

ESTUDIO TOXICOLOGICO DE PRESENCIA DE AFLATOXINA M1 EN LECHE BOVINA RECOLECTADA DEL MUNICIPIO DE ACHACACHI

¹B. Virginia Montaña P. ¹, Ignacio Chirico M. y ²Romulo Gemio

¹Facultad de Agronomía UMSA, ² Instituto de Investigaciones Química UMSA

Autor correspondiente: rgemio1@gmail.com

Key words: Toxicología, aflatoxina, leche bovina, Bolivia

ABSTRACT

The aflatoxin M1 in the milk as a secondary metabolite of the mycotoxin B1 that is developed in the forages-This mycotoxin B1 suffers a biomagnification ending excreted in the milk like M1. It is a latent danger being cancerogenic, hepatotoxic and immunosuppressive causing sharp and chronic type intoxications in animals and humans. It attempts against food biosecurity. Present work was analyzed by the chromatographic method 20 samples of five communities (Irama Belén, Chijipina grande, Taramaya, Jauirlaca, Chauira pampa) belonging to the Municipality of Achacachi, in two epochs: In humid time (April, May) and dry time (September, August). Of the 20 samples, 5 gave positive with concentration levels above the allowed 0.05ppb limits, 4 of them in humid time belonged to the communities of: Irama Belén, Chijipina grande, Jauirlaca, Chauira pampa with concentration levels of AFM1 of: 0.18, 0.12, 0.089, 0.077ppb respectively and in dry time: 1 sample, Irama Belén with 0.05ppb, Taramaya doesn't report presence of AFM1. The evaluated factor that influence in the presence of contamination with aflatoxin M1 in bovine milk was the temperature of the milk. Not having significance the factors like %HR neither the pH of the milk. Both these last two factors end up being conditionings for the contamination with aflatoxin M1 in the milk but in a first stage that is the contamination of the food or forrage with mycotoxin B1 that will be excreted as aflatoxin M1 in the milk.

RESUMEN

El presente trabajo analiza por el método cromatográfico 20 muestras de cinco comunidades (Irama belén, Chijipina grande, Taramaya, Jauirlaca, Chauira pampa) pertenecientes al

Municipio de Achacachi, en dos épocas: húmeda (abril, mayo) y época seca (agosto, septiembre). De las 20 muestras, 5 resultaron positivas con niveles de concentración por encima del límite permisible 0.05ppb, 4 de ellas en época húmeda pertenecían a las comunidades de: Irama belén, Chijipina grande, Jauirlaca, Chauira pampa con niveles de concentración de AFM1 de: 0.18, 0.12, 0.089, 0.077 ppb respectivamente y en época seca: 1 muestra, Irama belén con 0.05ppb, Taramaya no reporto presencia de AFM1. El factor evaluado que influyó en la presencia de contaminación con aflatoxina M1 en leche bovina fue la temperatura de la leche. No teniendo significancia los factores de %HR como tampoco el pH de la leche. Ambos últimos factores llegan a constituirse en condicionantes para la contaminación con aflatoxina M1 en la leche pero en una primera etapa que es la contaminación del alimento o pienso con la micotoxina B1 que será excretada como aflatoxina M1 en la leche.

INTRODUCCIÓN

La producción lechera en el altiplano boliviano como estrategia prioritaria de la economía de subsistencia y de la seguridad alimentaria se ve seriamente comprometida por las condiciones climáticas adversas, calidad y almacenamiento del forraje, alojamiento del ganado bovino.

La inocuidad de la leche se ve afectada, por el forraje que se alimenta el ganado que esta contaminado o enmohecido, proliferación de hongos del género *Aspergillus flavus* que producen la Aflatoxina B1 (AFB1). Al ingerir las vacas lecheras estos alimentos o raciones contaminadas con AFB1 en el organismo del animal sufre una biomagnificación, producto del metabolismo animal, generando la denominada AFM1 objeto de estudio del presente trabajo. La AFM1 se acumula en los tejidos del animal y un

porcentaje eliminada a través de los líquidos biológicos como la leche y orina, dentro de las 12 a 24 horas de ingestión del alimento contaminado o enmohecido con el hongo que produce la AFB1. La leche contaminada con AFM1 afecta la salud del ser humano y animal de manera alarmante, deteriorando órganos como el cerebro, riñón e hígado principalmente, por ser estas cancerígenas, teratogénicas, hepatotóxicas e inmunosupresivas (CONACYT, 2002). El presente trabajo, quiere aportar con metodologías y datos estadísticos del nivel de contaminación con micotóxina AFM1 en leche de vaca y brindar al productor lechero, información, normas de prevención, control para mantener la inocuidad de la leche.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Características Climáticas

La región presenta temperaturas medias anuales de 7,2°C, máximas 14,8°C y mínimas de - 0,5°C, con precipitaciones medias anuales de 473,7 mm, y humedades relativas del 50 al 65 %.

Metodología

Las muestras de leche bovina fueron recolectadas en la zona de estudio, 50 mL de la misma fueron extraídas con cloroformo, pasadas por una columna rellena con sílica gel, concentradas y

analizadas por cromatografía en capa fina, utilizando patrones de referencia de 0,5 ppm con porciones de 1, 2, 4, 6, 8 µl, se utilizó 20 µl para las muestras. La identificación de AFM1 fue por fluorescencia a la luz UV a 366 nm, método semicuantitativo identificando la aflatoxina por el diámetro de las manchas fluorescentes. El cálculo del nivel de contaminación con AFM1 se la realizó con respecto al LMR = 0.05 ppb.

El contenido de aflatoxinas en la muestra expresado en microgramos por litro fue calculado por la siguiente expresión : (Ávila, R 2000)

$$X (\mu\text{g} / \text{L}) = \frac{CV_1V_3}{MV_2}$$

Donde:

C = Concentración en microgramos del patrón de aflatoxina por mililitro de solución 0.5 µg/mL.

V₁ = Volumen final del extracto muestra tomando en consideración, cualquier dilución que haya sido necesaria (µl).

V₂ y V₃ = Volumen siembra de la muestra y la solución patrón respectivamente, que tienen igual intensidad de fluorescencia (µL)

M = Volumen de la muestra de ensayo representada por el extracto final.

Tabla 1 **Resultados de los análisis**

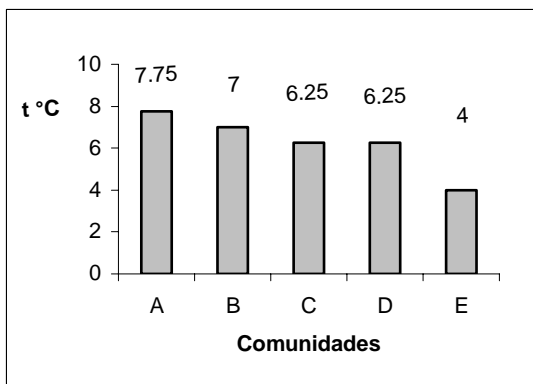
Comunidad	N° Muestra	Época	C (µg/µL)	V ₁ (µl)	V ₃ (µL)	M (L)	V ₂ (µL)	X (µg /µL)
Irama Belén	1	Húmeda	0.00005	100	6	0.008125	20	0.18
	11	Seca	0.00005	100	1	0.0054	20	0.05
Chijipina Grande	2	Húmeda	0.00005	100	4	0.008125	20	0.12
Jahuilaca	4	Húmeda	0.00005	100	2	0.0056	20	0.089
Chauira Pampa	5	Húmeda	0.00005	100	2	0.0064	20	0.077

En 2001, el Codex Alimentarius de la Comunidad Europea establece un nivel máximo de 0.05 ppb de aflatoxina M1 en leche cruda, este nivel supone un límite de 4 µg/Kg de aflatoxina B1 en los piensos. Se considera el nivel de límite permisible de 0.05 ppb el más apropiado teniendo en cuenta los aspectos de la salud pública y alimentaria (3).

La tabla 1 muestra el nivel de concentración en µg /L de AFM1, cuatro muestras resultaron positivas observándose valores por encima del límite permisible

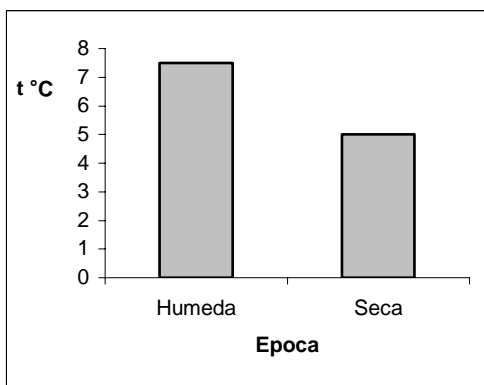
Temperatura (°C)

Figura 1. Promedios y prueba de Duncan ($\alpha=0.05$) de temperatura en leche respecto



A= Irana Belen B= Chijipina Grande
C = Taramaya D = Jahuilaca E Chauira pampa

Figura 2. Promedios y prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) de temperatura en leche respecto épocas

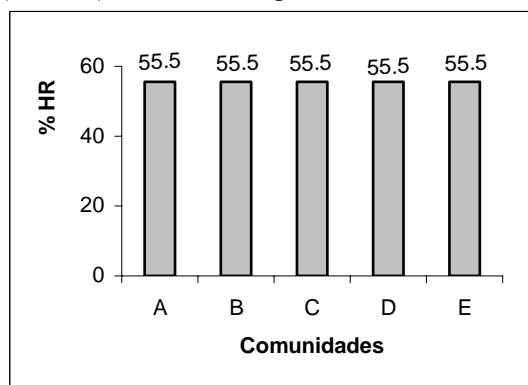


La contaminación con AFM1 en leche de vaca en época húmeda sería mayor debido al valor de promedio de temperatura de 7.5°C, frente a la seca con un valor promedio inferior de 5 °C, con lo que se confirmaría que a mayor temperatura mayor contaminación.

En referencia a los resultados encontrados, Gimeno, A. y Martins, L.(2001) señalan que la temperatura optima para el desarrollo de las micotoxinas se encuentra entre 25 y 35 °C, sin embargo las aflatoxinas M1 pueden desarrollarse a temperaturas de 5- 10°C, por el valor promedio de 7.5°C en los tanques de conservación de los módulos lecheros para época húmeda, lo que hace suponer que existiría contaminación de la leche bovina con aflatoxina M1(4).

Humedad relativa (%)

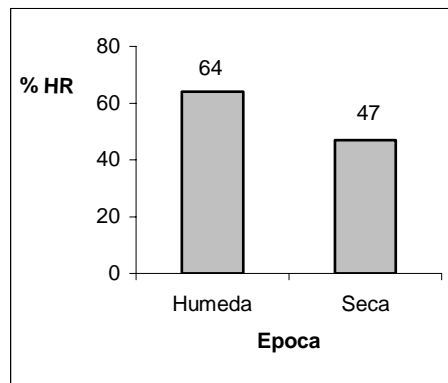
Figura 3: Promedios y prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) del %HR respecto a comunidades



A= Irana Belen B= Chijipina Grande
C = Taramaya D = Jahuilaca E = Chauira pampa

No existe diferencia significativa en el %HR evidenciándose un valor promedio común de 55.5 % de humedad relativa que no refleja efecto alguno en el nivel de contaminación con aflatoxina M1 en leche cruda de vaca.

Figura 4: Promedios y prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) del %HR respecto a épocas



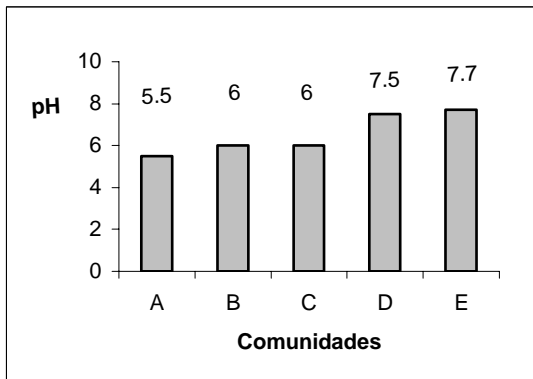
Se confirma que la contaminación con AFM1 en leche cruda de vaca en época húmeda es mayor y con un %HR del 64% frente a la época seca con un valor menor del 47% considerándose este factor es propicio para el desarrollo de micotoxina B1 en el forraje y posterior biomagnificación de aflatoxina M1, manifestándose en los resultados positivos de contaminación aflatoxinica en la leche.

La humedad relativa existente en el ambiente y en los sustratos es importante en el desarrollo de los hongos micotoxicos es así que un tenor de humedad del 17.5 % en los granos y forraje y una humedad relativa ambiente del 85% facilitan el

crecimiento fúngico de la micotoxina B1 que dará origen a la aflatoxina M1.

pH

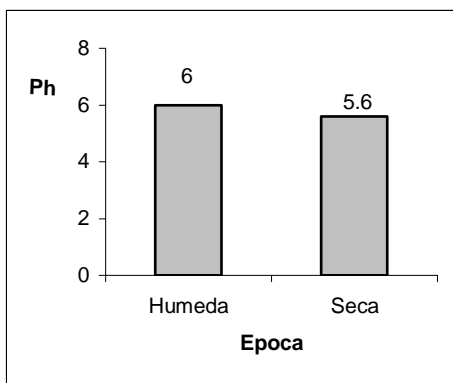
Figura 5: Promedios y prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) de pH en leche respecto



A= Irana Belen B= Chijipina Grande
C = Taramaya D = Jahuirlaca E = Chauira pampa

No existen diferencias significativas en el pH de la leche ya que todos los datos de promedio bordean un valor común de 6 en los módulos lecheros de las comunidades en estudio.

Figura 6: Promedios y prueba de Duncan ($\alpha = 0.05$) del pH en leche respecto a épocas



En la Figura 6 se puede apreciar que existe influencia del pH para la contaminación de la leche con AFM1, teniendo valores de 6 en época seca y de 5.6 época húmeda entonces se confirma de que a pH ácidos existe mayor desarrollo de AFM1 en leche cruda de vaca.

Según Alais,Ch. (1997) el pH de la leche esta entre 6.6 y 6.8°C y Robinsón ,R. (1997)por su parte nos dice que la gran mayoría de los hongos crecen a un pH cercano a la neutralidad. Al

respecto Gimeno,A. (2001) afirma que los hongos aflatoxicos toleran un gran intervalo de pH (2.5-7.5) de un modo general soportan mejor el medio ácido que el alcalino(4), (5).

CONCLUSIONES

De 20 muestras analizadas de cinco comunidades en época seca y época húmeda por la técnica de Cromatografía en columna y capa fina, 5 de ellas reportan valores positivos por encima del limite permisible, se registraron 4 positivas en las comunidades de: Irama belén, Chijipina grande, Jahuirlaca, Chauira pampa con concentraciones de (0.18, 0.12, 0.089, 0.077 ppb) respectivamente en época húmeda y 1 muestra positiva en época seca que correspondía a la comunidad de Irama belén con una concentración de 0.05 ppb(2).

La influencia directa de la temperatura en el nivel de contaminación por aflatoxinica M1 en la leche bovina producida en el municipio de Achacachi, los resultados no muestra del Análisis de Varianza nos reflejaron alta significancia en: Épocas y la interacción de Épocas comunidades y a su vez significancia en el factor comunidades.

En cuanto al factor % de Humedad Relativa, se concluye de que este no tiene influencia directa en el nivel de contaminación con aflatoxina M, reportando resultados no significativos.

El pH de la leche, al igual que el %HR, no tiene un efecto directo en la contaminación de la leche bovina con aflatoxina M1, siendo poco significativo sus resultados. El pH juega un rol importante, al igual que la HR en el alimento del ganado. Estos dos parámetros deben ser evaluados en el sustrato o alimento del ganado que llega a constituir la fase inicial de la contaminación aflatoxinica.

REFERENCIAS

- (1) Alais,Ch. 1997 CIENCIA DE LA LECHE, Principios de técnica lechera, Continental. S. A. México DF, p. 36
- (2) Ávila, R. 2000 Guía de trabajos prácticos de toxicología- Laboratorio FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y BIOQUÍMICA, CARRERA DE QUÍMICA FARMACEUTICA "UMSA" La Paz-Bolivia p. 41-43.
- (3) COMUNIDAD EUROPEA, 2001. OBSERVACIONES DE LA COMUNIDAD EUROPEA PARA LA COMISION DEL CODEX

ALIMENTARIUS, 24 REUNION- Tema 10.
Ginebra, Suiza (2- 7 de julio) p.1-4
CONACYT, 2002 fortalecimiento de los comités
nacionales del codex y aplicación de las normas
del codex alimentario, el salvador (10 al 12 junio
2002) p. 5-6
(4)Gimeno, A. y Martins, L. 2001 XVIII
Seminario G-TEMCAL Lisboa, Portugal
(5) Robinsón, R. 1987 **Microbiología Lacto
lógica**. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.