



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS**

**AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO DE RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**GANADERÍA**

## **CONTAMINACION CON AFLATOXINAS EN LECHE CRUDA Y ALIMENTO DE VACAS SUIZO AMERICANO EN LA ZONA CENTRO DE CHIAPAS.**

**JORGE ALBERTO VAZQUEZ ZENTENO**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2014**

**CONTAMINACION CON AFLATOXINAS EN LECHE CRUDA Y ALIMENTO DE  
VACAS SUIZO AMERICANO EN LA ZONA CENTRO DE CHIAPAS**

La presente tesis titulada: **CONTAMINACIÓN CON AFLATOXINAS EN LECHE CRUDA Y ALIMENTO DE VACAS SUIZO AMERICANO EN LA ZONA CENTRO DE CHIAPAS** realizada por el alumno JORGE ALBERTO VÁZQUEZ ZENTENO bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

## **MAESTRO EN CIENCIAS**

### **RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD GANADERÍA**

#### **CONSEJO PARTICULAR**

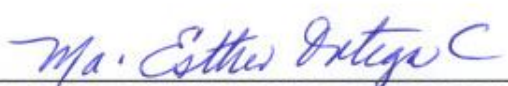
CONSEJERO

  
\_\_\_\_\_  
**DR. JOSÉ G. HERRERA HARO**

ASESOR

\_\_\_\_\_  
**DR. BENIGNO RUÍZ SESMA**

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. MA. ESTHER ORTEGA CERRILLA**

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
**DR. ALBERTO BARRERAS SERRANO**

ASESOR

  
\_\_\_\_\_  
**DRA. REYNA I. ROJAS MARTÍNEZ**

Montecillo, Texcoco, Estado de México, mayo de 2014

## **RESUMEN**

### **CONTAMINACION CON AFLATOXINAS EN LECHE CRUDA Y ALIMENTO DE VACAS SUIZO AMERICANO EN LA ZONA CENTRO DE CHIAPAS**

Jorge Alberto Vázquez Zenteno, MC.

Colegio de Postgraduados, 2014

El tipo de alimento del ganado bovino lechero y las deficiencias en su conservación y almacenamiento, aunado a altas temperaturas y humedad relativa de las regiones tropicales incrementan el riesgo de contaminación con aflatoxinas (AF) y su posible excreción en la leche, propiciando el deterioro en la salud de los consumidores, ya que estas han sido asociadas con riesgos para la salud en humanos. La concentración máxima permitida de AFB<sub>1</sub> en alimentos para consumo animal es de 20 µg kg<sup>-1</sup> y de 0.5 µg L<sup>-1</sup> de AFM<sub>1</sub> en leche. Con el objeto de determinar los niveles de aflatoxinas totales (AFT) en el alimento y aflatoxinas M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) en la leche cruda, se realizó un estudio en 20 ranchos lecheros ubicados en cuatro municipios (Villaflores, Villacorzo, Ocozocoautla y Berriozabal) de Chiapas. Los análisis de AFT y AFM<sub>1</sub> realizados en muestras de alimento y leche se realizaron empleando técnicas de ELISA. Los resultados no mostraron diferencias en los niveles de AFT entre municipios (p>0.05). Sin embargo se observó que Villaflores (27.65 µg kg<sup>-1</sup>) superó el valor permitido en la norma sanitaria de alimento. En relación a AFM<sub>1</sub> existieron diferencias (P<0.05) entre municipios, siendo Villaflores y Villacorzo de (0.348, 0.096 µg L<sup>-1</sup>) los que alcanzaron mayores niveles, pero no superaron la norma. Además, se observó que las dietas con grano de maíz y pollinaza fueron las que se asociaron con una mayor contaminación con AFT. Se concluye que los niveles de AFM<sub>1</sub>, en el 10% de las UP, superan el valor establecido por la norma sanitaria de leche, lo cual constituye un riesgo para la salud pública.

**Palabras clave: bovinos trópico, aflatoxinas AFT y AFM1 .**

**ABSTRACT**  
**AFLATOXINS CONTAMINATION IN FOOD AND RAW MILK COWS IN SWISS**  
**AMERICAN CENTRAL OF CHIAPAS**

Jorge Alberto Vázquez Zenteno, MC.

Colegio de Postgraduados, 2014

The type of feed dairy cattle and poor preservation and storage, coupled with high temperatures and humidity of the tropics increase the risk of contamination with aflatoxin (AF) and its possible secretion into milk, leading to deterioration in the health of consumers, as these have been associated with health risks to humans. The maximum allowable concentration of AFB<sub>1</sub> in feed for animal consumption is 20 mg kg<sup>-1</sup> and 0.5 mg L<sup>-1</sup> of AFM<sub>1</sub> in milk. In order to determine the levels of total aflatoxins (AFT) in feed and aflatoxin M1 (AFM<sub>1</sub>) in raw milk, a study was conducted on 20 dairy farms located on four municipalities (Villaflores, Villacorzo, Ocozocoautla and Berriozabal) of Chiapas State, México. Sampling analyses of AFT in animal food and AFM<sub>1</sub> in raw milk were performed using ELISA techniques. The results showed no difference in levels between municipalities AFT ( $p > 0.05$ ). However, it's be noted that Villaflores exceeded the mexican permissible value in the standard health for food (27.65 mg kg<sup>-1</sup>). Regarding AFM<sub>1</sub> were no differences ( $P < 0.05$ ) between municipalities, being Villaflores and Villacorzo (0.348, 0.096 mg L<sup>-1</sup>) which reached higher levels, but did not exceed the mexican standard. In addition, it was observed that diets with corn grain and manure were those associated with higher pollution. It's concluded, that AFM<sub>1</sub> levels exceeds the health standard value for milk, which is a risk to public health.

Keywords: tropical cattle, aflatoxin AFM1 and AFT.

## AGRADECIMIENTOS

Al **Colegio de Postgraduados y a la comunidad científica**, por su noble labor en la enseñanza e investigación en las ciencias agrícolas.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo otorgado durante mis estudios de postgrado. Número de Becario: 265022

A la línea 7. **Inocuidad, calidad de alimentos y bioseguridad**, por el apoyo económico otorgado para la realización de esta investigación de tesis.

De manera muy especial a mi asesor: **Dr. José Herrera Haro** por su amistad, tiempo, paciencia y dedicación para poder guiarme en mi formación y en la elaboración de esta tesis, este logro también es de usted, Dios lo bendiga y le dé la oportunidad de seguir enseñando siempre.

**Dr. Benigno Ruiz Sesma**, por su invaluable amistad y siempre firme disposición para apoyarme en todo momento; por su valioso tiempo destinado para la realización de la tesis, pero sobre todo por sembrar en mí la semilla de la curiosidad para realizar un posgrado.

**Dra. María Esther Ortega Cerrilla**, por las sugerencias y disposición para mejorar la presente investigación.

**Dra. Reyna I. Rojas Martínez**, por su apoyo y tiempo que ha dedicado a este trabajo.

**Dr. Alberto Barreras Serrano**, por su confianza y apoyo durante el desarrollo del presente trabajo.

## DEDICATORIA

A MIS PADRES: Con gratitud y cariño a mis padres **Judith Zenteno Urbina † y Ángel Vázquez Álvarez** que son el pilar fundamental, fuente de inspiración y motivo de lucha constante, quienes con amor me brindaron el apoyo necesario de manera incondicional y sobre todo por enseñarme a hacer frente a las adversidades de la vida y salir adelante.

A MIS HERMANOS: **Carlos Ángel y Karla Judith** por brindarme su respaldo y compartir junto a ellos lo mejor de mi vida, dándome ese cariño y amor que solo ellos pueden expresar, animándome a ser cada día mejor y salir adelante siempre. Nunca podre pagarles todo lo que han hecho por mí

A Angélica por todas esas palabras de aliento, por su apoyo, su comprensión, por ser mi cómplice y acompañarme en esta aventura.

A mi hermano Luis, a mis “comirris y mis “compirris”, por hacerme la vida más alegre, a todos aquellos que no están aquí, pero que me ayudaron a que este gran esfuerzo se volviera realidad.

“Muchas veces, a lo largo de un mismo día, me doy cuenta que mi propia vida y sus logros se han construido gracias al trabajo de las personas que me rodean. También comprendo, con cuanta seriedad debo esforzarme para darles en correspondencia, tanto como he recibido.”

-Albert Einstein

## CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Características de la micotoxinas.....	3
2.2. Condiciones para el desarrollo de aflatoxinas en los cultivos y alimento .....	4
2.3. Las micotoxinas en cultivos y alimentos.....	4
2.4. Las aflatoxinas y su efecto en la salud publica .....	5
2.5. Metabolismo de las aflatoxinas .....	6
2.6. Principales alimentos contaminados por aflatoxinas .....	7
2.7. Aspectos legislativos en la vigilancia y control de las aflatoxinas.....	9
2.8. Prevención y control de la incidencia de aflatoxina B1 en alimentos .....	11
2.9. Tratamientos para reducción de detoxificación con aflatoxina .....	12
2.10. Presencia de aflatoxina en leche.....	15
2.11. Transferencia de aflatoxinas AFB <sub>1</sub> a AFM <sub>1</sub> .....	16
2.12. Aspectos legislativos en la vigilancia y control de AFM <sub>1</sub> en leche.....	17
2.13. Estabilidad y distribución de AFM <sub>1</sub> en los productos lácteos.....	17
2. 14. Calidad e inocuidad de la leche.....	18
2.15. Calidad nutricional .....	19
2. 16. La pollinaza en la composición de la dieta de rumiantes .....	21
2.17. El uso de pollinaza en la alimentación de vacas lecheras.....	22
3. OBJETIVOS .....	23
3.1 Objetivo general .....	23
3.2 Objetivos específicos .....	23
4. MATERIALES Y MÉTODOS .....	24
4.1. Localización de área geográfica.....	24
4.2. Obtención de la información.....	25



4.3. Población de estudio y tamaño de muestra .....	25
4.4. Investigación en campo.....	26
4.5. Elaboración de encuesta.....	26
4.6. Toma de muestras de leche.....	27
4.7. Técnicas de laboratorio para determinar la calidad nutricional de la leche .....	28
4.8. Técnicas de laboratorio para determinar la calidad fisicoquímica de la leche ....	29
4. 9. Concentración de aflatoxinas en alimento.....	29
4.10. Concentración de aflatoxinas en leche.....	29
4.11. Calidad nutricional, fisicoquímica y sanitaria de la leche.....	31
4. 12. Análisis estadísticos .....	31
5. RESULTADOS.....	33
5.1. Población y superficie de los ranchos .....	33
5. 2. Inventario de ganado.....	33
5.3. Producción de leche.....	34
5.4. Composición de la leche cruda .....	35
5.5. Contenido de aflatoxinas totales (AFT) y AFM <sub>1</sub> en leche.....	36
5.6. Contenido de aflatoxinas en los alimentos .....	37
5.7. Prácticas sanitarias de ordeño .....	38
5.8. Correlaciones entre variables de calidad de leche cruda.....	39
6. DISCUSION .....	42
7. CONCLUSIONES.....	45
8. LITERATURA CITADA.....	46
ANEXO A .....	56
Encuesta aplicada los productores.....	56

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Niveles máximos permitidos ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ ) de AFB <sub>1</sub> (UE) en la alimentación animal.....	10
Cuadro 2. Especificaciones de las propiedades fisicoquímicas de la leche cruda asociadas con su composición.....	20
Cuadro 3. Asignación de la muestra a los estratos.....	25
Cuadro 4. Norma oficial PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012 .....	26
Cuadro 5. Unidades de producción lechera en la región Centro de Chiapas.....	33
Cuadro 6. Inventario de ganado según promedio y porcentaje por clase, en la región centro de Chiapas .....	34
Cuadro 7. Producción de leche en ranchos de la Zona Centro de Chiapas.....	35
Cuadro 8. Calidad nutricional y fisicoquímica de la leche cruda en la zona centro de Chiapas. ....	36
Cuadro 9. Presencia de aflatoxinas en raciones de bovinos y AFM <sub>1</sub> en leche cruda de ranchos de la zona centro de Chiapas. ....	37
Cuadro 10. Niveles de aflatoxinas totales (AFT) en la dieta de vacas y M1 (AFM <sub>1</sub> ) en leche cruda, según tipo de alimento y unidades de producción .....	37
Cuadro 11. Prácticas sanitarias durante el ordeño de vacas Suizo Americana en las unidades de producción, según característica y estrato.....	39
Cuadro 12. Correlación entre variables relacionadas con calidad de leche cruda y niveles de aflatoxinas en ranchos de Chiapas .....	40

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Etapas de la activación metabólica de la aflatoxina B <sub>1</sub> (AFB <sub>1</sub> ).....	7
Figura 2. Localización del área de estudio. Región centro del estado de Chiapas .....	24
Figura 3. Manejo de la ordeña. ....	27
Figura 4. Medición de pH en las muestra de leche .....	28
Figura 5. Toma de muestras para analizar.....	30
Figura 6. Correlación entre contenido de grasa y niveles de aflatoxinas AFM <sub>1</sub> en leche cruda .....	40

## 1. INTRODUCCIÓN

La producción de leche cruda en ranchos de doble propósito de áreas rurales, constituye un importante ingreso para la familia y para el pago de los gastos directos de la unidad de producción (UP). Sin embargo, el precio del producto se ve mermado por su calidad nutricional y contaminación con micotoxinas, además de constituir un riesgo para la salud pública. Estos compuestos químicos tóxicos son producidos por algunas cepas de hongos, los cuales bajo ciertas condiciones manifiestan actividades cancerígenas, teratogénicas y mutagénicas. Entre las principales manifestaciones asociadas a la exposición de estas sustancias, están el daño hepático y renal, inmunosupresión y citotoxicidad.

Las áreas tropicales y subtropicales proporcionan condiciones óptimas para la formación de toxinas, las cuales contaminan los alimentos, consecuencia de las elevadas temperaturas y humedad relativa. Las aflatoxinas totales (AFT) se encuentran como contaminantes naturales de los alimentos, siendo producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, cuando las condiciones ambientales de temperatura y humedad en campo, almacenamiento y procesamiento de los alimentos favorecen su desarrollo (Klich et al , 2000). Prácticas inadecuadas en el manejo de la leche, contribuyen al crecimiento de hongos e incrementan el riesgo de producir micotoxinas (Bhat & Vasanthi, 2003).

La aflatoxina M1 (AFM<sub>1</sub>) es la forma hidroxilada de AFB<sub>1</sub>, secretada en la leche y orina de animales que consumen alimentos contaminados con AFB<sub>1</sub> (Hussein et al, 2001). La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer incluye a la AFB<sub>1</sub> como compuesto carcinógeno de grupo 1<sup>a</sup> (IARC, 2002); aunque la AFM<sub>1</sub> es menos potente que AFB<sub>1</sub>, el alto consumo de leche y sus derivados incrementa el riesgo de exposición a este tóxico en la población. Los alimentos contaminados van a parar en muchas ocasiones a la industria ganadera, en donde las vacas productoras de leche transforman la aflatoxina B<sub>1</sub>, altamente toxica, presente en estas materias primas

contaminadas en Aflatoxina M<sub>1</sub> residual en leche, que finalmente es consumida por los humanos.

La Comunidad Europea establece que la concentración límite de AFB<sub>1</sub> en alimento destinado para vacas lecheras y AFM<sub>1</sub> en leche no debe ser superior a 5 µg kg<sup>-1</sup> (Directiva 2002/32/CE) y 0.05 µg L<sup>-1</sup> respectivamente (Comunidad Europea 466/2001). En México, la NOM-188-SSA1-2002 establece el límite máximo permisible de aflatoxinas en los cereales destinados para el consumo humano y animal en 20 µg kg<sup>-1</sup>, así como los lineamientos y requisitos sanitarios para el transporte y almacenamiento de los productos. Respecto al nivel de AFM<sub>1</sub> en leche, el PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012 especifica que el máximo permitido es de 0.5 µg L<sup>-1</sup>. Estos niveles de residuos de aflatoxinas en los alimentos de origen animal, se ven afectados por la especie, raza de animales, concentración de micotoxinas, cantidad, forma y duración del consumo del alimento contaminado (Gimeno, 2006).

Debido a la importancia de disminuir los riesgos de la contaminación de alimentos en la salud pública, es importante realizar evaluaciones periódicas de la calidad de las materias primas que se utilizan para la elaboración de las raciones del ganado y de los productos producidos, como la leche, además de realizar investigaciones de su contenido de aflatoxinas, principalmente de alimentos para consumo humano.

Teniendo en cuenta la importancia de la calidad y nivel de contaminación de la leche y el pienso utilizado para el ganado, se realizó un estudio para determinar la calidad fisicoquímica y la presencia de aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche, además de aflatoxinas totales en el suplemento del ganado lechero en la zona centro del estado de Chiapas.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Características de la micotoxinas

Las micotoxinas son hongos filamentosos capaces de producir metabolitos secundarios, no esenciales para su crecimiento, muchos de los cuales se asocian con la aparición de efectos adversos en humanos y otros vertebrados (FAO, 2009; Bennett & Klich, 2003; D' Mello & Macdonald, 1997) y se producen en los alimentos en condiciones ambientales adversas (Sforza et al., 2005) de tipo físicas (humedad, temperatura, etc.), químicas (pH, nutrientes, suficiente oxígeno, etc.) y biológicas (daño físico en la materia prima, presencia de esporas de los hongos, presencia de invertebrados o de cepas específicas).

Las micotoxinas son compuestos policetónicos resultantes de reacciones de condensación que ocurren cuando se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos durante la biosíntesis de los ácidos grasos, realizada por los mohos. Estos ácidos grasos son metabolitos primarios utilizados por los mohos como fuente de energía. Se suelen formar al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento de los mohos toxigénicos, ya que no son necesarias para el crecimiento de los mismos, pero contribuyen al mantenimiento del organismo en su ambiente natural (Gimeno & Martins, 2006; D' Mello & Macdonald, 1997).

El término aflatoxina fue acuñado a comienzos de 1960, cuando más de 100.000 pavipollos y patos murieron en granjas británicas a causa de una enfermedad conocida como "enfermedad X de los pavos", que se atribuyó a la presencia de toxinas de *Aspergillus flavus*, encontradas en el pienso que contenía pasta de cacahuate (*Arachis hypogaea*) importado de Brasil. En el examen *post-mortem* de los animales se revelaba la completa degeneración de las células del parénquima hepático asociada con una proliferación del conducto biliar (Blout, 1961). Desde entonces se han identificado 18 tipos de AFs, de las cuales sólo 6 tienen importancia como contaminantes de los alimentos: AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, AFM1 y AFM2, aunque existen otras entre las que destacan la AFP1, AFQ1, AFB2a, AFG2a o el aflatoxicol.

Los pesos moleculares de las aflatoxinas oscilan entre 312 y 350 Daltons, y todas contienen en su molécula una mitad dihidrofurano unida a un anillo cumarina y son fuertemente fluorescentes (AFBlue-azul o AFGreen-verde) bajo luz ultravioleta, habiéndose aprovechado esta propiedad como base de sus procedimientos analíticos (Soriano et al., 2007; Bennett & Klich, 2003; Wogan, 1966).

## **2.2. Condiciones para el desarrollo de aflatoxinas en los cultivos y alimento**

Los cultivos en las áreas tropicales y subtropicales son más susceptibles de ser contaminados con micotoxinas que los de zonas templadas, ya que la elevada humedad y temperatura de las primeras proporcionan las condiciones óptimas para la formación de toxinas. Las prácticas inadecuadas durante su recolección y el almacenamiento, junto con un transporte, comercialización y procesado deficientes, pueden contribuir al crecimiento de hongos e incrementar el riesgo de producir micotoxinas (Bhat & Vasanthi, 2003; Thomson & Henke, 2000). Se estima que el 25% de los cultivos mundiales de grano, gran parte de ellos alimentos básicos, se ven afectados por hongos productores de micotoxinas.

## **2.3. Las micotoxinas en cultivos y alimentos**

Los hongos micotoxigénicos implicados en la cadena alimentaria pertenecen básicamente a los géneros *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*, que son capaces de producir un síndrome tóxico por la ingestión de sus micotoxinas conocido como micotoxicosis (Sherif et al., 2009; van Egmond et al., 2007; Sweeney & Dobson, 1998). Las de mayor importancia en los alimentos y que afectan la salud pública son: aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas, zearalenona y la toxina T-2 (Sherif et al., 2009). Según la Food and Agriculture Organization (FAO, 2009), estas ocasionan pérdidas del orden de 1,000 millones de toneladas al año.

Las AFs de mayor importancia en alimentos y piensos son producidas fundamentalmente por tres especies de mohos del género *Aspergillus*, que son: *A. flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius*, contaminantes de plantas y los productos de éstas

(Moss, 2002; JECFA, 2001; Sweeney & Dobson, 1998). Bajo determinadas condiciones de temperatura y actividad de agua elevadas, *A. flavus* produce AFs del tipo B, mientras que las otras dos especies son capaces de producir tanto la B como la G. *A. flavus* es un contaminante habitual en cultivos agrícolas y, otras especies como *A. bombycis*, *A. ochraceoroseus*, *A. nomius* y *A. pseudotamari* también son productoras de AFs, pero se encuentran con menos frecuencia en los cultivos (Bennett & Klich, 2003).

Los factores condicionantes para el desarrollo de hongos no siempre coinciden con los necesarios para la producción de AFs. Una de las especies aflatoxigénicas más importantes es *A. flavus*, que puede proliferar a temperaturas de 10 a 43°C, con una actividad de agua (aw) de alrededor de 0,78. Sin embargo, la temperatura óptima para que produzca toxinas está entre 25 y 30°C, y una aw de 0,95 a 0,99, aunque puede ser inferior (Gimeno, 2002). Las pautas de comportamiento del *A. parasiticus* son similares, aunque la aw óptima para su crecimiento es inferior (de 0,83), y para la producción de toxinas es de 0,87, con temperaturas entre 28 y 30°C (Ribeiro et al., 2006). El pH óptimo para el crecimiento de estos hongos oscila entre 3.5 y 5.5.

Otro factor que influye en el crecimiento y en la síntesis de AFs, es la composición gaseosa ambiental. Al ser hongos aerobios, su crecimiento cesa a concentraciones de CO<sub>2</sub> del 25%, mientras que se necesitan concentraciones de al menos 50% para detener la síntesis de AFs (Giorni et al., 2008).

#### **2.4. Las aflatoxinas y su efecto en la salud pública**

Las aflatoxicosis o enfermedades causadas por la ingestión de AFs, pueden ser agudas y llegar a causar la muerte, o problemas crónicos, dando lugar a cáncer, inmunosupresión u otras patologías “lentas” (Hsieh, 1988). Dentro de los efectos agudos se han descrito los síndromes de Kwashiorkor y de Reye; ambos afectan a niños y adolescentes, y se relacionan con una severa malnutrición, y encefalopatía y degeneración grasa de las vísceras, respectivamente (Hayes, 1980). A largo plazo,



estas toxinas pueden reaccionar y modificar el ADN, dando lugar a la formación de lesiones pro-mutagénicas que provocan la activación de proto-oncogenos y la inactivación de genes supresores de tumores (Kensler et al., 2003). Son también genotóxicas, teratogénicas y tienen efectos antinutricionales (Williams et al., 2004).

El hígado es el órgano diana primario afectado por la toxicidad y carcinogenicidad de las AFs. Los primeros síntomas de la hepatotoxicidad ocurren a nivel proteico y pueden confundirse por otras muchas toxemias, con manifestaciones de anorexia, malestar general y fiebre baja. Las aflatoxicosis pueden progresar a hepatitis aguda potencialmente mortal con vómitos, dolor abdominal y finalmente muerte (Abdel-Wahhab et al., 2007). A pesar de que los controles han aumentado, no deja de ser un problema de actualidad, de hecho en 2005 se declararon varios brotes de aflatoxicosis agudas en una amplia zona geográfica en Kenya, causando más de 123 muertes (Azziz-Baumgartner et al., 2005).

La AFB<sub>1</sub> es la más tóxica que se conoce, seguida de la AFM<sub>1</sub> (derivado metabólico de la B<sub>1</sub>). La dosis letal aguda de AFB<sub>1</sub> para humanos adultos oscila entre 10 y 20 mg de AFs (Pitt, 2000). Gimeno & Martins (2006) han descrito una TD50 (que en el 50% de los individuos predispone a desarrollar tumores malignos) por peso corporal y día de 1.15 µg kg<sup>-1</sup> de AFB<sub>1</sub>, y una ingesta diaria tolerable (TDI) de 0.11-0.19 ng kg<sup>-1</sup>. Sin embargo, para las distintas especies animales como la ovina, porcina, canina, etc., varía entre 0.3 y 17.9 mg kg<sup>-1</sup> de peso vivo, siendo la rata la más resistente (Patterson, 1973).

## **2.5. Metabolismo de las aflatoxinas**

En cuanto a su metabolismo (Figura 1), la AFB<sub>1</sub> ingerida se absorbe a nivel gastrointestinal y es oxidada por enzimas del citocromo P450 en el hígado. Posteriormente es transformada en AFB<sub>1</sub>-8,9-epóxido, la cual reacciona con el átomo N7 de la guanina, formando un conjugado pro-mutagénico inestable de ADN, que se excreta en la orina (Cupid et al., 2004).

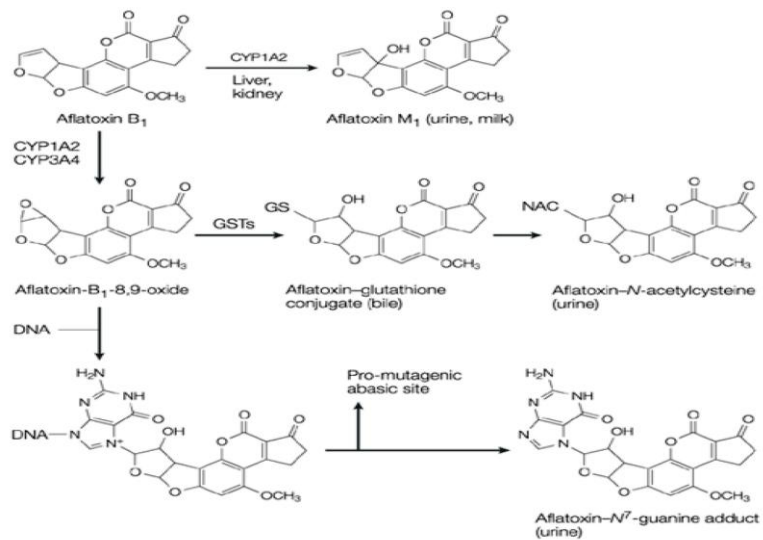


Figura 1. Etapas de la activación metabólica de la aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>).

Fuente: Kensler et al. (2003).

Además de estas rutas metabólicas, la AFB<sub>1</sub> puede sufrir una oxidación a nivel hepático y renal, y ser transformada en AFM<sub>1</sub>, que se excreta en la leche al atravesar la barrera del epitelio alveolar. Sin embargo, la AFB<sub>1</sub>-8,9-óxido también puede ser sustrato de las glutatión S-transferasas, produciéndose una detoxificación que da lugar a productos no tóxicos excretados en bilis y orina (Kensler et al., 2003), como el conjugado aflatoxina-glutatión y la aflatoxina-N-acetilcisteína.

## 2.6. Principales alimentos contaminados por aflatoxinas

La incidencia de AFs en alimentos y piensos es relativamente alta en las regiones tropicales y subtropicales, donde el clima cálido y húmedo ofrece condiciones óptimas para el crecimiento de estos mohos (Rustom, 1997), aunque la contaminación también puede ocurrir en regadío de desiertos cálidos y en zonas templadas con época de sequía definida (Cotty & Jaime-García, 2007). Esta contaminación puede ocurrir en cualquier etapa del proceso de producción de alimentos, desde antes de la cosecha

hasta el almacenamiento (Turner et al., 2009; Soriano et al., 2007), momento éste último en el que suelen aparecer los niveles más altos, ya que los mohos crecen con más rapidez (Moss, 2002).

La invasión por parte de los mohos aflatoxigénicos y la contaminación por AFs depende de la cantidad de inóculo de esporas en el campo, el estrés en la planta, daños causados por otros hongos, resistencia y nutrición mineral de la planta, daños mecánicos, elevada humedad o insuficiente secado de los cultivos y alta temperatura (Williams et al., 2004; Bullerman et al., 1984; Hesseltine, 1976). De forma general, las AFs pueden encontrarse como contaminantes naturales en cereales y sus subproductos, ensilados, forrajes, pastas de oleaginosas, entre otros., y en toda una serie de alimentos para humanos de los que destacan los frutos secos, productos de salchichonería, especias, vinos, leguminosas, frutas, leche y sus derivados (Gimeno & Martins, 2006). En particular, los cultivos más afectados por AFs son el maíz, arroz y la semilla de algodón (Pittet, 2001; Rustom, 1997).

La colonización del maíz por parte de *Aspergillus* suele originar la acumulación de AFs durante la recolección (Decastelli et al., 2007). Ese maíz al contener micelios y esporas, cuando es almacenado disminuye su calidad y valor económico. Su recolección se realiza con un contenido en humedad del 18-20% ( $A_w$  de 0.90 a 0.93) y después se seca, pero este proceso es a menudo ineficiente y las condiciones ambientales producen un rápido deterioro y producción de AFs. Otros factores como la deficiencia de nitrógeno en los suelos, la población excesiva de cultivos, y un desarrollo pobre de la raíz pueden aumentar el riesgo de contaminación (Vincelli et al., 1995). Las pérdidas económicas anuales en EU, debidas a AFs en alimentos y piensos alcanzan los 270 millones de dólares (Richard & Payne, 2003). Vardon et al. (2003) han estimado pérdidas de 500 millones rechazos de productos en el mercado y gastos en salud animal.

Aunque la elevada contaminación con AF's se relaciona más con condiciones ambientales de climas cálidos, también se reportan casos atípicos en países como

Italia, donde condiciones climáticas inusuales propiciaron el desarrollo de mohos del género *Aspergillus* en maíz, con la consecuente producción y acumulación de AFB<sub>1</sub> (Decastelli et al., 2007) y niveles elevados de AFM<sub>1</sub> en la leche de los animales alimentados con esos piensos.

Cuando los animales ingieren alimentos contaminados por AFs, éstas se transfieren a la cadena alimenticia, aunque de forma distinta entre rumiantes y no rumiantes. En el caso de rumiantes, su ingestión en largos períodos, puede afectar la producción de leche, carne o lana, la reproducción y el crecimiento.(Hussein & Brasel, 2001). A diferencia de los no rumiantes, poseen una primera barrera de defensa que la constituye la microflora ruminal, sin embargo, ésta no es capaz de degradar las AFs (Driehuis et al., 2010;Kiesling et al., 1984).

## **2.7. Aspectos legislativos en la vigilancia y control de las aflatoxinas**

En México, la NOM-188-SSA1-2002 establece el límite máximo permisible de aflatoxinas en los cereales destinados para el consumo humano y animal en 20 µg kg<sup>-1</sup>; así como los lineamientos y requisitos sanitarios para el transporte y almacenamiento de los productos. El sistema de alerta rápida para piensos y alimentos (Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF) informa de los riesgos para el consumidor cuando detecta algún pienso que, en su opinión, podría poner en riesgo a los consumidores. La Unión europea (U.E) utiliza esta red para informar al consumidor sobre el riesgo potencial y las acciones que emprenden para impedir que ese pienso entre en la cadena alimenticia, de manera que las autoridades de otros países pueden actuar rápidamente, si piensan que sus propios ciudadanos pueden correr ese mismo riesgo.

Debido a los problemas de salud que ocasionan las micotoxinas en el hombre y los animales, 100 países en el mundo han adoptado reglamentos específicos o directrices de prevención para evitar contaminación por micotoxinas, y en concreto, 61 tienen reglamentación específica para AFs totales en alimentos y 39 para AFs en piensos (van Egmond et al., 2007; Williams et al., 2004). La AFB<sub>1</sub> ha sido clasificada por la WHO-

IARC (World Health Organization - International Agency for Research on Cancer) como Grupo 1: cancerígena en humanos (IARC, 2002). Además, es una prioridad de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA-European Food Safety Authority) el establecimiento de límites máximos permitidos en alimentos y piensos, y un deber de los productores el cumplir con ellos (Sforza et al., 2005).

En el caso de la AFB<sub>1</sub>, los niveles máximos permitidos son mucho más elevados que para la AFM<sub>1</sub>, pero su aplicación garantiza que los límites para la AFM<sub>1</sub> no lleguen a superarse. Para la alimentación animal, el límite para la AFB<sub>1</sub> fue establecido entre 5 y 50 µg kg<sup>-1</sup> (Directiva 2002/32/CE). Sin embargo, con la nueva Directiva 2003/100/CE, estos niveles se han hecho más estrictos (Cuadro 1), de 5 a 20 µg kg<sup>-1</sup>.

**Cuadro 1. Niveles máximos permitidos (µg kg<sup>-1</sup>) de AFB<sub>1</sub> (UE) en la alimentación animal**

<b>Productos</b>	<b>Nivel de aflatoxina b1 (µg kg<sup>-1</sup>)</b>
Materias primas en general	20
Piensos completos para bovinos, ovinos y caprinos	20
Para ganado lechero	5
Para terneros y cabritos	10
Para cerdos y aves (excepto animales jóvenes)	20
Otros piensos completos	10

Fuente: Directiva 2003/100/CE.

Fuera de la UE, el límite máximo de AFs para los alimentos se encuentra entre 10 y 50 µg kg<sup>-1</sup>, existiendo mucha variabilidad entre países aunque para el caso concreto de EU., la FDA ha establecido el límite de 20 µg kg<sup>-1</sup> para el comercio de piensos y alimentos entre estados.

## **2.8. Prevención y control de la incidencia de aflatoxina B1 en alimentos**

Según Steyn (1995), la necesidad de controlar la exposición a las AFs está relacionada con los efectos adversos a corto y largo plazo de los productos contaminados con AFs en la salud humana y animal, y la presencia de residuos de AFs o metabolitos en los tejidos animales y la leche para consumo humano. Su prevención es el mejor método de control de la contaminación por micotoxinas; sin embargo, la invasión de los mohos y la posterior producción de AFs a veces es inevitable (Castells et al., 2005). Los programas de control de micotoxinas incluyen el establecimiento de límites reglamentarios o directrices, programas de seguimiento de los niveles de micotoxinas en los productos sensibles, y procedimientos de descontaminación y/o estrategias para el desvío de productos contaminados a los usos de menor riesgo (Park & Liang, 1993).

Dado que la AF más peligrosa es la B1, y que puede transferirse a la leche tras metabolizarse a M1, el Código de Prácticas del Codex Alimentarius provee información para prevenir y reducir la presencia de esta AF en materias primas y alimentos, cuyos tres puntos básicos de control son: a) reducción de la presión de infección en el campo, b) minimización de la susceptibilidad de la planta a las infecciones fúngicas durante la producción del cultivo, c) prevención de las condiciones durante el almacenamiento y transporte que pueden dar lugar al crecimiento del hongo y a la formación de AFs.

Se han utilizado diferentes estrategias para minimizar la contaminación de los cultivos por AFs antes de la cosecha, entre ellas el uso de fungicidas, el riego en momentos controlados y los sistemas alternativos de cultivo, que han demostrado un éxito limitado al usarlos de forma independiente (Abbas et al., 2009). En cuanto a los tratamientos que se realizan en los alimentos después de la cosecha para evitar el crecimiento de mohos y destruir las AFs, éstos no siempre pueden garantizar que las mercancías se ajusten a los niveles de tolerancia o sean aceptadas por los organismos reguladores o por los consumidores. Por lo tanto, la búsqueda de variedades de plantas resistentes a la acumulación de AFs, sobre todo en el maíz, es la principal

estrategia sugerida por la mayoría de los investigadores para prevenir la contaminación antes de la cosecha. Y aunque la aceptación por parte del consumidor de variedades transgénicas es muy controvertida, son numerosos los que señalan buenos resultados (Brown et al., 2003). Brown et al. (1999), conociendo la existencia de una resistencia natural en el maíz, estudiaron las características morfológicas, las proteínas y las regiones del cromosoma que conferían esa resistencia a determinados genotipos, permitiendo así la comercialización de líneas de maíz con resistencias múltiples a la contaminación por AFs. El conocimiento de esta información, junto con la referente a la enzimología y biología molecular de los hongos productores de AFs, es lo que permitirá el control de la contaminación tanto en el maíz (Moreno & Kang, 1999), como en el resto de plantas hospedadoras.

En la actualidad, el control biológico parece ser otro recurso para reducir la acumulación de AFs, utilizando cepas no-toxigénicas de *Aspergillus* para reducir la incidencia de hongos productores de la toxina a través del desplazamiento competitivo (Abbas et al., 2009) y que evita el uso de transgénicos.

## **2.9. Tratamientos para reducción de detoxificación con aflatoxina**

En el caso de que no se pueda prevenir la contaminación con AF, muchos autores han sugerido el empleo de métodos de descontaminación en las etapas posteriores de la producción de alimentos. Sin embargo, son de difícil aplicación y además incrementan los costos de producción, no siendo siempre los resultados satisfactorios (Peraica et al., 2002). Según la FAO (1977), el proceso de descontaminación debe cumplir varias condiciones:

- a) Destruir, inactivar o eliminar la toxina,
- b) No producir o dejar residuos tóxicos, carcinogénicos ni mutagénicos en los productos finales o en los productos alimentarios obtenidos de animales alimentados con piensos descontaminados.
- c) Mantener el valor nutritivo y la aceptabilidad del producto.
- d) No alterar significativamente las propiedades tecnológicas importantes.

- e) Destruir las esporas fúngicas y los micelios que pudieran, bajo condiciones favorables, proliferar y formar nuevas toxinas.

Estos métodos se pueden agrupar según sus propiedades en físicos, químicos y biológicos: los métodos físicos más básicos consisten en la eliminación, mediante selección manual, de granos contaminados por mohos. Este procedimiento requiere mucho tiempo y a veces es imposible realizarlo. Una eliminación parcial de la micotoxina podría conseguirse usando métodos densitométricos, el lavado en seco, el triturado (Bata & Lásztity, 1999) o las radiaciones; sin embargo, el método físico más efectivo que se puede utilizar es el empleo adsorbentes.

Según el Reglamento 386/2009, se puede considerar a los adsorbentes como “sustancias que pueden suprimir o reducir la absorción, promover la excreción o modificar el modo de acción de las micotoxinas”. Los adsorbentes utilizados para AFs se pueden clasificar en compuestos inorgánicos a base de sílice o polímeros orgánicos a base de carbón. Los adsorbentes inorgánicos que se pueden encontrar actualmente en el mercado incluyen productos de arcilla naturales, además de polímeros sintéticos (EFSA, 2009).

Entre las arcillas, los aluminosilicatos son el grupo más estudiado, entre los que caben destacar: la bentonita, utilizada tanto para la AFB<sub>1</sub> como para la AFM<sub>1</sub> (Díaz et al., 2004). En cuanto al carbón activo, uno de los adsorbentes más efectivos y utilizado habitualmente en el tratamiento de intoxicaciones agudas, también ha sido estudiado en distintas formas comerciales para su uso en leche de vaca (Di Natale et al., 2009), mostrando una alta eficiencia (>93%) para eliminar concentraciones de AFM<sub>1</sub> de hasta 0,5 µg kg<sup>-1</sup>.

Los principales agentes químicos estudiados para la eliminación de las AFs son el amonio, la sosa cáustica, el peróxido de hidrógeno, los bisulfitos, los agentes clorados, el formaldehído y el ozono (Scott, 1998; McKenzie et al., 1997). Sin embargo, no existen informes detallados disponibles sobre los efectos secundarios del uso de estos agentes



(Bhat et al., 2010), o en algunos casos como los bisulfitos o el ozono, su uso en piensos no es económicamente factible. Solamente la amonización mediante hidróxido de amonio o gas amoníaco, ha sido desarrollada a escala industrial en algunos países para su uso con alimentos para animales (Driehuis et al., 2010), obteniéndose resultados aceptables.

La descontaminación química es muy eficaz, pero no siempre cumple con los requisitos de la FAO, ya que algunos compuestos dejan metabolitos tóxicos y otros reducen el valor nutricional de los alimentos y piensos tratados (Peraica et al., 2002), por lo que no sería la opción más recomendable.

Microorganismos como las levaduras, concretamente su pared celular (Santin et al., 2003), y las bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus*, *Propionibacterium* y *Bifidobacteria* (Gratz et al., 2007; El-Nezami et al., 1998), han sido estudiados por su capacidad de unirse a las AFs y limitar su biodisponibilidad en la dieta, actuando como adsorbentes biológicos. También algunas especies de *Nocardia*, *Mycobacterium* y *Rhodococcus* poseen la capacidad de degradar estas micotoxinas (Wu et al., 2009), y en concreto *Flavobacterium aurantiacum B-184*, es capaz de eliminar irreversiblemente las AFs presentes en soluciones (Lillehoj et al., 1967) usando mecanismos enzimáticos (Smiley & Draughon, 2000). Adicionalmente, son capaces de realizar esta biodegradación, algunos hongos antagónicos o cepas no virulentas que ocupan el mismo nicho ecológico que los productores de AFs, pertenecientes al género *Aspergillus*, *Eurotium* y *Rhizopus* (Wu et al., 2009; Nakazato et al., 1990). Incluso algunas enzimas provenientes de hongos como *Armillariella tabescens* (Liu et al., 2001) y algunas levaduras como *Rhodotorula rubra*, *Geotrichum fermentans* y *Kluyveromyces marxianus* (Bakutis et al., 2005).

Algunos productos naturales derivados de plantas como las especias (pimentón picante, nuez moscada o canela), las hierbas (aromáticas y medicinales) y aceites esenciales (de canela, de clavo o de tomillo) se sabe que contienen compuestos que

pueden inhibir el crecimiento de hongos y la producción de AFs ( Bullerman et al., 1984).

## **2.10. Presencia de aflatoxina en leche**

La importancia de la transferencia de micotoxinas o de sus metabolitos del pienso a la leche resulta de gran interés, tanto desde el punto de vista de la seguridad alimentaria de este alimento y de sus derivados lácteos, como de la normativa legal. Estos alimentos son los que mayor potencial poseen para introducir residuos de aflatoxinas (AFs), concretamente de AFM<sub>1</sub>, en la dieta humana (Driehuis et al., 2010; Galvano et al., 2001), por lo que son sometidos a continuas y frecuentes verificaciones no sólo con fines legales, sino también informativos, realizándose estudios para conocer los niveles de incidencia de AFM<sub>1</sub> en leche y productos lácteos (Roussi et al., 2002). Asimismo, los controles estrictos de los piensos tanto comerciales como importados en países como la UE, que forman parte de las raciones de las especies lecheras, han limitado el número de casos de contaminación en la leche (Boudra et al., 2007).

Las AFs pueden contaminar la leche y sus derivados en forma directa o indirecta. La contaminación directa de los productos lácteos tiene lugar por la presencia de hongos, que producirán principalmente las AFs B1, B2, G1 y G2. Si esta contaminación ocurre en la leche en polvo que se utiliza para elaborar un producto lácteo específico, por ejemplo yogur, las AFs aparecerán en esa leche fermentada sin que haya habido contaminación fúngica previa. Este hecho también podría ocurrir en el queso, producto especialmente sensible, durante una de sus etapas de producción o durante su almacenamiento (Sengun et al., 2007), ya que además en la maduración de los quesos intervienen hongos que podrían producir estas toxinas. Este tipo de contaminación no suele representar un problema importante, ya que el crecimiento de hongos aflatoxigénicos en un alimento da lugar en numerosos casos a alteraciones organolépticas del mismo y a su rechazo para el consumo (van Egmond, 1983). Sin embargo, no es posible garantizar que la ausencia de dichos hongos en un producto

asegure que éste se encuentre libre de AFs, debido a que dichas sustancias pueden persistir después de que los hongos hayan desaparecido.

La contaminación indirecta ocurre cuando crecen hongos aflatoxigénicos en los alimentos que producen AFB<sub>1</sub>, la que será consumida por los animales, quienes la hidroxilarán y la transformarán en aflatoxina M1 (AFM<sub>1</sub>) y aparecerá en la leche y los productos derivados, constituyendo un problema serio para la salud pública (Nuryono et al., 2009; Kamkar et al., 2005). El inconveniente que se presenta con este tipo de contaminación es más grave que con la contaminación directa, ya que existe el riesgo potencial de producir efectos tóxicos crónicos por el consumo reiterado de alimentos contaminados incluso con dosis bajas de AF (Galvano et al., 1996). La AFM<sub>1</sub> es 10 veces menos carcinogénica que la AFB<sub>1</sub> (Lafont et al., 1989), excretándose en la leche tanto de humanos como de animales en lactación que ingieren alimentos contaminados con AFB<sub>1</sub> (De longh, 1964). Una vaca es capaz de transformar la AFB<sub>1</sub> en AFM<sub>1</sub> dentro de las 12 a 24 horas de ingestión del alimento contaminado, incluso a las 6 horas ya pueden aparecer residuos de AFM<sub>1</sub> en la leche (Gimeno, 2002). Ahora bien, tras retirar la fuente de contaminación, la concentración de AFM<sub>1</sub> en la leche disminuye a niveles indetectables en aproximadamente 72 horas (Bataccone, 2003)

### **2.11. Transferencia de aflatoxinas AFB<sub>1</sub> a AFM<sub>1</sub>**

En las vacas la transferencia de la AFB<sub>1</sub> a AFM<sub>1</sub>, puede variar dependiendo del nivel de producción del animal, cuyo valor puede oscilar entre 3.8% y 2.5% según sea de alta o baja producción, respectivamente. Si los animales se encuentran en lactación temprana, la transferencia puede alcanzar hasta un 6.2%, mientras que los de lactación tardía presentan valores inferiores, alrededor del 1.8% (Veldman et al., 1992).

La transferencia está influenciada por otros factores, tanto nutricionales como fisiológicos, incluyendo el régimen de alimentación, ritmo de ingestión y digestión, salud del animal y capacidad de biotransformación hepática (Fink-Gremmels, 2008; Gimeno, 2006).

## **2.12. Aspectos legislativos en la vigilancia y control de AFM<sub>1</sub> en leche**

Respecto al nivel de AFM<sub>1</sub> en leche, el PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012 especifica que el máximo permitido es de 0.5 µg L<sup>-1</sup>. La normativa vigente NMX-F-712-COFOCALEC-2005 especifica la metodología necesaria para la determinación de AFM<sub>1</sub> por cromatografía de líquidos de alta eficiencia en fase reversa con detector de fluorescencia (RP-HPLCFLD) dando, por tanto, relevancia y antecedentes que sustentan la necesidad de evaluar la contaminación por AFM<sub>1</sub>.

La AFM<sub>1</sub> ha sido clasificada por la IARC como Grupo 2B: posiblemente cancerígena para los humanos (IARC, 2002). En la actualidad, existe un amplio rango en cuanto a los límites para la AFM<sub>1</sub> en leche en todo el mundo, que llega hasta 0.5 µg kg<sup>-1</sup> (FAO, 2004), sin embargo los dos más frecuentes son 0,05 µg kg<sup>-1</sup> y 0.5 µg kg<sup>-1</sup>. El primero ha sido establecido para leche cruda, leche para la fabricación de productos lácteos y leche tratada térmicamente, en la UE y en algunos países de África, Asia y América Latina. Mientras que el segundo se aplica en EU., el grupo MERCOSUR (Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay) y también en otros países asiáticos y europeos (Comisión del Codex Alimentarius, 2001).

La AFM<sub>1</sub> es la única micotoxina que se considera peligrosa para la seguridad alimentaria de los productos lácteos debido a su carcinogenicidad, sin embargo, otras micotoxinas como las fumonisinas o las ocratoxinas también pueden aparecer en la leche, pero con niveles de transferencia del orden de 100 veces menos (Driehuis et al., 2010).

## **2.13. Estabilidad y distribución de AFM<sub>1</sub> en los productos lácteos**

Existen numerosos estudios acerca del efecto que diferentes tratamientos, tanto de conservación y transformación de la leche y sus derivados, pueden tener sobre la AFM<sub>1</sub>. Los tratamientos por calor, son una de las principales vías de descontaminación microbiana de la leche, sin embargo para las AFs existen estudios con diferentes resultados sobre su inactivación una vez presentes en la leche (Galvano et al., 1996).

La pasteurización a 63°C durante 30 minutos, como el secado por rodillos a 40°C, a los que la leche de vaca puede ser sometida en la industria, no son capaces de inactivar la AFM<sub>1</sub> (Stoloff et al., 1975; Allcroft & Carnaghan, 1963), como tampoco lo ha sido la pasteurización a 77°C durante 6 segundos, o el calentamiento a 66-100°C durante 15-20 minutos (Yousef & Marth, 1989). Por lo tanto, el riesgo podría permanecer, no sólo en la leche comercial, sino también en sus derivados lácteos.

Los tratamientos por frío, para leche de vaca señalan que la AF es bastante estable a la congelación. Así, Rodríguez et al. (2003) no detectaron alteraciones en el nivel de AFM<sub>1</sub> en leche cruda congelada durante 30 días, hecho que también fue comprobado por Josephs et al. (2005), en un estudio sobre estabilidad de AFM<sub>1</sub> en materiales de referencia. Estos autores observaron que una concentración certificada de AFM<sub>1</sub> se mantiene estable en leche en polvo reconstituida y congelada a -20°C incluso hasta 6 años. En el caso de Stoloff et al. (1975), con leche contaminada naturalmente, la congelación a -18°C durante 68 días no afectó a la recuperación de la AFM<sub>1</sub> tras la descongelación.

## **2. 14. Calidad e inocuidad de la leche**

La calidad de leche puede deteriorarse por la acción bacteriana, cuando existen deficiencias en el lavado de utensilios y equipo de ordeña o por un deficiente manejo durante el transporte desde la granja hasta el lugar de recepción. Sin embargo, sus componentes naturales no se modifican después de la ordeña de las vacas, a menos que se agreguen adulterantes como grasas, sales y agua, principalmente (Alonso, 2004). Por lo tanto, la calidad de la leche se puede definir en términos de sus características fisicoquímicas y sanitarias, las cuales generalmente son verificadas por las industrias procesadoras de derivados lácteos.

De igual manera, la calidad de la leche cruda se asocia con sus características fisicoquímicas, de composición, nutricionales y sanitarias. La calidad nutricional, se asocia con el porcentaje de grasa en la leche, proteína cruda, lactosa, sólidos totales y

sólidos no grasos. La calidad sanitaria, con el conteo de células somáticas y carga microbiana presente, que puede cuantificarse mediante pruebas directas (conteo en placa) o indirectas (acidez, reductasa, etc.) y por la presencia de sustancias, que no son propias de la leche, por ejemplo antibióticos, agua, sedimentos, conservadores, entre otros (Ávila, et al., 2002). Otras definiciones se relacionan con “la idoneidad para el uso de un producto”, la cual plantea que la leche cruda y sus diferentes productos lácteos, deben satisfacer los requerimientos y necesidades de los consumidores y que las empresas agroindustriales serán las encargadas de verificar sus propiedades, durante los procesos de producción – consumo y, posteriormente deberán ser los laboratorios de control de calidad oficiales, los que verifiquen las características de los productos lácteos, antes de ponerlos a disposición del consumidor (Guajardo,1996).

Al referirse a la inocuidad de los alimentos, la FAO (1992) establece que los derivados lácteos deben cumplir, además, con una serie de requisitos para que se les pueda considerar como productos inocuos, confiables y nutritivos, para que la población los consuma. Así, Vega et al. (2000) proponen que el concepto de inocuidad este muy ligado al concepto de calidad y que la leche y sus derivados solo serán inocuos cuando carezcan de adulterantes y cuando la contaminación química y biológica que presenten, no rebase los límites máximos que permite la legislación sanitaria.

## **2.15. Calidad nutricional**

La calidad nutricional de la leche cruda, como materia prima para la industria de lácteos, debe cumplir con algunas características que se establecen como estándares, de aceptación, las cuales están documentadas en el proyecto de norma mexicana (PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012) sistema producto leche - alimento – lácteo – leche cruda de vaca (cuadro 2.).

Una descripción breve de las características mencionadas en la Norma es la siguiente:

Densidad de leche. Se estima por la cantidad de sólidos totales disueltos en la leche, cuya magnitud varía de 1.028 a 1.033 a 15° C, y está en función de la concentración de los sólidos no grasos disueltos y en suspensión. Estos valores sirven como criterio para detectar, indirectamente, la adición de agua a la leche. En este aspecto, la temperatura ambiental modifica la densidad de la grasa, al cambiar su punto de fusión, cuya estabilidad de su densidad ocurre hasta varias horas después del cambio de temperatura (Alais, 1970).

**Cuadro 2. Especificaciones de las propiedades fisicoquímicas de la leche cruda asociadas con su composición**

<b>PARAMETRO</b>	<b>ESPECIFICACION</b>
<b>Densidad a 15°C g ml<sup>-1</sup></b>	1,0295 min.
<b>Grasa butírica g L<sup>-1</sup></b>	
Clase A	≥32
Clase B	31 min.
Clase C	30 min.
<b>Proteínas totales g L<sup>-1</sup></b>	
Clase A	≥31
Clase B	30 a 30,9
Clase C	28 a 29,9
<b>Caseína g L<sup>-1</sup></b>	23 min.
<b>Lactosa g L<sup>-1</sup></b>	43 a 50
<b>Sólidos no grasos g L<sup>-1</sup></b>	83 min.
<b>Punto crioscópico °C</b>	Entre -0,515 y -0,536
<b>Acidez (como ácido láctico) g L<sup>-1</sup></b>	1,3 a 1,6
<b>Aflatoxina M1 µg kg<sup>-1</sup></b>	0,5 max.

NOTA – Punto Crioscópico expresado en °H: Entre -0,535 y -0.560

Fuente: PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012

Acidez. El contenido de caseína (0.05 – 0.08%), minerales, ácidos orgánicos y fosfatos, CO<sub>2</sub> (0.01 – 0.02%), citratos (0.01%) y la albumina (menos del 0.001%) influyen en la magnitud del pH, aunque también puede ser modificado al aumentar el ácido láctico, como consecuencia de la actividad microbiana en la lactosa. La medición del índice de acidez de la leche se puede realizar por titulación alcalimétrica, usando hidróxido de sodio (grados Dornic L<sup>-1</sup>) y porcentaje de ácido láctico, o acidez real mediante un potenciómetro.

Punto crioscópico. El punto crioscópico de la leche cruda es de -0.510° C (-0.530°H) a -0.536° C (-0.560°H) con un valor promedio de -0.526° C (-0.545° H). Estos valores generalmente se asocian con la adulteración con agua de la leche, lo cual tiene implicaciones nutricionales y sanitarias en el producto, al disminuir las sales disueltas y la lactosa, además del riesgo potencial de contaminación bacteriana cuando se adicionan aguas contaminadas. La determinación del punto crioscópico se basa en la ley de Raoult, la cual indica que tanto el descenso crioscópico como el ascenso ebullicópico, se determina por la concentración molecular de las sustancias; cuando se enfría una solución diluida se alcanza, eventualmente, una temperatura en la cual el solvente sólido comienza a separarse; la temperatura cuando comienza tal separación se conoce como punto de congelación de la solución (Pinto et al.,1996).

El valor de pH es el más importante que la acidez de la leche, ya que pueden existir leches que presenten un mismo valor de acidez pero pueden presentar valores diferentes de pH. Alais (1970) y Jensen (1995), mencionan que el pH normal de la leche es ligeramente ácido (6.6 a 6.8) por lo que leches de tipo alcalino presentan valores superiores a 6.9 e indican posible presencia de mastitis; mientras que valores menores a 6.5 indican leches acidificadas.

## **2. 16. La pollinaza en la composición de la dieta de rumiantes**

La pollinaza es la excreta de las aves de engorda, la cual se presenta mezclada con diversos materiales que son utilizado como cama en las granjas de pollos (aserrín de



madera, cascarilla de arroz o de soya, olote de maíz molido, entre otros). Este es un recurso ampliamente utilizado en México, en la alimentación de rumiantes. Se emplea en la dieta de animales por su alto valor proteínico y energético (Valdivié y Ortiz, 2003). Otra excreta avícola es la gallinaza, que son las deyecciones de gallinas de postura, pero cuyo valor nutricional es inferior a la pollinaza, además que su consumo propicia que los rumiantes presenten falsas reacciones positivas a la prueba de tuberculina, atribuido a una reacción inmunológica cruzada provocada por el *Mycobacterium avium* (Ortiz 2004).

### **2.17. El uso de pollinaza en la alimentación de vacas lecheras**

En zonas ganaderas del estado de Chiapas, en el sur de México, la pollinaza se incluye en la dieta de vacas destinadas a la producción de leche, aunque también es común que se utilice en ganado para carne esto debido a la popularidad del producto en el estado, así como su bajo costo. Los productores locales consideran que es un recurso muy importante para prevenir deficiencias de nitrógeno en rumiantes, y como una excelente alternativa durante la época seca en la región. Sin embargo, en la mayoría de los casos, este recurso es manejado incorrectamente en la alimentación del ganado, debido al desconocimiento de los ganaderos para balancear adecuadamente sus raciones y por ofrecerse ad libitum, sin conocimiento de los efectos potencialmente perjudiciales para el animal (Chang, 2009).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo general**

Determinar los niveles de aflatoxinas en raciones de vacas lecheras y contenido de AFM<sub>1</sub> en leche cruda, en cuatro municipios de la región centro del estado de Chiapas, México.

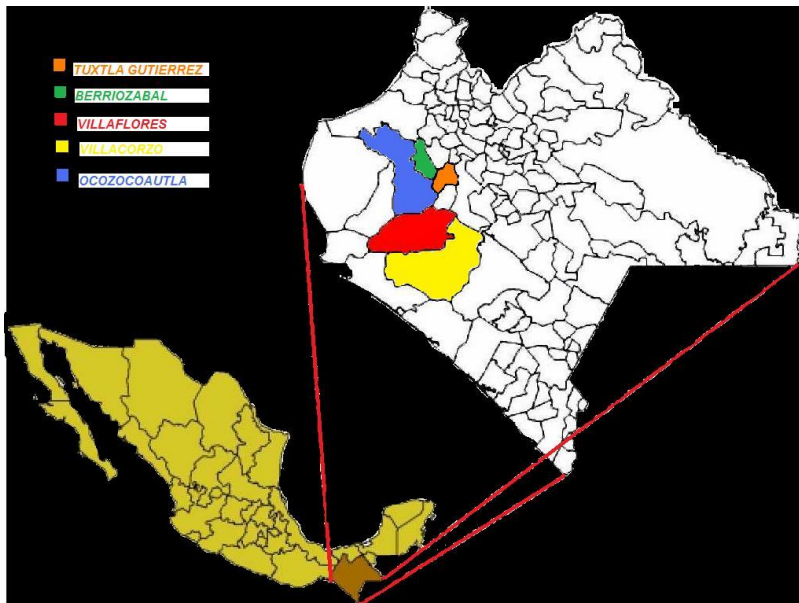
#### **3.2 Objetivos específicos**

- ✓ Determinar la calidad de la leche cruda, evaluada en tanque en los Municipios de Villaflores, Villacorzo, Ocozocoautla y Berriozabal.
- ✓ Determinar las características de la ración y sus niveles de aflatoxinas en el ganado lechero de la región.
- ✓ Determinar los niveles de aflatoxina AFM<sub>1</sub> en leche cruda recolectada en tanque en ranchos de la zona Centro de Chiapas.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. Localización de área geográfica

Se localiza en el extremo sur oriental de la república mexicana, entre los paralelos 14° y 33' y 17° 57' de latitud norte y los meridianos 90° 22' y 94° 08' de longitud oeste. Limita al norte con el estado de Tabasco, al sur con el Océano Pacífico, al este con la república de Guatemala y al oeste con los estados de Oaxaca, Veracruz y Tabasco. El estado comprende 119 municipios que ocupan 75,634.4 kms<sup>2</sup> (3.8% de la superficie total nacional).



**Figura 2. Localización del área de estudio. Región centro del estado de Chiapas**

La zona centro comprende los municipios de Villaflores, Villacorzo, Ocozocoautla, Berriozabal, Tuxtla Gutiérrez. El clima es cálido-subhúmedo con lluvias en verano, con temperatura media anual de 24.9°C y precipitación es de 1200 mm año<sup>-1</sup>. Esta región es la más importante del país en la crianza de ganado Suizo, identificándose tres aspectos: la producción de leche y becerros al destete, la engorda de novillos y la cría de sementales (INEGI, 1991).

## 4.2. Obtención de la información

La colección de datos se realizó mediante la aplicación de encuesta directa con el productor y muestreo de leche en el tanque enfriador, durante la época seca del año (Febrero a Abril), que corresponde al período de mayor suplementación alimenticia. La información obtenida se relacionó con aspectos productivos, manejo del ganado, alimentación, producción de leche preparación de la ubre, sanidad durante el ordeño y limpieza de utensilios y equipo.

## 4.3. Población de estudio y tamaño de muestra

La población motivo de estudio incluyó productores dedicados a la cría de ganado, agrupados en la Asociación de Ganado Suizo de Registro regional, cuyas unidades de producción disponían de ordeña mecánica y tanque enfriador y cuyos hatos fueron mayores de 30 vacas de vientre, ubicados en la región Centro de Chiapas. El marco de muestreo se constituyó con 47 ranchos (unidades de producción) de la región, el cual fue estratificado de acuerdo al número de vientres: EST I. 30 a 50 vacas, EST II. 51 a 100 vacas, y EST III. 100 a 200 vacas. El tamaño de muestra, se calculó utilizando un diseño de muestreo estratificado, con asignación proporcional (Sukhatme y Sukhatme, 1970). El tamaño de muestra fue de 20 unidades de producción, que correspondió al 42 % de la población. Obtenido el tamaño de muestra, ésta se asignó a los estratos, en

forma proporcional al tamaño de los mismos, cuya expresión fue la siguiente: 
$$n_i = \frac{N_i}{N} \cdot n$$

La asignación de estratos fue la siguiente:

**Cuadro 3. Asignación de la muestra a los estratos**

Estrato	Criterio	Ni	ni
I	30 a 50 vientres	19	8
II	51-100 vientres	23	10
III	101-200 vientres	5	2

#### 4.4. Investigación en campo

Esta investigación se dividió en dos etapas: a) Evaluación y, b) Toma de muestras de leche y análisis de la calidad nutricional y físico-química de la leche, de acuerdo a las especificaciones del PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012

**Cuadro 4. Norma oficial PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012**

<b>PARAMETRO</b>	<b>ESPECIFICACION</b>
<b>Densidad a 15°C g ml<sup>-1</sup></b>	1,0295 min.
<b>Grasa butírica g L<sup>-1</sup></b>	
Clase A	≥32
Clase B	31 min.
Clase C	30 min.
<b>Proteínas totales g L<sup>-1</sup></b>	
Clase A	≥31
Clase B	30 a 30,9
Clase C	28 a 29,9
<b>Caseína g L<sup>-1</sup></b>	23 min.
<b>Lactosa g L<sup>-1</sup></b>	43 a 50
<b>Sólidos no grasos g L<sup>-1</sup></b>	83 min.
<b>Punto crioscópico °C</b>	Entre -0,515 y -0,536
<b>Acidez (como ácido láctico) g L<sup>-1</sup></b>	1,3 a 1,6
<b>Aflatoxina M1 µg/kg</b>	0,5 max.

NOTA – Punto Crioscópico expresado en °H: Entre -0,535 y -0.560

Fuente: PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012

#### 4.5. Elaboración de encuesta

Se elaboró una cédula con 47 preguntas directas (Anexo A), para obtener información de la tecnología utilizada en el sistema de producción de leche, y las prácticas de manejo general de la explotación que se relacionaran con factores que pudieran afectar la calidad de la leche tales como el tipo y manejo de los insumos

alimenticios, rutina de ordeño, higiene del ordeñador, preparación de ubre y pezones antes del ordeño, tiempo y temperatura de almacenamiento de la leche después del ordeño, limpieza del ganado, corrales, utensilios y equipos de ordeño.

#### 4.6. Toma de muestras de leche

La recolección de las muestras se realizó de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-718-COFOCALEC-2006, guía para el muestreo de leche y productos lácteos. La cual establece el uso de viales de plásticos, provistos de tapón de cierre hermético, libre de fenol y limpios.

Para el análisis nutricional, se tomaron muestras por duplicado leche de tres onzas. Las muestras de leche se tomaron 12 – 14 h antes de su análisis, se identificaron y se colocaron en una hielera con hielo en cubos, a una temperatura menor de 4° C para su transporte y después se refrigeraron a 2° C hasta su análisis. La muestra de leche se tomó una vez concluida la ordeña directamente de los tanques enfriadores, previo mezclado de la leche por 3 min<sup>-1</sup> en forma mecánica.



**Figura 3. Manejo de la ordeña. a) Lavado de ubres previo a la ordeña; b) Vacas en ordeña mecánica y línea de vacío directa al tanque enfriador.**

#### 4.7. Técnicas de laboratorio para determinar la calidad nutricional de la leche

La determinación de densidad, sólidos no grasos, proteína total, lactosa, grasa y punto crioscópico de las muestras de leche obtenidas de las vacas, se realizó mediante espectroscopia infrarroja, en el lacti-check Ic-02, que es un aparato controlado por un microprocesador, que permite determinar densidad, sólidos no grasos, proteína total, lactosa, grasa y punto crioscópico, aprovechando el hecho de que casi todas las sustancias orgánicas absorben selectivamente ciertas longitudes de onda de la región infrarroja del espectro y los grupos funcionales de las moléculas de dichas sustancias. Para el uso de este aparato se requiere homogenizar la muestra y calentarse a 37 grados centígrados en baño María, posteriormente la muestra es colocada bajo la pipeta del lacti-check Ic-02 y de cada muestra se realizan dos repeticiones de cada lectura.

También se obtuvieron los valores de pH, debido a su importancia práctica y por el tipo de información que genera y que es de suma importancia para las unidades de producción de la región.

Para la determinación de pH, las muestras de leche se pusieron a 37°C, posteriormente se midió el pH en la mezcla (por duplicado), sumergiendo el electrodo del potenciómetro digital marca Hanna Instruments modelo HI 223, tomando el valor hasta que se hubiera estabilizado la lectura. El potenciómetro se calibró a temperatura ambiente, con los tampones a pH 4.01 y 7.01, reportándose la media como resultado final.



Figura 4. Medición de pH en las muestra de leche. a) medicion; b) calibracion

#### **4.8. Técnicas de laboratorio para determinar la calidad fisicoquímica de la leche**

El punto de congelación de la leche se determinó con el método del crioscopio termistor con el Advanced Cryoscope model 403. La leche se enfría a una temperatura por debajo de su punto de congelación, para luego inducir una cristalización repentina por vibración mecánica, lo que provoca que la temperatura se eleve, debido al calor de fusión desprendido, hasta alcanzar el punto de congelación de la leche, que es de  $-0.530^{\circ}$  a  $-0.560^{\circ}$  Horvet ( $-0.510^{\circ}$  a  $-0.536^{\circ}$  C) (Pinto et al., 1996).

#### **4.9. Concentración de aflatoxinas en alimento**

En cada rancho se determinó la contaminación por AFT's, se tomaron un mínimo de 30 muestras elementales (100 g cada una) de diferentes puntos dentro del comedero, las cuales fueron integradas en una muestra global (3 kg). La cuantificación de las AFT's presentes en el alimento se realizó mediante la técnica de ELISA de tipo competitivo-directo (Agraquant, Romer Labs®). Las muestras globales de alimento fueron reducidas de manera representativa por la técnica de cuarteo. A partir de 20 g de muestra se realizó la extracción de AFT con 100 mL de metanol:agua (70:30 v v-1). De manera independiente, se agregaron 200  $\mu$ L del conjugado a cada pocillo conteniendo los estándares y las muestras (100  $\mu$ L) previamente filtradas. Luego de mezclar, se transfirieron 100  $\mu$ L a los pocillos con los anticuerpos e incubaron durante 15 min. Luego de eliminar el contenido, los pocillos se lavaron con agua desionizada (cinco veces). Se descartó el exceso de agua y se secaron los pocillos. Se adicionaron 100  $\mu$ L de sustrato a cada pocillo y luego se incubó durante 5 min deteniendo la reacción por adición de 100  $\mu$ L de la solución stop. Los resultados de densidad óptica (DO) se obtuvieron en un lector de Elisa (Biotek 800) utilizando el filtro de 450 nm. Las concentraciones fueron calculadas por extrapolación de la DO con la respectiva curva de calibración.

#### **4.10. Concentración de aflatoxinas en leche**

La recolección de la leche (3 oz/ rancho) se realizó directamente de la válvula principal del tanque enfriador. Las muestras se mantuvieron refrigeradas hasta su análisis, siendo el mismo en un plazo no mayor a 48 h.



Para la determinación de la concentración de AFM1 en leche se empleó la técnica de ELISA de inhibición directa (Agraquant M1, Romer Labs®). Para ello, la leche se homogenizó manualmente a 37 °C en baño María; posteriormente se centrifugaron 50 mL durante 10 min a 3000 xg previo enfriamiento de la muestra a 4 °C durante 30 min. Se procedió a filtrar la leche para separar la grasa. Posteriormente, se adicionaron a los pocillos 100 µL de los estándares y de las muestras de leche se incubaron en agitación a 100 rpm durante 60 min a temperatura ambiente. Después de lavar (tres veces), se adicionaron 50 µL del conjugado a cada pocillo e incubó nuevamente en agitación a 100 rpm durante 30 min a temperatura ambiente. Luego de descartar el contenido, se lavaron nuevamente los pocillos y se agregaron 100 µL de solución de sustrato en cada pocillo e incubó en la oscuridad durante 40 min a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 100 µL de la solución stop y se procedió a determinar la densidad óptica (OD) en un lector de Elisa (Biotek 800) utilizando los filtros de 450 y 630 nm para lectura y referencia, respectivamente. Las concentraciones fueron calculadas por extrapolación de la DO con la respectiva curva de calibración.



**Figura 5. Toma de muestras para analizar. a y b) toma de muestra de válvula de tanque enfriador; c) conservación de muestras de alimento para análisis; d) traslado muestras de leche en cadena fría.**

#### 4.11. Calidad nutricional, fisicoquímica y sanitaria de la leche

En el Cuadro 4 se muestran los valores que se utilizaron como modelo de calidad nutricional, fisicoquímica y sanitaria de la leche cruda, establecidos en el proyecto de norma oficial PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012.

#### 4. 12. Análisis estadísticos

El estudio se basó en una muestra aleatoria de 20 unidades de producción, distribuidas en cuatro municipios de la región centro del estado de Chiapas: Berriozabal, Ocozocoautla, Villaflores y Villacorzo. . La información se analizó con el programa SAS (SAS 9.3, 2007) con el cual se estimaron los estadísticos descriptivos, y se realizaron análisis de varianza para comparar diferencias entre municipios en las variables estudiadas. La información de la encuesta fue presentada de acuerdo un diseño estratificado con asignación proporcional de la muestra a los estratos, cuyas ecuaciones fueron las siguientes:

$$\bar{Y}_{ni} = \frac{\sum_{j=1}^{ni} Y_{ij}}{n_i} = \text{Media del i-ésimo estrato en la muestra.}$$

$$\bar{Y}_{est} = \bar{Y}_W = \sum_i^L \frac{N_i}{N} \bar{Y}_{ni} = \sum_i^L W_i \bar{Y}_{ni} = \text{Media ponderada o estratificada.}$$

$$\text{Var}(\bar{Y}_{est})_{Pr\text{ oporcional}} = \frac{1}{n} \sum_i^L W_i S_{Ni}^2 - \frac{1}{N} \sum_i^L W_i S_{Ni}^2 = \text{Varianza del estimador.}$$

Para el análisis de las variables relacionadas con la presencia de aflatoxinas en leche, se utilizó un modelo de efectos fijos ( $\alpha$ ), como único efecto aleatorio al error  $\sim N I(0, \sigma^2)$ . El factor considerado fue el municipio. El modelo lineal usado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta (nivel de aflatoxina en leche, alimento).

$\mu$  = Media general.

$\alpha_i$  = Efecto del municipio i-esimo.

$\varepsilon_{ij} \sim NI(0, \sigma^2)$  = Error aleatorio.

Cuando los efectos incluidos en el modelo fueron diferentes ( $p < 0.05$ ), se probó la hipótesis de igualdad de efectos de medias de tratamientos, con la prueba de Tukey (Steel y Torrie, 1988).

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Población y superficie de los ranchos

La población de ganado lechero en el área de estudio varía de 30 a 200 vientres (Cuadro 3.), la cual fue subdividida en tres estratos (EST) correspondiendo el 40% a unidades de producción (U.P.) con hatos pequeños (30 a 50 vacas de vientre), 50% con hatos medianos (50 a 100 animales) y 10% hatos grandes (100 o más reproductoras), los cuales pastan en ranchos de 82 ha a 575 ha (Cuadro 5.). Se aprecia además que el EST 1 aprovecha más eficientemente los pastizales, ya que soporta una carga animal mayor ( $1.15 \text{ ha}^{-1}$ ) en comparación con los EST2 ( $0.73 \text{ ha}^{-1}$ ) y EST3 ( $0.60 \text{ ha}^{-1}$ ).

**Cuadro 5. Unidades de producción lechera en la región Centro de Chiapas**

Vientres (cbz)	Porcentaje (%)	Superficie (ha) $Y \pm S_y$	U.A. $\text{ha}^{-1}$ $Y \pm S_y$
30-50*	40%	$82.12 \pm 16.00$	$1.15 \pm 0.15$
51-100*	50%	$189.10 \pm 153.94$	$0.73 \pm 0.19$
101- 200	10%	$575.00 \pm 601.04$	$0.60 \pm 0.34$

### 5. 2. Inventario de ganado

El tamaño del hato generalmente se correlaciona con una mayor aceptación de innovaciones tecnológicas, sin embargo, esto ocurre cuando se tiene una producción intensiva, no así, en explotaciones extensivas. En la región de estudio el número de vacas en producción varía de 29 a 100 animales (Cuadro 6.) y su proporción con respecto al total de vientres en el hato oscila entre 33 a 36 %, lo cual es muy alto, reflejando una falta de planeación para tener una oferta de leche uniforme durante el año.

**Cuadro 6. Inventario de ganado según promedio y porcentaje por clase, en la región centro de Chiapas**

Clase	I		II		III		$\bar{Y}_{est} \pm S_y$
	$\bar{Y}$	%	$\bar{y}$	%	$\bar{y}$	%	
Vacas en producción	29.0	35.3	41.9	35.9	100.5	33.2	43.1 ± 1.9
Vacas secas	12.6	15.4	14.7	12.6	54.0	17.9	18.1 ± 1.4
Vaquillas	5.3	6.4	9.6	8.2	22.0	7.3	9.2 ± 2.0
Novillas	3.5	4.3	6.6	5.7	12.5	4.1	6.0 ± 1.2
Beceros	12.1	14.8	15.6	13.4	41.5	13.7	17.0 ± 1.0
Becerras	15.3	18.6	20.4	17.5	59.0	19.5	22.6 ± 2.0
Toretas	3.0	3.6	4.3	3.6	9.0	3.0	4.3 ± 1.1
Sementales	1.4	1.6	3.7	3.1	4.0	1.3	2.8 ± 0.4
Total hato	82.1	100.0	116.8	100.0	293.5	100	

Las vaquillas y novillas constituyen los futuros reemplazos de los hatos de doble propósito, cuya proporción es similar en los Est1 y Est2 (28%) superior al Est3 (22%), lo que son un indicador de las tasas de reemplazo de los hatos, siendo más baja en el Est3, debido probablemente a una mayor intensidad de selección en este último estrato. La proporción de crías menores de un año, indican tasas de parición del 63%, 63.6% y 65 % respectivamente, las cuales son bajas. Se observa también la presencia de sementales y toretas en el hato, debido a la práctica generalizada de usar monta directa para gestar sus vacas y conservar animales jóvenes para su reemplazo. En general, este estudio muestra proporciones similares en la distribución de clases de animales entre estratos.

### 5.3. Producción de leche

En el Cuadro 7., se muestran los promedios de producción de leche de las unidades de producción muestreadas, cuya ordeña se realiza en forma mecánica, con ordeñadoras manuales de uno a dos pistones, cuyo producto es llevado directamente a un tanque enfriador o enviarlo a través de una línea de vacío . Los promedios de

producción por estrato son de 8.8, 7.1, y 6.5 kg vaca-1 día<sup>-1</sup>, respectivamente para los estratos. Además el precio del producto, entregado en la UP varía de \$4.61 a \$ 4.75.

**Cuadro 7. Producción de leche en ranchos de la Zona Centro de Chiapas**

	I	II	III	$Y_{est} \pm S_y$
	$\bar{Y} \pm S_y$	$\bar{Y} \pm S_y$	$\bar{Y} \pm S_y$	
Kg <sup>-1</sup> hato <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	250.3 ± 60.1	300.1 ± 58.8	643.5 ± 61.5	317.9±10.1
Kg <sup>-1</sup> vaca <sup>-1</sup> día <sup>-1</sup>	8.8 ± 2.6	7.1 ± 0.9	6.5 ± 1.2	7.53±0.3
Precio por litro	4.61 ± 0.34	4.65 ± 0.43	4.75 ± 0.35	4.64 ±0.06

Como se puede observar en el Cuadro 7., esta producción por vaca es muy baja (6.5 a 8.8 Kg<sup>-1</sup> vaca<sup>-1</sup> día<sup>-1</sup>), obtenida principalmente con ganado Suizo en pastoreo y complementando su alimentación en época de estiaje.

#### 5.4. Composición de la leche cruda

Esta calidad se relaciona principalmente con el contenido nutricional de la leche y es verificada por el consumidor en forma subjetiva en forma visual y por su sabor; sin embargo, la industria procesadora de lácteos generalmente revisa su contenido de grasa y presencia de adulterantes. El tipo de alimentación del ganado, época del año, acción bacteriana, adulterantes, etapa de lactancia, entre otros, modifican la proporción de sus componentes. En el cuadro 8., se muestran los valores promedio de algunas variables asociados con la calidad de la leche cruda, en los municipios en estudio.

No se observaron diferencias ( $p>0.05$ ) en el contenido de grasa, proteína, lactosa y sólidos no grasos entre municipios, pero en general superan los valores tomados como referencia del proyecto de norma (PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012). Únicamente el valor del pH presentó diferencias ( $p<0.05$ ), siendo más alta en los municipios de

Ocozocuaula y Berriozabal, pero se encuentran dentro de lo aceptado por la NMX-F-700 para México.

**Cuadro 8. Composición nutricional de leche cruda en la zona centro de Chiapas.**

Variables	NOM	Municipio				EEM
		Villaflores	Ocozocoautla	Villacorzo	Berriozabal	
Grasa g L <sup>-1</sup>	30 min	31.76 <sup>a</sup>	34.85 <sup>a</sup>	35.06 <sup>a</sup>	36.40 <sup>a</sup>	0.15
Proteína g L <sup>-1</sup>	30 min	33.21 <sup>a</sup>	33.2 <sup>a</sup>	32.7 <sup>a</sup>	33.3 <sup>a</sup>	0.09
Lactosa g L <sup>-1</sup>	43-50	50.85 <sup>a</sup>	50.47 <sup>a</sup>	49.74 <sup>a</sup>	50.90 <sup>a</sup>	0.13
S.N.G g L <sup>-1</sup>	83 min.	90.85 <sup>a</sup>	90.47 <sup>a</sup>	89.52 <sup>a</sup>	91.00 <sup>a</sup>	0.25
pH	6.5-7.0	6.68 <sup>b</sup>	6.81 <sup>a</sup>	6.67 <sup>b</sup>	6.75 <sup>ab</sup>	0.03

a, b, c.. Medias con distinta letra en la misma hilera son diferentes (P < 0.05)  
SNG: Sólidos no grasos.

### 5.5. Contenido de aflatoxinas totales (AFT) y AFM<sub>1</sub> en leche

El análisis de las muestras de alimentos mostró que el 100% contenían niveles de aflatoxinas totales entre 0.20 y 103 µg kg<sup>-1</sup>, observando que el 10% de las muestras presentaron niveles superiores a lo establecido por la norma mexicana (20 µg kg<sup>-1</sup>) y un 55% está por encima de lo que la Directiva 2002/32/CE señala para ganado lechero; si bien la medida anterior es más estricta, su aplicación garantiza que los límites para la AFM<sub>1</sub> no lleguen a superarse.

En el Cuadro 9. Se muestra también los valores de AFM<sub>1</sub> en leche cruda, siendo solamente el 5% de los ranchos que rebaso la norma mexicana, dichos valores oscilaron entre .010 y 0.69 µg L<sup>-1</sup>, en cuanto a la directiva de la comunidad europea (Comunidad Europea 466/2001) un 50% de las muestras exceden los límites.

**Cuadro 9. Presencia de aflatoxinas en raciones de bovinos y AFM1 en leche cruda de ranchos de la zona centro de Chiapas.**

Municipio	AFT'S Totales en la dieta $\mu\text{g kg}^{-1}$		AFM1 En la leche $\mu\text{g L}^{-1}$	
	Media	CV	Media	CV
Villaflores	27.65 <sup>a</sup>	134.20	0.34 <sup>a</sup>	62.03
Ocozocoautla	3.12 <sup>a</sup>	40.59	0.04 <sup>b</sup>	22.22
Villacorzo	11.56 <sup>a</sup>	162.27	0.09 <sup>ab</sup>	142.17
Berriozabal	2.44 <sup>a</sup>	90.33	0.03 <sup>b</sup>	66.89
<b>EEM</b>	10.29		0.063	

Límite máximo : 20  $\mu\text{g kg}^{-1}$  NOM-188-SSA1-2002 .5  $\mu\text{g L}^{-1}$  NOM-184-SSA1-2002  
a, b. Medias con distinta letra en la misma columna son diferentes (P < 0.05)

### 5.6. Contenido de aflatoxinas en los alimentos

La alimentación del ganado en la región de estudio se basa en el pastoreo y suplementación *ad libitum* del ganado durante la ordeña en la época seca principalmente, cuyas raciones están constituidas por maíz en grano, concentrados comerciales, pollinaza y desechos de la industria harinera.

**Cuadro 10. Niveles de aflatoxinas totales (AFT) en la dieta de vacas y M1 (AFM1) en leche cruda, según tipo de alimento y unidades de producción**

Tipo de alimento	% U.P.	AFT en la dieta $\mu\text{g kg}^{-1}$	AFM1 en la leche $\mu\text{g L}^{-1}$
Concentrado comercial	25	1.40	0.026
Grano	15	20.83	0.223
Pollinaza	50	15.79	0.165
Industria harinera	10	10.50	0.240
<b>EEM</b>		<b>13.04</b>	<b>0.099</b>



En el Cuadro 10., se puede observar que la base de las dietas predominante en la zona de estudio es la pollinaza, la cual es utilizada en el 50% de las unidades de producción, cuyo nivel de aflatoxinas totales es inferior a lo establecido en la norma oficial mexicana, situación que no ocurre con el grano de maíz, el cual es el principal ingrediente de las dietas contaminado con aflatoxinas, superando lo establecido en la norma oficial mexicana.

Los niveles más bajos mostrados en cuanto al tipo de dieta lo presentaron los alimentos balanceados comerciales, esto debido a que si bien el almacenaje no pudiese ser el correcto el tiempo que permanecen en la unidad de producción es muy corto.

### **5.7. Prácticas sanitarias de ordeño**

En el Cuadro 11 se muestran las ocho prácticas sanitarias más comunes realizadas en las UP durante la ordeña. La presencia de mastitis es común en las vacas lecheras de la región ( $74.7 \pm 7.1$  %), siendo más frecuente en los dos primeros estratos, debido a la falta de prevención, evidenciada por la poca importancia que el productor da a su detección ( $14.8 \pm 8.9$  %).

La prueba más común para detectar mastitis es la de California, la cual no la realiza el estrato III y únicamente la aplican el 20% y 12.5% de los estratos restantes. A pesar de lo anterior, el estrato II presenta mayor incidencia de mastitis (80%), seguido del estrato I con un 5% menos y mientras el estrato III únicamente en el 50% de las unidades de producción está presente.

En cuanto a las pruebas preventivas de lavado y secado de ubres durante la práctica de ordeña, el 50% de los estratos II y III la practican, a diferencia del estrato I que únicamente el 62% practica el lavado de ubres y un 38% de ellos también el secado de ubre. El colado de la leche se realiza el 50% en el estrato III, el estrato I un 38% y estrato II un 30%. El 100% de los estratos (I, II y III) le dan mantenimiento y lavado al equipo de ordeño, además de otra de las prácticas de prevención que es el sellado después de la ordeña.

**Cuadro 11. Prácticas sanitarias durante el ordeño de vacas Suizo Americana en las unidades de producción, según característica y estrato.**

Características	Estratos						$P_{est} \pm EE(P_{est})$
	I		II		III		
	n <sub>1</sub>	%	n <sub>2</sub>	%	n <sub>3</sub>	%	
Presencia de mastitis	6	75.0	8	80.0	1	50.0	74.7±7.1
Pruebas de mastitis	1	12.5	2	20.0	0	0	14.8±8.9
lavado y secado ubres	3	37.5	5	50.0	1	50.0	45.0±8.3
Lavado de ubres	5	62.5	5	50.0	1	50.0	55.0±8.3
Sellado después de la Ordeña	8	100.0	10	100.0	2	100.0	100±0.0
Colado de leche	3	37.5	3	30.0	1	50.0	35.2±7.9
Lavado equipo de ordeño	8	100.0	10	100.0	2	100.0	100±0.0
Mantenimiento equipo ordeño	1	100.0	10	100.0	2	100.0	100±0.0

### 5.8. Correlaciones entre variables de calidad de leche cruda

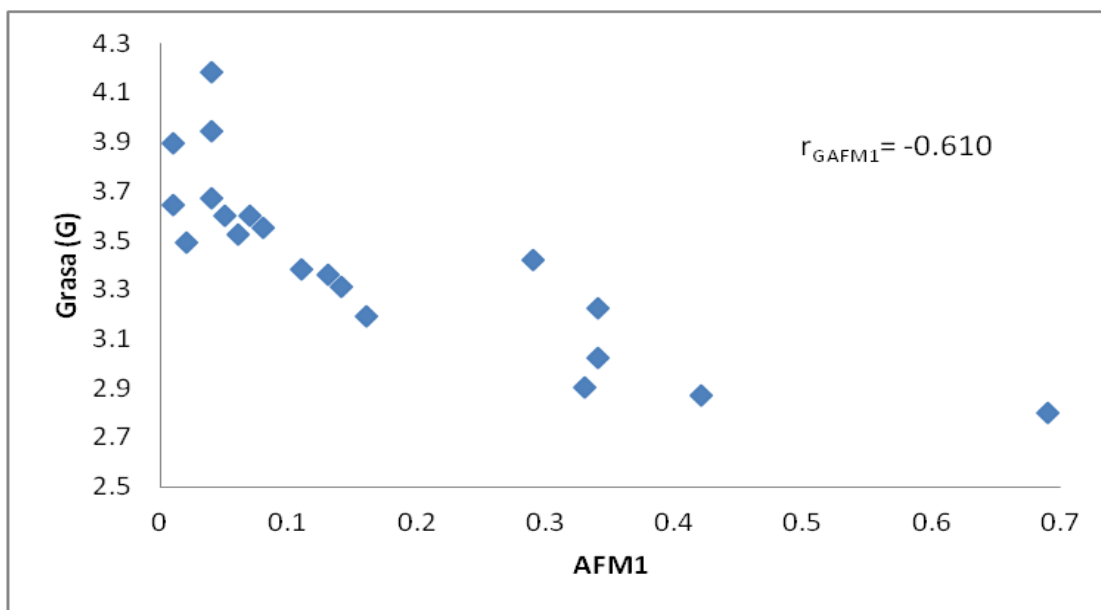
El Cuadro 12., muestra la magnitud de los coeficientes de correlación de distintos compuestos que determinan la calidad nutricional de la leche cruda. Se puede observar una alta correlación entre AFT y AFM<sub>1</sub> (r=0.85) debido a que la mayor proporción de AFT corresponden a las AFM<sub>1</sub>.

Así mismo, se observa una asociación negativa entre AFM<sub>1</sub> con grasa r= -0.61 (P<0.004), lo cual puede ser explicado por el efecto de las aflatoxinas en la movilización de grasas

**Cuadro 12. Coeficientes de correlación entre variables relacionadas con calidad de leche cruda y niveles de aflatoxinas en ranchos de Chiapas.**

	AFTOT	AFM1	GRASA	SNG	PROTEINA
AFTOT	1.00	0.85 <.001	-0.39 0.092	-0.15 0.551	-0.15 0.536
AFM1		1.00	-0.61 0.004	-0.05 0.819	-0.07 0.785
GRASA			1.00	0.08 0.730	0.11 0.652
SNG				1.00	0.99 <.001
PROTEINA					1.00

La correlación entre los sólidos no grasos y la proteína es de 99.8 % ( $P < 0.0001$ ), atribuible a que la proteína es parte de los sólidos no grasos. Las demás características presentaron correlaciones bajas, pero no significativas ( $p > 0.05$ ).



**Figura 6. Correlación entre contenido de grasa y niveles de aflatoxinas AFM<sub>1</sub> en leche cruda**

En la figura 6., se puede observar una correlación negativa entre niveles de aflatoxinas en la leche y cantidad de grasa, esto puede explicarse debido a que las aflatoxinas disminuyen la facilidad del organismo para movilizar las grasas (Perusia y Rodriguez, 2001), de ahí que es común que se observe un descenso en los niveles de grasa en leche, así como lesiones hepáticas (hígado graso) en animales afectados con aflatoxinas.

## 6. DISCUSION

Los ranchos de doble propósito de la región Centro de Chiapas, dentro del trópico mexicano, tiende a complementar la alimentación de las vacas suministrando raciones a base de granos y pollinaza, principalmente durante el estío, en el cual los pastizales escasean, evitando pérdida de condición corporal del ganado y sostener la producción de leche durante el año. Sin embargo, sus promedios de producción son inferiores a 8 kg vaca d<sup>-1</sup>, aun con ganado Suizo Pardo, debido a que las vacas no llenan sus requerimientos de materia seca y por la falta de interés del productor para introducir mejoras tecnológicas que le permitan hacer más eficiente la producción de leche, además que el bajo precio de venta de leche desincentiva al productor para intensificar la actividad.

En la región de estudio se tienen cargas animal promedio menores a 1 U.A. ha<sup>-1</sup>, indicando la ineficiencia en el aprovechamiento del pastizal, consecuencia de un sistema de manejo extensivo; este valor es inferior al informado por Carrillo et. al. (1996), quienes estimaron cargas animal de 1.7 a 1.9 U.A. ha<sup>-1</sup>, cuyas diferencias pueden ser atribuibles a un mejor manejo de potreros y mayores áreas con zacates mejorados.

Los valores de los componentes de la leche (grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos y pH), superaron a los valores establecidos por la norma mexicana de leche cruda, lo cual es atribuible a la razas y cruzas utilizadas como base de los hatos de ordeña, además, que es común en hatos del trópico, que estos niveles sean más altos. Se observó también que los valores de pH tendieron a ser alcalinos, lo cual puede estar asociado con un aumento de unidades formadoras de colonias (UFC), situación que ha sido mencionada por Célis (2009), quien indica que las UFC crecen fácilmente cuando existe un sustrato como lactosa, la cual fermentan, produciendo un ácido que hace cambiar el pH.

En la región de estudio, la base de las dietas predominante en la zona es la pollinaza, la cual es utilizada principalmente en la época seca, en la cual hay escocés de pastos, para lo cual el ganadero se prepara conservando el grano de maíz y pollinaza durante una o más estaciones del año, utilizando bodegas muchas veces improvisadas, sin proporcionar un tratamiento previo a los productos almacenados y en condiciones de temperatura y humedad relativa alta, lo cual propicia que se desarrollen hongos productores de toxinas, sin que el ganadero esté consciente del posible efecto de esta contaminación en la salud de los animales y que su secreción en la leche pueda afectar la salud de los consumidores.

El nivel de aflatoxinas totales en dietas a base de pollinaza, como fuente de proteína, se encontró por debajo de lo que marca la norma oficial mexicana, lo cual no ocurrió con los desechos de la industria harinera (maíz y trigo), que fueron los principales contaminantes de la dieta, presentando un mayor contenido de aflatoxinas totales en la dieta y de AFM1 en leche. Estudios realizados por Buccio et al. (2001) indican que la contaminación del maíz con aflatoxinas en México ocurre principalmente durante el almacenamiento. Si bien el nivel de aflatoxinas en la dieta se encuentra por debajo de lo que marca la norma, el nivel en leche fue similar al presentado por las dietas a base de grano de maíz, esto pudiese explicarse debido a que la presencia aparente de hongos está focalizada en la materia prima, la cual sufre un proceso de molienda pudiendo así disimular la presencia de aflatoxinas al momento de la muestra, no así para la presencia de las mismas en la leche, la cual se convierte en una mezcla homogénea en el tanque enfriador que las encubre. Los valores estimados de aflatoxinas son muy superiores a los reportados por Reyes et al (2008) y Landeros et al (2012). Los resultados por municipio para AFT coinciden con lo que reporta Toral (2010) el cual también reporta a el municipio de Tepatitlan, Jalisco en niveles por encima de la norma (22.04  $\mu\text{g kg}^{-1}$ ).

La estimación de AFM1 en la leche fue inferior al presentado por Gutierrez (2013) quien señala un 23.3% de las muestras estudiadas superaron la norma. En este estudio, el 5 % de los ranchos rebasaron la norma, aunque el 100 % mostró

contaminación con AFM<sub>1</sub> en leche lo que concuerda con Landeros et al (2012), con valores que van de .010 a 0.69 µg L<sup>-1</sup>. en cuanto a la directiva de la comunidad europea (Comunidad Europea 466/2001) un 50% de las muestras exceden los límites. Las evidencias encontradas son superiores a las encontradas por otros investigadores, debido probablemente a las condiciones climáticas más severas del trópico mexicano, así como a un deficiente almacenamiento de los alimentos que favorece el desarrollo de micotoxinas, aunado a una menor tecnificación de las explotaciones lecheras.

Al analizar el desarrollo del hato, los datos de vacas de vientre y número de pariciones permiten estimar tasas de parición del 63%, 63.6% y 65 % respectivamente, las cuales son bajas, pero similares a las reportadas por Menocal et. al.(1992), en condiciones de trópico, indicando que poco se ha hecho en la última mitad del siglo pasado para mejorar la eficiencia reproductiva de los hatos.

Se encontró una correlación negativa entre grasas y AFM<sub>1</sub> lo cual difiere de Toral (2010), quien indica no haber encontrado relación entre AFM<sub>1</sub> y grasa en la leche, esto puede explicarse debido a que las aflatoxinas disminuyen la facilidad del organismo para movilizar las grasas (Perusia y Rodriguez, 2001), de ahí que se observe un descenso en los niveles de grasa en leche, así como lesiones hepáticas (hígado graso) en animales afectados con aflatoxinas.

## 7. CONCLUSIONES

La calidad nutricional de leche cruda, evaluada a través de la proporción de SNG, proteína y grasa, se encuentran dentro de la norma mexicana de producción de leche, pero los niveles de lactosa variaron entre municipios y superan lo establecido en la norma, consecuencia de una alimentación con alto contenido de granos, lo que ocasionó un pH ligeramente ácido.

Las raciones usadas para complementar la alimentación del ganado, principalmente en época de escasos de forrajes, se encuentran constituidas principalmente por pollinaza y maíz en grano.

Existió una prevalencia promedio baja de AFM1 en leche cruda, sin embargo, algunos ranchos de los municipios de Villaflores y Villacorzo presentaron niveles altos, lo cual constituye un problema de salud pública que debe atenderse a corto plazo. Además estos niveles estuvieron relacionados con alimentación a base de granos.



## 8. LITERATURA CITADA

Abbas, H.K., Wilkinson, J.R., Zablutowicz, R.M., Accinelli, C., Abel, C.A., Bruns, H.A., Weaver, M.A. (2009). Ecology of *Aspergillus flavus*, regulation of aflatoxin production, and management strategies to reduce aflatoxina contamination of corn. *Toxin Reviews*, 28(2-3), 142-153.

Abdel-Wahhab, M.A., Abdel-Galil, M.M., Hassan, A.M., Hassan, N.H., Nada, S.A., Saeed, A., El-Sayed, M.M. (2007). Zizyphus spina-christi extract protects against aflatoxin B1-initiated hepatic carcinogenicity. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 4, 248-256.

Advanced Instruments, Inc. 1993. Milk Cryoscopy News. Guide Usuary Massachussets, USA. Pp 1-6.

Alais, Ch. 1970. Ciencia de la leche, principios de técnica lechera. Decima reimpresión, 1996. Compañía editorial Continental. México, 1996. Pp 31-117, 241-401.

Allcroft, R., Carnaghan, R.B.A. (1963). Groundnut toxicity: An examination for toxin in human food products from animals fed toxic groundnut meal. *Veterinary Record*, 75, 259-263.

Alonso, B.G., (2004). Factores que influyen en la calidad de leche cruda producida en granjas bovinas semiespecializadas en el sur del DF. Tesis. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de Mexico.

Ávila, T. S, Gutiérrez, Ch. A., Sánchez, G. J. y Canizal, J. E. 2002. Comparación del estado de salud de la ubre y la calidad sanitaria de la leche de vacas ordeñadas manual o mecánicamente. *Veterinaria México*. 2002; Vol. 33(4):387-394

Azziz-Baumgartner, E., Lindblade, K., Giesecker, K., Rogers, H.S., Kieszak, S., Njapau, H., Schleicher, R., McCoy, L.F., Misore, A., DeCock, K., Rubin, C., Slutsker, L. (2005). Aflatoxin Investigative Group. Case control study of an acute aflatoxicosis outbreak, Kenya. *Environmental Health Perspectives*, 113, 1779-1783.

Bakutis, B., Baliukoniene, V., Paškevičius, A. (2005). Use of biological method for detoxification of mycotoxins. *Botanica Lithuanica*, 7, 123-129.

Bata, Á., Lásztity, R. (1999). Detoxification of mycotoxin-contaminated food and feed by microorganisms. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 223- 228.

Battacone, G., Nudda, A., Cannas, A., Cappio, Borlino, A., Bomboi, G., Pulina, G. (2003). Excretion of aflatoxin M1 in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin B1. *Journal of Dairy Science*, 86, 2667-2675.

Bennett, J.W., Klich, M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(3), 497-516.

Bhat, R., Rai, R.V., Karim, A.A. (2010). Mycotoxins in food and feed: Present status and future concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 57-81.

Bhat, R.V., Vasanthi, S. (2003). Mycotoxin food safety risk in developing countries, *Focus 2003*, 10, brief 3, International Food Policy Research Institute, Washington, USA.

Blout, W.P. (1961). Turkey "X" disease. *Turkeys*, 9(52), 55-58, 61, 77.

Boudra, H., Barnouin, J., Dragacci, S., Morgavi, D.P. (2007). Aflatoxin M1 and ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 90, 3197-3201.

Brown, R.L., Chen, Z.-Y., Menkir, A., Cleveland, T.E. (2003). Using biotechnology to enhance host resistance to aflatoxin contamination of corn. *African Journal of Biotechnology*, 2(12), 557-562.

Brown, R.L., Chen, Z.-Y., Cleveland, T.E., Russin, J.S. (1999). Advances in the development of host resistance in corn to aflatoxin contamination by *Aspergillus flavus*. *Phytopathology*, 89, 113-117.

Bucio-Villalobos CM, Guzmán-de-Peña D, Peña-Cabriales JJ. (2001) Aflatoxin synthesis in corn fields in Guanajuato, Mexico. *Revista Iberoamericana de Micología*; Vol.18 : 83-87.

Bullerman, L.B., Schroeder, L.L., Park, K.Y. (1984). Formation and control of mycotoxins in food. *Journal of Food Protection*, 47, 637-46.

Carrillo, J.Sciotti, A. E. Odriozola, E. Marino M.A. y Schiersmann, G.C.S. 1996. Reserva 6: un sistema de producción de cría vacuna sostenible a través de 30 años. *Revista Argentina de Producción Animal*. 16, Sup.1, 29.

Castells, M., Marín, S., Sanchis, V., Ramos, A.J. (2005). Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: A review. *Food Additives and Contaminants*, 22(2), 150-157.

Celis M., Juarez D.,(2009). *Microbiología de la leche*. Universidad Tecnológica Nacional, Buenos Aires, Argentina. Pp. 21

Chang, G.D., (2009). Estudio del uso de la pollinaza en vacas en pastoreo en el centro de Chiapas. Tesis, Universidad Autónoma de Chapingo, Mexico.

Comisión del Codex Alimentarius. (2001). Observaciones sobre el proyecto de nivel máximo para la aflatoxina M1 en la leche. Informe de la 33ª reunión del Comité del

Codex sobre aditivos alimentarios y contaminantes de los alimentos, La Haya, Países Bajos.

Comisión Europea. (2002). Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 7 de mayo de 2002 sobre sustancias indeseables en la alimentación. Diario Oficial de las Comunidades Europeas, L140, 10-21.

Comisión Europea. (2003). Directiva 2003/100/CE de la Comisión de 31 de octubre de 2003, por la que se modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre sustancias indeseables en la alimentación. Diario Oficial de la Unión Europea, L285, 33- 37.

Comisión Europea. (2003). Reglamento N° 2174/2003 de la Comisión de 12 de diciembre de 2003, que modifica el Reglamento (CE) N° 466/2001 sobre aflatoxinas. Diario Oficial de la Unión Europea, L326, 12-15.

Cotty, P.J., Jaime-García, R. (2007). Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *International Journal of Food Microbiology*, 119, 109-115.

Cupid, B.C., Lightfoot, T.J., Russel, D., Gant, S.J., Turner, P.C., Dingley, K.H., Curtis, .D., Leveson, S.H., Turteltaub, K.W., Garner, R.C. (2004). The formation of AFB1-macromolecular adducts in rat and human at dietary levels of exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 559-569.

D' Mello, J.P.F., Macdonald, A.M.C. (1997). Mycotoxins. *Animal Feed Science and Technology*, 69, 155-166.

De longh, H., Vles, R.O., Van Pelt, G.J. (1964). Milk of mammals fed an aflatoxin-containing diet. *Nature*, 202, 466.

Decastelli, L., Lai, J., Gramaglia, M., Monaco, A., Nachtmann, C., Oldano, F., Ruffier, M., Sezian, A., Banderola, C. (2007). Aflatoxins occurrence in milk and feed in Northern Italy during 2004-2005. *Food Control*, 18, 1263-1266.

Di Natale, F., Gallo, M., Nigro, R. (2009). Adsorbents selection for aflatoxins removal in bovine milks. *Journal of Food Engineering*, 95, 186-191.

Díaz, D.E., Hagler, W.M., Blackwelder, J.T., Eve, J.A., Hopkins, B.A., Anderson, K.L., Jones, F.T., Whitlow, L.W. (2004). Aflatoxin binders II: Reduction of aflatoxin M1 in milk by sequestering agents of cows consuming aflatoxin in feed. *Mycopathologia*, 157(2), 233-241.

Driehuis, F., Te Giffel, M.C., van Egmond, H.P., Fremy, J.M., Blüthgen, A. (2010). Feed-associated mycotoxins in the dairy chain: occurrence and control. In: *Bulletin of the International Dairy Federation 444/2010*. Bruselas (Bélgica). 25 pp.

EFSA, European Food Safety Authority. (2009). Review of mycotoxindetoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety. CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01.

El-Nezami, H., Kankaanpaa, P., Salminen, S., Ahokas, J. (1998). Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1. Food and Chemical Toxicology, 36, 321-326.

FAO, Food and Agriculture Organization. (2004). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Estudio FAO: Alimentación y Nutrición 81. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma (Italia).

FAO, Food and Agriculture Organization. (2009). Seminario: Impacto de las micotoxinas en la inocuidad y comercio de los alimentos, Santiago (Chile).

FAO, Food and Agriculture Organization. (2010). <http://www.fao.org/docrep/012/ak349s/ak349s00.pdf> (datos consultados en 2013).

FAO-OMS. 1992. Protección de los consumidores mediante el mejoramiento de la calidad inocuidad de los alimentos. FAO/OMS. Documento: PREPCOM/ICN/921NF/7. Roma. S/p.

FAO-WHO-UNEP. (1977). Global perspective on mycotoxins. MYC Document of 4th Conference on Mycotoxins. Nairobi, Kenya, 19-27 September.

Fink-Gremmels, J. (2008). Mycotoxins in cattle feeds and carry-over to dairy milk: A review. Food Additives and Contaminants, 25(2), 172-180.

Galvano, F., Galofaro, V., Galvano, G. (1996). Occurrence and stability of aflatoxin M1 in milk and milk products: a worldwide review. Journal of Food Protection, 59(10), 1079-1090.

Galvano, F., Galofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., De Angelis, A., Galvano, G. (2001). Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. Food Additives and Contaminants, 18(7), 644-646.

Gimeno, A. (2002). Los hongos y las micotoxinas en la alimentación animal; conceptos, problemas, control y recomendaciones. <http://www.engormix.com/MA-micotoxinas/articulos/los-hongosmicotoxinas-alimentacion-t362/p0.htm>.

Gimeno, A., Martins, M.L. (2006). Mycotoxins and Mycotoxicosis in Animals and Humans. Special Nutrients, Inc. USA (Ed.). Victor Mireles Communications, Ciudad de México, México, 127 pp.

Giorni, P., Battilani, P., Pietri, A., Magan, N. (2008). Effect of aw and CO<sub>2</sub> level on *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production in high moisture maize post-harvest. *International Journal of Food Microbiology*, 122(1-2), 109-113.

Gratz, S., Wu, Q.K., El-Nezami, H., Juvonen, R.O., Mykkänen, H., Turner, P.C. (2007). *Lactobacillus rhamnosus* strain GG reduces aflatoxin B<sub>1</sub> transport, metabolism, and toxicity in caco-2 cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 3958-3964.

Guajardo, G. E. 1996. Administración de la calidad total. En Martínez, B. E. , Álvarez, M. A., García, H. L., Del Valle, M. C. (coords.). *Dinámica del Sistema Lechero Mexicano en el Marco Regional y Global*. Plaza y Valdés S.A de C.V. Primera edición 183p. México. 104 – 105p.

Gutierrez R., Vega S., Perez J., Ruiz J., Yamazaki A., Rivera J., Urban G., Escobar A. (2013) Evaluación de aflatoxina M<sub>1</sub> en leche orgánica producida en Tecpatan, Chiapas, México. *Revista de Salud Animal*. 35 (1): 33-37

Hayes, A. W. (1980). Mycotoxins: a review of biological effects and their role in human diseases. *Clinical Toxicology*, 17, 45-83.

Hesseltine, C.W. (1976). Conditions leading to mycotoxin contamination of foods and feeds. In: *Mycotoxins and other fungal related food problems*, J.V. Rodricks (Ed.), American Chemical Society: USA, pp. 1-22.

Hussein, H. S., Brasel, J. M. (2001) Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxin on humans and animals. *Toxicology*; (167), 101-134.

Hsieh, D. (1988). Potential human health hazards of mycotoxins, p. 69–80. In: *Mycotoxins and phytotoxins*, S. Natori, K. Hashimoto, and Y. Ueno (Eds.), Third Joint Food and Agriculture Organization/W.H.O./United Nations. Program International Conference of Mycotoxins. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.

INEGI. 1991. Censo Agrícola y Ganadero

International Agency for Research on Cancer (IARC) (2002). Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. In: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Human*, Vol. 82, Lyon, Francia.

JECFA. (2001). Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 56<sup>th</sup> Meeting, Geneva, 6-15 February 2001.

Jensen G. R. 1995. Handbook of milk composition. Academic Press. San Diego California, USA. Pp. 87-96, 260- 267.

Josephs, R.D., Ulberth, F., Egmond van, H.P., Emons, H. (2005). Aflatoxin M1 in milk powder: Processing, homogeneity and stability testing of certified reference materials. *Food Additives and Contaminants*, 22(9), 864-874.

Kamkar, A. (2005). A study on the occurrence of aflatoxin M1 in raw milk produced in Sarab city of Iran. *Food Control*, 16, 593-599.

Kensler, T.W., Qian, G.-S., Chen, J.-G., Groopman, J.D. (2003). Molecular pathway of aflatoxin detoxification. *Nature Reviews Cancer*, 3, 321-329.

Kiessling, K.-H., Pettersson, H., Sandholm, K., Olsen, M. (1984). Metabolism of aflatoxin, ochratoxin, zearalenone, and three trichothecenes by intact rumen fluid, rumen protozoa, and rumen bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 47(5), 1070-1073.

Klich, M.A.; Mullaney, E.J.; Daly, C.B. & Cary, J.W. (2000). Molecular and physiological aspects of aflatoxin and sterigmatocystin biosynthesis by *Aspergillus tamaris* and *A. ochraceoroseus*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53(5), 605-609.

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 Salud Animal*. 34(1):40-45

Lafont, P., Siriwardana, M., Lafont, J. (1989). Genotoxicity of hydroxy-aflatoxins M1 and M4. *Microbiologie Aliments Nutrition*, 7, 1-8.

Lillehoj, E.B., Ciegler, A., Hall, H.H. (1967). Aflatoxin B1 uptake by *Flavobacterium Aurantiacum* and resulting toxic effects. *Journal of Bacteriology*, 93, 464-475.

Liu, D.L., Yao, D.S., Liang, Y.Q., Zhou, T.H., Song, Y.P., Zhao, L., Ma, L. (2001). Production, purification and characterization of an intracellular aflatoxin detoxifying enzyme from *Armillariella tabescens* (E-20). *Food and Chemical Toxicology*, 39, 461-466.

Menocal, S. E.; Dávalos, J. L.; Aluja, A. y Álvarez, M. A. 1992. Diagnóstico y estrategias de desarrollo de la producción bovina lechera en la región Veracruz centro. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua y Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F. 108 pp.

McKenzie, K.S., Sarr, A., Mayura, K., Bailey, R.H., Miller, D.R., Rogers, T.D., Norred, W.P., Voss, K.A., Plattner, R.D., Phillips, T.D. (1997). Chemical degradation of diverse mycotoxins using a novel method of ozone production. *Food and Chemical Toxicology*, 35, 807-20.

Moreno, O.J., Kang, M.S. (1999). Aflatoxins in maize: The problem and genetic solutions. *Plant Breeding*, 118, 1-16.

Moss, M.O. (2002). Mycotoxin review-1. *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologist*, 16(3), 116-119.

Nakazato, M., Morozumi, S., Saito, K., Fujinuma, K., Nishima, T., Kasai, N. (1990). Interconversion of aflatoxin B1 and aflatoxicol by several fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 1465-1470.

NMX-F-712- COFOCALEC-2005 sistema producto leche - alimentos – lácteos – Determinación de aflatoxina M1 en leche fluida por cromatografía de líquidos de alta resolución - método de prueba.

NMX-F-718-COFOCALEC-2006 sistema producto leche - alimentos – lácteos – Guía para el muestreo de leche y productos lácteos.

Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Prefacio 2002.

Nuryono, N., Agus, A., Wedhastri, S., Maryudani, Y.B., Sigit, F.M.C., Böhm, J., Razzazi-Fazeli, E. (2009). A limited survey of aflatoxin M1 in milk from Indonesia by ELISA. *Food Control*, 20, 721-724.

Ortíz, A. 2004. Evaluación de desechos de las industrias cafetalera y azucarera como camas avícolas en Guantánamo y su aprovechamiento en la alimentación de ovinos. Tesis presentada en opción al Grado Científico en Ciencias Veterinarias. Instituto de Ciencia Animal. (ICA). La Habana.

Park, D.L., Liang, B. (1993). Perspectives on aflatoxin control for human food and animal feed. *Trends in Food Science and Technology*, 4, 334-342.

Patterson, D.S.P. (1973). Metabolism as a factor in determining the toxic action of the aflatoxins in different animal species. *Food and Cosmetics Toxicology*, 11, 287-294.

Peraica, M., Domijan, A.-M., Jurjević, Ž., Cvjetković, B. (2002). Prevention of exposure to Mycotoxins from food and feed. *Arhiv za Higijenu Rada I Toksikologiju*, 53, 229-237.

Pinto, M., Vega, S., Pérez, N. 1996. Métodos de análisis de la leche y derivados – Garantía de calidad- UACH-UAM-X. Valdivia, Chile. Pp 100-128.

Pitt, J.I. (2000). Toxigenic fungi: which are important? *Medical Mycology*, 38(Suppl.1), 17-22.

Pittet, A. (2001). Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds: a decade in review. In: *Mycotoxins and phycotoxins in perspective at the turn of the millennium*, de Koe, W.J., Samson, R.A., van Egmond, H.P., Gilbert, J., Sabino, M. (Eds.), Wageningen: W. J. de Koe, pp 153-172.

PROY-NMX-F-700-COFOCALEC-2012 sistema producto leche - alimento – lácteo – leche cruda de vaca – especificaciones fisicoquímicas, sanitarias y métodos de prueba.

Reyes W, Patricio S, Isaías V, Nathal 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 México*. 47(2): 223-230.

Ribeiro, J.M.M., Cavaglieri, L.R., Fraga, M.E., Direito, G.M., Dalcero, A.M., Rosa, C.A.R. (2006). Influence of water activity, temperature and time on mycotoxins production on barley rootlets. *Letters in Applied Microbiology*, 42, 179-184.

Richard, J.L., Payne, G.A. (2003). *Mycotoxins: Risks in plant and animal systems*. Council for Agricultural Science and Technology.

Rodríguez, M.L., Calonge M.M., Ordóñez, D. (2003). ELISA and HPLC determination of the occurrence of aflatoxin M1 in raw cow's milk. *Food Additives and Contaminants*, 20, 276-280.

Roussi, V., Govaris, A., Varagouli, A., Botsoglou, N.A. (2002). Occurrence of aflatoxin M1 in raw and market milk commercialized in Greece. *Food Additives and Contaminants*, 19, 863-868.

Rustom, I.Y.S. (1997). Aflatoxin in food and feed: occurrence, legislation and inactivation by physical methods. *Food Chemistry*, 59(1), 57-67.

SAS. 2007.SAS/STAT User's Guide: Statistics, Version 9.3. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA

Santin, E., Paulillo, A.C., Krabbe, E.L., Alessi, A.C., Polveiro, W.J.C., Maiorka, A. (2003). Low level of aflatoxin in broiler at experimental conditions. Use of cell wall yeast as adsorbent of aflatoxin. *Archives of Veterinary Sciences*, 8, 51-55.

Scott, P.M. (1998). Industrial and farm detoxification processes for mycotoxins. *Veterinary Medical Review*, 149, 543-548.

Sengun, I.Y., Yaman, D.B., Gonul, S.A. (2008). Mycotoxins and mould contamination in cheese: a review. *World Mycotoxin Journal*, 1(3), 291-298.

Sforza, S., Dall'Asta, C., Marchelli, R. (2005). Recent advances in mycotoxin determination in food and feed by hyphenated chromatographic techniques/mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews*, 25, 54-76.



Sherif, S.O., Salama, E.E., Abdel-Wahhab, M.A. (2009). Mycotoxins and child health: The need for health risk assessment. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 212, 347-368.

Smiley, R.D., Draughon, F.A. (2000). Preliminary evidence that degradation of aflatoxin B1 by *Flavobacterium aurantiacum* is enzymatic. *Journal of Food Protection*, 63(3), 415-418.

Soriano del Castillo, J.M. et al. (2007). *Micotoxinas en Alimentos*. Ediciones Díaz de Santos (Ed.), España, 396 pp.

Steel, R. G. y J. H. Torrie. 1988. *Bioestadística. Principios y procedimientos*. McGraw-Hill, New York, USA.

Steyn, P.S. (1995). Mycotoxins, general view, chemistry and structure. *Toxicology Letters*, 82/83, 843-851.

Stoloff, L., Truckness, M., Hardin, N., Francis, O.J., Hayes, J.R., Polan, C.E., Campbell, T.C. (1975). Stability of aflatoxins M1 in milk. *Journal of Dairy Science*, 58, 1789-1793.

Sukhatme, P. V. y Sukhatme, B. V. 1970. *Sampling theory of surveys with application*. ISU Press. Ames, Iowa. 452 p.

Sweeney, M.J., Dobson, A.D.W. (1998). Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 43, 141-158.

Thomson, C., Henke, S.E. (2000). Effects of climate and type of storage container on aflatoxin production in corn and its associated risks to wildlife species. *Journal of Wildlife Diseases*, 36, 172-179.

Toral, F. A., (2010). *Evaluación de la contaminación por aflatoxinas en alimentos para bovinos y aflatoxinas M<sub>1</sub> en leche cruda y quesos producidos en la región Altos y Ciénega, Jalisco*. Tesis. Universidad de Guadalajara, Zapopan, Jalisco.

Turner, N.W., Subrahmanyam, S., Piletsky, S.A. (2009). Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*, 632, 168- 180.

U.S. FDA, United States Food and Drug Administration. (2000). [http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ChemicalContaminantsandPesticides/ucm077969.htm#afla\(datos](http://www.fda.gov/Food/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/GuidanceDocuments/ChemicalContaminantsandPesticides/ucm077969.htm#afla(datos) consultados en 2013).

Valdivié, M. & Ortiz, A. 2003. *Camas Avícolas en Cuba: yacimientos y fuentes*. Editorial el Mar y la Montaña. Guantánamo, Cuba. Mayo. 74 p.

Van Egmond, H.P., Schothorst, R.C., Jonker, M.A. (2007). Regulations relating to mycotoxins in food. Perspectives in a global and European context. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389, 147-157.

Vardon, P., McLaughlin, C. and Nardinelli, C. (2003). Potential economic costs of mycotoxins in the United States. In: *Mycotoxins: risks in plant, animal, and human Systems*, Richard, J.L., Payne, G.A. (Eds.). Task Force Report No. 139. Council for Agricultural Science and Technology (CAST), Ames, IA, USA, pp. 136-142.

Vega S. et al. 1996. Caracterización del patrón de triglicéridos en leches pasteurizadas y margarinas comercializadas en la ciudad de México. III Taller Internacional sobre calidad de la leche. UACH-ICYTAL. Valdivia, Chile. Memorias. Pp96.

Veldman, A., Meijst, J.A.C., Borgrevve, G.J., Heeres-van Tol, J.J. (1992). Carry over of Aflatoxin from cows' food to milk. *Animal Production*, 55, 163-168.

Vincelli, P., Parker, G., McNeill, S. (1995). Aflatoxins in corn. Cooperative Extension Service, University of Kentucky, College of Agriculture, Kentucky, USA, pp. 1-9.

WHO, World Health Organization. (2002). Evaluation of certain mycotoxins in food. Fifty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 906. Geneva, pp. 1-62.

Williams, J., Phillips, D.T., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M., Aggaewal, 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.

Wogan, G.N. (1966). Chemical nature and biological effects of the aflatoxins. *Bacteriological Reviews*, 30(2), 460-470.

Wu, Q.K., Jezkova, A., Yuan, Z., Pavlikova, L., Dohnal, V., Kuca, K. (2009). Biological degradation of aflatoxins. *Drug Metabolism Reviews*, 41(1), 1-7.

Yousef, A.E., Marth, E.H. (1989). Stability and degradation of aflatoxin M1. In: *Mycotoxins in dairy products*, Hans P. van Egmond (Ed.), Elsevier Science Publishing Co, INC, New York, USA, pp. 127-161.

## **ANEXO A**

### **Encuesta aplicada los productores**

## CUESTIONARIO PARA LA EVALUACION DE LA TECNOLOGIA UTILIZADA EN LA PRODUCCION DE LECHE E IDENTIFICACIÓN DE LOS FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CALIDAD DE LA LECHE.

El presente cuestionario tiene como objetivo obtener información de la ganadería lechera en la zona centro del estado de Chiapas, para definir las estrategias de manejo del ganado, equipo e instalaciones que permitan producir leche de calidad. La información proporcionada será utilizada única y exclusivamente con fines de estudio, por lo que será **ABSOLUTAMENTE CONFIDENCIAL**.

La Programa de Ganadería del **Colegio de Postgraduados** agradece a usted su colaboración en la realización del presente proyecto.

Nombre: \_\_\_\_\_

Domicilio (nombre del rancho, ubicación): \_\_\_\_\_

1.- ¿Número de animales?

Clase	No	%
a) vacas en producción		
b) vacas secas y horras		
c) vaquillas (Novillas cargadas)		
d) Novillas (hembras de 7 a dos años)		
f) Beceros		
g) Becerras ( de 1 día hasta el destete)		
Toretas (después del destete)		
h) No. Sementales		
i) Total		

2.- Superficie \_\_\_\_\_ hectáreas

3.- ¿Lleva algún registro de su ganado? Si ( ) No ( )

- ¿Cuál? \_\_\_\_\_
- ¿Por qué? \_\_\_\_\_

4.- ¿Usted se prepara para la época de seca? Si ( ) No ( )

¿Cómo? \_\_\_\_\_

5.- ¿Cual es la duración de la lactancia? \_\_\_\_\_

5.- ¿Cuál es la duración de la lactancia? \_\_\_\_\_

6.- ¿Cuál es la producción de leche en el día? \_\_\_\_\_

7.- Número de ordeñas en el día: \_\_\_\_\_

8.- En su rejeguería cría sus propios reemplazos: Si ( ) No ( )

Vacas ( ) Sementales ( )

9.- ¿De dónde provienen sus sementales?

Unidad de producción ( ) Compra a productores de otra región ( )

Compra a productores de la misma región ( )

10.- ¿Cuántas vacas provenientes de fuera incorporo a su hato en el último año?

\_\_\_\_\_

11.- ¿Cuál es el valor actual de la leche? \_\_\_\_\_

12.- ¿Cuales son las características que está tratando de mejorar genéticamente en su hato?

- Peso al nacer  Peso al destete  Ganancia post destete
- Producción de leche  Largo de lactancia  Ninguna
- Otro: \_\_\_\_\_

13.- ¿Cada cuanto cambia sus sementales?

\_\_\_\_\_

14.- ¿Ha incrementado su producción de leche con la compra de nuevos sementales adquiridos en el programa ganado mejor? Si ( ) No ( )

15.- ¿Qué animales reciben suplementación alimenticia y en qué época?

Característica	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Semental												
Vacas en producción												
Vacas secas o horras												
Becerras												
Todo el hato												
Otro												

16.- ¿Qué animales reciben suplementación mineral y en qué época?

Característica	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Semental												
Vacas en producción												
Vacas secas o horas												
Becerras												
Todo el hato												
Otro												

17.- ¿con que ingredientes está constituida su dieta? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

18.- ¿Cuál es el costo en Kg. O Toneladas de estos ingredientes? \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

19.- ¿Conoce usted el contenido nutricional de su dieta? Si ( ) No ( )

20.- ¿conoce los requerimiento nutricionales de sus vacas? Si ( ) No ( )

21.- ¿Qué cantidad de alimento le proporciona diario a sus vacas?

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

22.- ¿Tiene problemas de mastitis? Si ( ) No ( )

23.- ¿Realiza pruebas de mastitis? Si ( ) No ( )

24.- ¿Como previene la mastitis? \_\_\_\_\_

25.- ¿Qué tratamiento utiliza? \_\_\_\_\_

26.- ¿Qué hace con la leche de las vacas con mastitis? \_\_\_\_\_

27.- ¿Lleva registros de producción de leche de su hato? Si ( ) No ( )

Por vaca  Por dia  por ordeña

28.- ¿cada cuánto mide la producción de sus vacas? \_\_\_\_\_

29.- ¿Cuál es el destino de su producción?

- Venta a boteros  Sale a venderlo a menudeo  Venta al menudeo en la explotación  Venta al mayoreo en la explotación (quesero, lactoindustria)  La procesa

30.- ¿Que controles lleva la lacto industria a la que usted le vende la leche?

- Acidez  Antibióticos  Grasas  Otros:

31.-¿ Cuánto tiempo tarda en llegar la leche al comprador desde que se ordeña? \_\_\_\_\_

32.- ¿Donde se almacena la leche en este tiempo?

- Bote de plástico  Bote de acero  Cubeta
- Tanque de acero inoxidable (enfriador)  Tambos de plástico  Otro:

33.- ¿ Alguna vez ha solicitado que le apliquen una prueba a la leche que produce en sus establo?

Si ( ) No ( ) Cuales: químicas  físicas  bacteriológicas  Otras:

34.- ¿Cómo se transporta la leche por parte de la lacto industria? \_\_\_\_\_

35.- ¿ Cual es el sitio de ordeño? Corral  Potrero  Otro:

36.- ¿Lava el sitio de ordeño? Si ( ) No ( )

37.- ¿Qué manejo le da a las ubres de las vacas al momento de ordeñarlas?

1	Ninguna	
2	Solo limpia con una toalla o trapo	
3	Lavan con agua limpia y secan	
4	Limpia, lavan y seca las ubres con la misma agua y con la misma toalla	
5	Limpia, lavan y seca las ubres con agua cambiada y con una misma toalla	
6	Limpia, lavan y seca las ubres con agua cambiada y con diferentes toallas	
7	Lavan con agua mas desinfectante y secan con toallas desechables	

38.- ¿Utiliza selladores después de la ordeña? Si ( ) No ( )

39.- ¿Tipo de ordeño en el hato? Manual  Mecánico  Ambos

40.- ¿Utiliza el becerro en la ordeña? Si ( ) No ( )

41.-¿La leche se cuele durante la ordeña? Si ( ) No ( )

Tela  Papel  Maya plástica  Otros:

42.- ¿Enfría la leche después del ordeño? Si ( ) No ( )

43.- ¿Qué practica de higiene implementa con los utensilios y botes que utiliza durante la ordeña y para el almacenaje?\_\_\_\_\_

44.- ¿Cada cuanto realiza estas prácticas?\_\_\_\_\_

45.-Si lava, limpia o desinfecta ¿Con que producto lo hace?\_\_\_\_\_

46.- ¿Le da mantenimiento al equipo de ordeña? Si ( ) No ( )

- Cada cuanto:

47.-¿De donde proviene el agua que utiliza en la explotación?\_\_\_\_\_