Se encontró que, para las dietas evaluadas y sus respectivas materias primas, no existe una diferencia significativa entre los niveles de deoxinivalenol.

En todas las dietas evaluadas, tanto las materias primas como el producto final muestran una alta desviación estándar en comparación con la media, lo que indica una gran variedad en los datos, además de no mostrar una diferencia significativa entre las mismas ($P < 0.05$). Un estudio anterior desarrolló procedimientos analíticos rápidos, precisos y selectivos para cuantificar Deoxinivalenol y las poblaciones de *Fusarium culmorum* en distintas matrices alimentarias, en el cual detectaron una correlación entre la ingesta y excreción de DON del 68% y 72% (Rodríguez, 2015).

Cuadro 9

Resumen de concentraciones de deoxinivalenol entre materias primas y producto final.

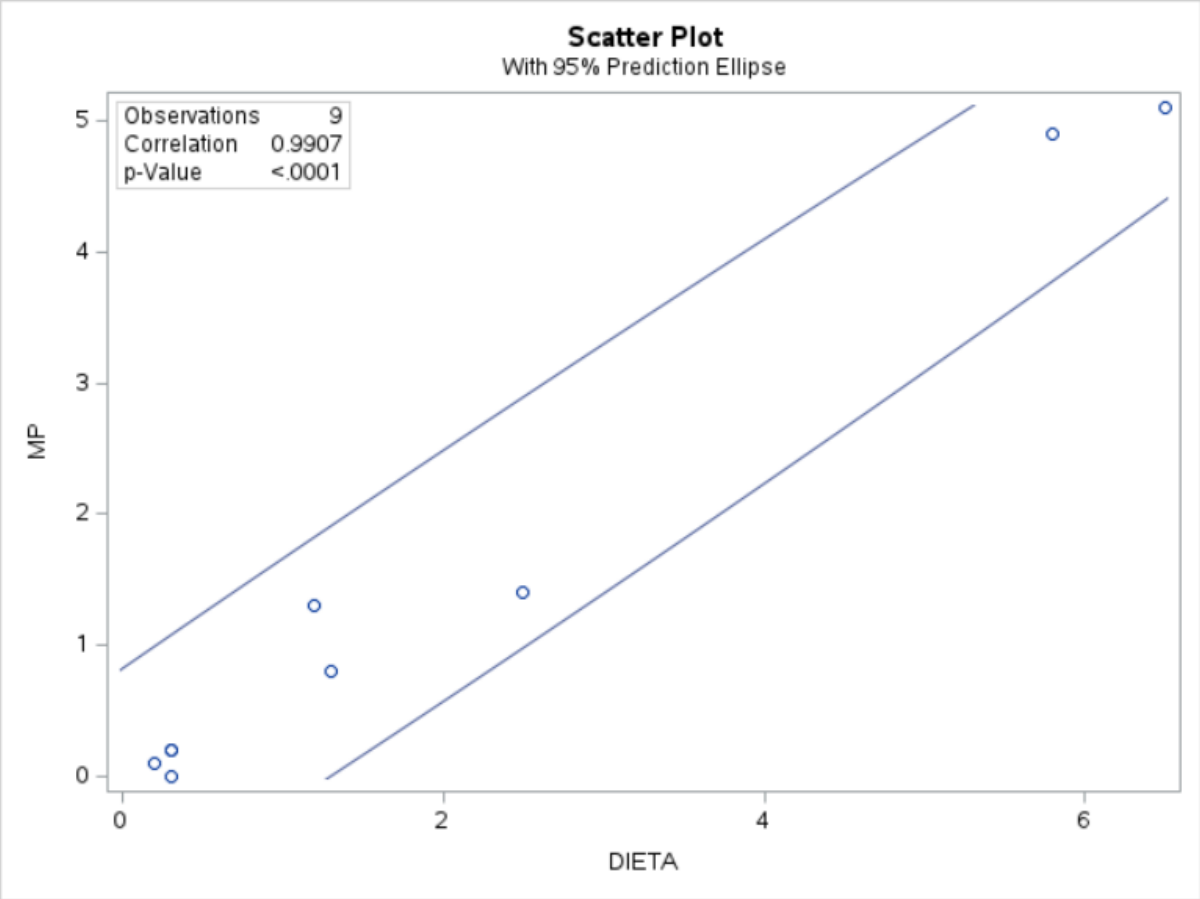
Dieta	Materias primas Media (ppm) ± DE	Producto final Media (ppm) ± DE	Probabilidad
Cerdo de gestación	2.13 ± 2.46	2.43 ± 2.95	0.90
Cerdo de engorde	2.03 ± 2.67	2.70 ± 3.33	0.80
Vaca de alta Producción	0.50 ± 0.78	1.00 ± 1.30	0.60
CV (%)	129.82	119.76	

Nota. CV: coeficiente de variación. DE: desviación estándar; partes por millón (mg/kg).

La Figura 3 muestra la dispersión que compara dos variables, las materias primas (MP) y la medida de una respuesta o parámetro de interés (DIETA), junto con una elipse de predicción al 95% de significancia. Este tipo de análisis gráfico es útil para visualizar la relación entre dos variables y evaluar la fuerza de dicha relación, en este caso entre las materias primas utilizadas y su efecto en los niveles de contaminación por DON en las dietas. Adicionalmente, se incluyen indicadores estadísticos clave, como el número de observaciones, el coeficiente de correlación y el valor-p, que permiten una interpretación más precisa de los resultados.

Figura 3

Correlación entre niveles de Deoxinivalenol en materias primas y dieta final.



La Figura 3 revela una correlación positiva muy alta entre los niveles de incidencia de DON en las materias primas y la contaminación de las dietas, con un coeficiente de correlación de 0.9907, lo que indica que conforme aumenta la cantidad de DON en las materias primas utilizadas, también lo hacen los valores de DON en la dieta o producto final. El valor-p (<0.0001) es altamente significativo, lo que sugiere que la relación observada no es producto del azar y que existe una dependencia significativa entre ambas variables. La elipse de predicción al 95% en el gráfico sugiere que la mayoría de los puntos se ajustan bien a la tendencia lineal, con solo algunas observaciones más alejadas de la línea de tendencia central. Esta fuerte correlación implica que las materias primas tienen un impacto

considerable en la variable Dieta, y que se puede predecir de manera confiable cómo esta variable responde a diferentes niveles de contaminación de DON dentro del rango de los datos recolectados. En una investigación anterior, se observó una correlación entre la incidencia de *Fusarium graminearum* y la concentración de DON, la cual demostró tener una relación entre las variables en trigo (Martinez et al., 2014).

Conclusiones

Los niveles de micotoxinas, especialmente de DON, en harina de maíz superan los límites máximos tolerables para cerdos y bovinos lecheros. Todas las materias primas presentaron niveles de aflatoxinas totales por debajo del límite tolerable para cerdos y bovinos lecheros.

Los niveles de aflatoxinas, en las dietas de cerdos, y bovinos lecheros no superaron los límites máximos tolerables para estos animales, lo cual, demuestra un buen manejo en los productos balanceados en la planta. Estas mismas dietas para DON superan estos límites tolerables.

Los niveles de Deoxinivalenol en las materias primas y los productos finales presentaron una correlación alta positiva, lo cual indica que se podría predecir la concentración en las dietas finales conociendo los niveles de incidencia en las materias primas. Sin embargo, para aflatoxinas, la variabilidad en los resultados sugiere que factores como la calidad de las materias primas o los métodos de almacenamiento influyen directamente en las concentraciones en los alimentos balanceados.

Recomendaciones

Incluir estudios que analicen el impacto del uso de aditivos o secuestrantes de micotoxinas en las dietas, para mitigar los efectos negativos de las aflatoxinas y el DON en los animales.

Implementar un sistema de monitoreo constante de la humedad y temperatura de los almacenes, ya que estos factores ambientales influyen directamente en la proliferación de hongos productores de micotoxinas.

Realizar estudios que midan directamente los efectos del consumo de estas micotoxinas en parámetros productivos y de salud animal, como el rendimiento, la eficiencia alimentaria y los indicadores inmunológicos.

Realizar un método confirmatorio de la detección y cuantificación de aflatoxinas y DON por medio de HPLC.

Implementar un secuestrante de micotoxinas a todas las dietas producidas en la planta de concentrados por alta presencia de DON en las dietas.

Referencias

Borja, B. y Calvo, M. (2017). Control de micotoxinas en alimentación y salud pública. *Tribuna Popular* (15). https://raed.academy/revista-15/control-micotoxinas-alimentacion

Cano, E. (2018). Impacto de las micotoxinas en la producción lechera. *Veterinaria Digital*. https://www.veterinariadigital.com/articulos/impacto-de-las-micotoxinas-en-la-produccion-lechera/

Food and Agriculture Organization. (2003). Manual Sobre la Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Prevención y Control de las Micotoxinas. En.

Gimeno, A. (2009). *Revisión de las concentraciones máximas tolerables para ciertas micotoxinas en el alimento [*tesis], Miami, Florida. https://www.produccion-animal.com.ar/tablas_composicion_alimentos/20-micotoxinas.pdf

Jiménez, R. y Celis, E. (2020). *Determinación del metabolito tóxico aflatoxina M1 en la leche fluida en fincas tradicionales de producción láctea bovina en el departamento de Chiquimula* [Tesis]. Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala. https://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/prunian/INF-2019-08.pdf

Ledezma, P., Bogantes-Ledezma, D. y Bogantes-Ledezma, S. (2004). Aflatoxinas. *ScieELO Analytics*, *46*(4). https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0001-60022004000400004&script=sci_arttext&tlng=en

Magnoli, A., Poloni, V. y Cavaglieri, L. (2019). Impact of mycotoxin contamination in the animal feed industry. *Current Opinion in Food Science*, *29*, 99–108. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.08.009

Martinez, M., Castañares, E., Dinolfo, M., pacheco, W., Moreno, M. y Stenglein, S. (2014). Presencia de Fusarium graminearum en muestras de trigo destinado al consumo humano. *Argentica De Microbiologia*, *46*(1). https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412014000100008

Micotti, E., Ciacco, C., Lopes, J., Ericsson, C. y Sandoval, S. (2004). *Distribucion de la contaminacion por aflatoxinas en muestra de maíz*, Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas. https://www.scielo.br/j/cta/a/sPyXMm7gGKqMWH87JfrJStH/?format=pdf&lang=en

Organización Mundial de la Salud. (2023). *Micotoxinas*. https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins#:~:text=Los%20cultivos%20m%C3%A1s%20afectados%20por,coco%20y%20nuez%20del%20Brasil

Peng, H., Chang, Y., Baker, R. C. y Zhang, G. (2019). *Interference of mycotoxin binders with ELISA, HPLC and LC-MS/MS analysis of aflatoxins in maize and maize gluten* (3). PubMed.

Rocha, C. y Cavaglieri, L. (2011). Micotoxicosis en ganado porcino: Las micotoxinas y su efecto en la salud animal y humana, *1*. https://www.researchgate.net/publication/281558943_Micotoxicosis_en_ganado_porcino/citations

Rodríguez, Y. (2015). *Analytical study and exposure to Fusarium mycotoxins* [Tesis doctoral]. Universidad de Valencia, Valencia.

https://www.educacion.gob.es/teseo/imprimirFicheroTesis.do?idFichero=guqQ6Kbjdpw%3D

Serrano-Coll, H. y Cardona-Castro, N. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *CES Med*, *29*(1).

Sosa, D., Escobar, A. y Faure, R. (2017). Deoxinivalenol: métodos de análisis de residualidad en cereales. Toxicidad en animales de granjas. *Salud Alimentaria*, *39*(2). http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v39n2/rsa08217.pdf

Anexo

Anexo A

Revisión De Las Concentraciones Máximas Tolerables Para Ciertas Micotoxinas En El Alimento

Tabla 1. Concentraciones máximas (ppb, microgramos/kg) tolerables para ciertas micotoxinas en el alimento completo y en diferentes especies animales.

Animal	AFB1*	OTA*	ZEN*	DON*	T-2*	DAS*	MAS*	TAS*	STO*	FB1*
Aves jóvenes (pollos, pollitas, patos, pavos)	10	50	30.000	15.000	150	150	200	1.500	500	5.000
Aves adultas (pollos, patos, pavos)**	20	100	40.000	15.000	150	150	200	2.000	500	8.000
Gallinas ponedoras y reproductoras	20	100	30.000	200	150	150	10.000	ND	ND	4.000
Cerdos jóvenes (<34 kg de peso vivo)****	20	50	100	200	150	150	ND*	ND	ND	1.500
Cerdos adultos (34-57 kg de peso vivo)****	50	50	200	250	200	200	ND	ND	ND	1.500
Cerdos adultos (>57 kg de peso vivo)****	100	50	200	250	200	200	ND	ND	ND	1.500
Cerdas****	25	50	50	250	200	200	ND	ND	ND	2.000
Verracos****	25	50	50	250	200	200	ND	ND	ND	1.500
Teneros, corderos y cabritos	10	ND	250	1.000	ND	ND	ND	ND	ND	15.000
Bovinos, ovinos y caprinos adultos no lecheros	25	ND	250	1.000	100	ND	ND	ND	ND	35.000
Bovinos, ovinos y caprinos lecheros***	5 a 25	ND	250	250	100	ND	ND	ND	ND	35.000
Caballos adultos no reproductores	50	ND	100	400	50	50	ND	ND	ND	2.000
Gazapos	10	2.500	100	10.000	100	ND	ND	ND	ND	1.000
Conejos adultos	10	5.000	100	10.000	100	ND	ND	ND	ND	1.500
Conejas	10	5.000	100	10.000	100	ND	ND	ND	ND	1.500

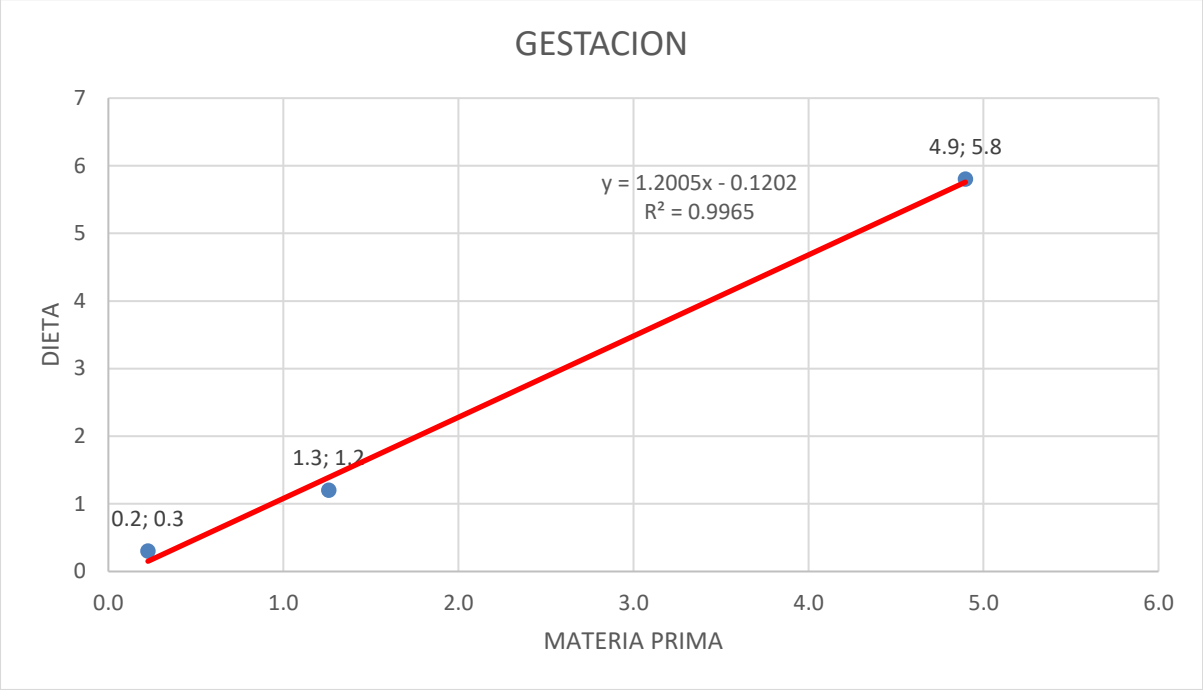
*AB1 = Aflatoxina B1; OTA = Ocratoxina A; ZEN = Zearalenona; DON = Deoxinivalenol o Vomitoxina; T-2 = Toxina T-2; DAS = Diacetoxiscirpenol; MAS = Monoacetoxiscirpenol; TAS = Triacetoxiscirpenol; STO = Escirpentriol; FB1 = Fumonisina B1; ND = No Disponible.

**Existen artículos publicados donde se indica que dietas contaminadas con 2.500 y 5.000 ppb de AFB1 fueron dadas a pollos de 23 días de edad durante 32 días. Parece ser que no se observaron mayores problemas que los de un hígado ligeramente friable y una reducción de la concentración de calcio en el suero; las lesiones histológicas fueron una vacuolización de los hepatocitos y una infiltración grasa. Con la edad, los pollos son ex-

Nota: Gimeno, A. 2009.

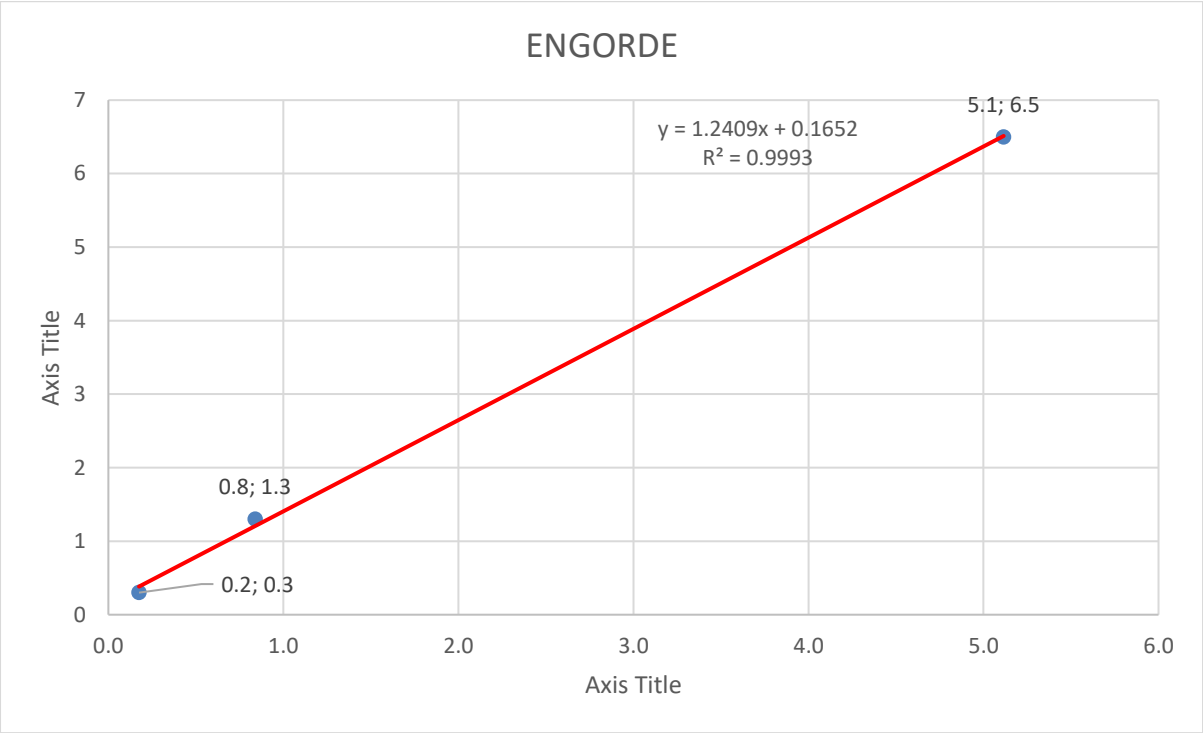
Anexo B

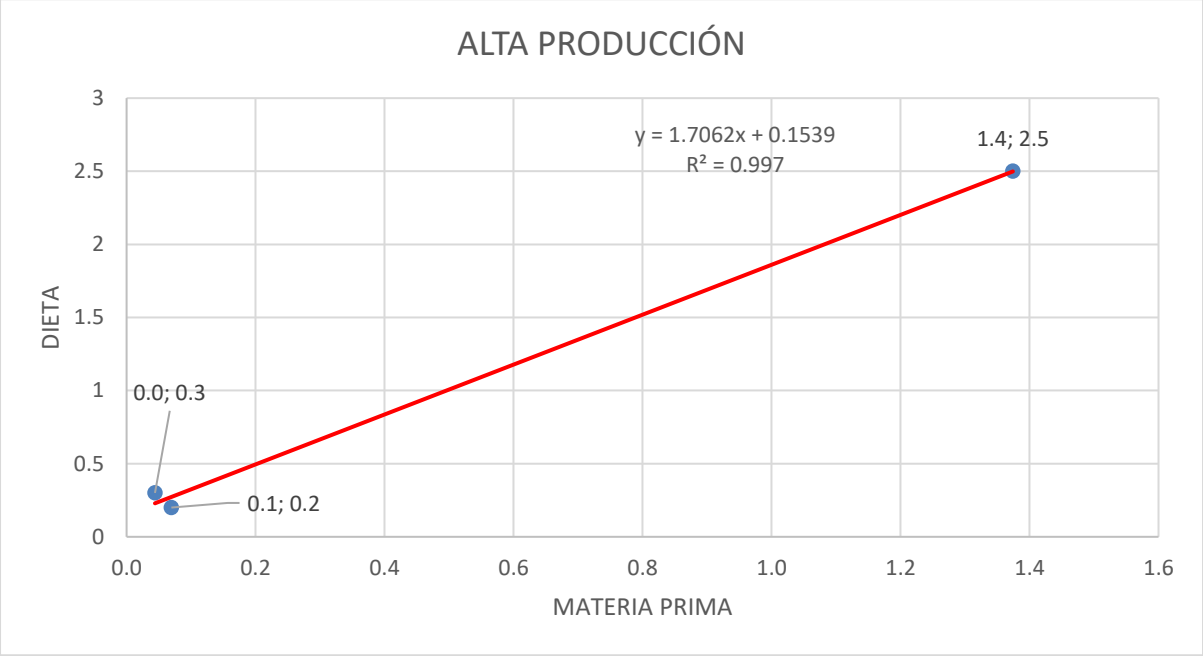
Regresión lineal de DON de Dieta cerdo de gestación



Anexo C

Regresión lineal de DON de Dieta cerdo de engorde



Anexo D

Regresión lineal de DON de Dieta de vacas de alta producción de leche