

DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA CERDOS EN GRANJAS DE LOS ESTADOS ARAGUA Y CARABOBO, VENEZUELA

Determination of Aflatoxin Levels in Balanced Feed for Pigs in Farms from Aragua and Carabobo States, Venezuela

Gema Carolina Maniglia-Merida ^{1*}, Elías Ascanio-Evanoff ¹, José Gregorio Riera ², Janeth Colina-Rivero ²,
Elena del Carmen Briceño-Ferreira ¹, Sergio Flores-Chona ¹, Aouiqw Ascanio-Evanoff ³ y Darwuin Arrieta-Mendoza ¹

¹Cátedra de Farmacología. ²Cátedra de Producción Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias. ³Departamento de estadística, Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. Apartado postal 4563/2101-A. Maracay, estado Aragua. República Bolivariana de Venezuela. Móvil: 58-0414-4924150/Fax: 58-243-5506250. *gemamaniglia@hotmail.com; darwuin@yahoo.com

RESUMEN

Se determinaron los niveles de aflatoxinas en alimentos balanceados para cerdos en etapa de finalización, en granjas de los estados Aragua y Carabobo, Venezuela, durante el periodo mayo-agosto, 2010. Se tomaron 23 muestras de alimento balanceado (11 pertenecientes a granjas del Edo. Aragua y 12 del Edo. Carabobo), directamente de los comederos ubicados en los corrales de los galpones de cerdos. La detección de aflatoxinas totales se realizó mediante el método de cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa, acoplado a un detector de fluorescencia (HPLC-FLD), para lo cual las muestras de alimento fueron previamente purificadas con columnas de inmunofluorescencia. El contenido de aflatoxinas en el alimento obtenido en el Edo. Aragua presentó un promedio de 2,005 µg/kg ± 2,53 y un valor máximo de 6,84 µg/kg, mientras que en el Edo. Carabobo se obtuvo un promedio de 1,18 µg/kg ± 1,98, y un valor máximo de 6,71 µg/kg. Los niveles detectados de aflatoxinas no excedieron los límites establecidos por instituciones nacionales (20 µg/kg) e internacionales (<20 µg/kg) para la fecha de la investigación. Cuando se compararon ambos Estados, no se encontró diferencia (P>0,05) entre los promedios de aflatoxinas detectados en alimentos balanceados para cerdos en etapa de finalización durante el periodo estudiado.

Palabras clave: Aflatoxina, alimento balanceado, cerdos.

ABSTRACT

A research was conducted to determine aflatoxin levels in balanced feed for finishing pig in farms from of Aragua and Carabobo States, Venezuela, from May to August 2010. A total of 23 samples of balanced feed (11 from Aragua and 12 from Carabobo) were collected directly from feeders located in pig shed pens. The detection of total aflatoxins was made by high performance liquid chromatography in reversed phase, coupled to a fluorescence detector (HPLC-FLD), for this purpose, samples of feed were previously purified using immunoaffinity columns. The results of the present study show that average aflatoxin contents obtained in samples from Aragua State was 2.005 µg/kg ± 2.53, with a maximum value of 6.84 µg/kg, while the average value for samples from Carabobo State was 1.18 µg/kg ± 1.98, with a maximum value of 6.71 µg/kg. Aflatoxin levels detected did not exceed the limits established by national (20 µg/kg) and international (<20 µg/kg) institutions by the time of this research. When the two States were compared, no statistically significant differences (P>0.05) were found in average aflatoxin levels in balanced feed for finishing pigs during the studied period.

Key words: Aflatoxin, balanced feed, swine.

INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos principalmente por algunas cepas de hongos del género *Aspergillus*, describiéndose generalmente la aflatoxina B₁ como un compuesto altamente hepatotóxico y carcinogénico en cer-

dos (*Sus scrofa domestica*) y humanos [10, 29]. Las aflatoxinas se detectan frecuentemente en semillas o materias primas vegetales [11, 17], son muy termoestables y la elaboración de alimento granulado para animales (*pellets*), manufacturado con materias primas contaminadas no las destruye [31]; por lo que su presencia en alimentos se considera un problema de seguridad alimentaria, razón por la cual hay que regirse por los límites máximos permitidos a nivel nacional [8] e internacional [10].

Más del 90% de la producción de cerdos en Venezuela funciona en granjas que manejan sus animales en un sistema de estabulación, con alimentación a base de dietas balanceadas y aplicación de alto nivel de tecnología [15]. No obstante, la presencia de aflatoxinas en dietas para cerdos representa un problema para su salud, lo cual ha sido demostrado cuando se han utilizado dietas experimentales que incorporan niveles de aflatoxina B₁, en el orden de 500; 650 y 850 µg/kg, los cuales alteraron la conversión del alimento, provocando disminución en la ganancia de peso de la digestión de lípidos, de la función renal y hepática [5] e inmunodepresión [29].

En Venezuela son limitados los antecedentes científicos disponibles referentes a la cantidad de aflatoxinas que pudieran estar presentes en el alimento consumido por los cerdos en etapa de finalización antes de ser beneficiados, considerando que su carne será consumida por la población humana, lo cual representa un riesgo que atenta contra la inocuidad de los productos porcinos, al no tener certeza del nivel de residuos de micotoxinas en este tipo de alimento. En tal sentido, es recomendable que sean determinados en forma constante los niveles de aflatoxinas en alimentos de cerdos en finalización, en la zona central del país, donde se ubica el 51% de granjas porcinas (estabuladas) y por lo tanto, la mayor población de cerdos [25].

El impacto de las aflatoxinas sobre la salud animal y humana amerita la conducción de estudios orientados a determinar los niveles de estos metabolitos presentes en alimento balanceado para cerdos, a los fines de prevenir y controlar los efectos negativos que estos producen. Sobre este planteamiento, el objetivo de esta investigación fue determinar los niveles de aflatoxinas en alimentos balanceados para cerdos en etapa de finalización, en granjas de los Edos. Aragua y Carabobo de Venezuela, durante el período mayo-agosto, 2010.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo fue una investigación con un diseño no experimental transversal, debido a que los datos fueron recolectados en un periodo determinado para determinar las concentraciones de aflatoxinas en los alimentos balanceados para cerdos. En tal sentido, no se manipularon deliberadamente las variables (niveles de aflatoxinas); además, no se construyó ninguna situación, sino que se observaron situaciones ya existentes [16].

Población y muestra

El muestreo se realizó en 11 granjas en el estado Aragua, de las 51 existentes según el censo del año 2008 y 12

granjas en el Edo. Carabobo, de las 47 censadas para el mismo año [25]. En el muestreo, la selección de las granjas se realizó según el criterio de Scheaffer y col. [23] y se basó en la posibilidad de acceso a las mismas, limitando su número a las cantidades antes mencionadas, de acuerdo a: la autorización permitida por los propietarios, a las visitas restringidas por motivos de bioseguridad, así como a las dificultades ambientales (efectos por lluvias e inundaciones) para la penetración a algunas regiones en los Estados muestreados en el periodo correspondiente (mayo-agosto, 2010). Para la obtención de las muestras de alimento comercial y preparado en la granja, se visitaron granjas de flujo continuo y sitio 3 (granjas solo con cerdos en etapa de engorde o desarrollo), debido a que se utilizó solo el alimento ofrecido a los cerdos en etapa de finalización.

En las TABLAS I y II se observan las características de cada granja perteneciente a los Estados muestreados, la información obtenida de sus características fueron muy similares en el manejo.

Toma y procesamiento de la muestra

Periodo: El muestreo se inició en el mes de mayo y concluyó en el mes de agosto, 2010; éste se condujo siguiendo la metodología sugerida por Whitaker y col. [32]. Las muestras de alimento balanceado ofrecido fueron tomadas directamente de los comederos (ubicados en los corrales de galpones porcinos en etapa de finalización), en diferentes sitios (región de los extremos y centro) y en distintos niveles de profundidad (superior, medio e inferior). Las sub-muestras de alimento obtenidas se constituyeron en una muestra total de 15 kg por granja.

La cantidad total de muestra fue homogeneizada y luego se tomó una submuestra de 3 kg. Cada submuestra fue colocada en bolsas de papel debidamente identificadas para transportarlas al laboratorio donde permanecieron congeladas (congelador marca: General/Electric, LG, modelo: GC-B207FTC, fabricante: LG Electronics, Panamá S.L. Panamá) hasta ser procesadas. Posteriormente se realizó un submuestreo adicional, que consistió en esparcir la submuestra de alimento (3 kg) sobre una superficie de papel, colectando aleatoriamente otra submuestra de 50g de alimento por granja. Finalmente, de esta submuestra se tomaron 25g de alimento que se utilizaron para el proceso de purificación de las muestras, extracción y detección de aflatoxinas. Este procedimiento de laboratorio se realizó para cada granja muestreada.

Purificación de las muestras por columnas de inmunoafinidad

Las muestras fueron tratadas con una solución de metanol al 70% v/v, filtradas y diluidas con agua, y luego eluidas a través de una columna de inmunoafinidad AFLAPREP®, (R-BIOPHARM, EUA), la cual contenía anticuerpos específicos. El uso del metanol a través de la columna permitió aislar, pu-

TABLA I
CARACTERÍSTICAS DE LAS GRANJAS PORCINAS DEL ESTADO ARAGUA, DONDE SE OBTUVIERON MUESTRAS DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA CERDOS EN ETAPA DE FINALIZACIÓN

Granjas ¹	Tipo de granjas	Marca comercial ²	Condiciones de almacenamiento	Tipo de comedero	N° de cerdos por corral
1	Sitio 3	1	Silo	Concreto	120
2	Flujo continuo	1	Silo	Concreto	40
3	Flujo continuo	2	Silo	Concreto	35 a 40
4	Flujo continuo	1	Silo	Concreto	30
5	Flujo continuo	1	Silo	Concreto	40
6	Sitio 2 y 3	1	Sacos	Concreto	45 a 50
7	Flujo continuo	1	Silo	Concreto	30
8	Flujo continuo	3	Silo	Concreto	40
9	Flujo continuo	1	Silo	Concreto	35
10	Flujo continuo	4	Silo	Concreto	30
11	Flujo continuo	1	Silo	Plástico	30

¹ Granjas: Número de granjas visitadas en ese estado. ² Marca comercial: Número de las diferentes marcas comerciales obtenidos en las granjas visitadas (total 6 marcas de alimentos comerciales en Aragua y Carabobo). Sitio 2. Cerdos desde la etapa del destete hasta la etapa del desarrollo o engorde (35- 40 kg). Sitio 3 Cerdos desde la etapa del desarrollo o engorde hasta la etapa de finalización (90 kg). Flujo continuo: Todas las etapas de crecimiento en una misma granja.

TABLA II
CARACTERÍSTICAS DE LAS GRANJAS PORCINAS DEL ESTADO CARABOBO, DONDE SE OBTUVIERON MUESTRAS DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA CERDOS EN ETAPA DE FINALIZACIÓN

¹ Granjas	Tipo de granja	² Marca comercial	Condiciones de almacenamiento	Tipo de comedero	N° cerdos por corral
1	Flujo continuo	1	Silo	Plástico y concreto	35 a 40
2	Flujo continuo	³ Hecho en la granja	Galpones de cemento, luego en sacos	Concreto	30 a 55
3	Flujo continuo	1	Silos	Concreto	60 a 90
4	Flujo continuo	1	Silos	Concreto	35
5	Flujo continuo	1	Silos	Plástico	35
6	Flujo continuo	5	Silos	Concreto	35
7	Flujo continuo	1	Silos	Concreto	40
8	Flujo continuo	4	Silos	Plástico	30
9	Flujo continuo	6	Silos	Concreto	20 a 40
10	Flujo continuo	1	Silos	Concreto	30
11	Flujo continuo	³ Hecho en la granja	Galpones de cemento, luego en sacos	Plástico	50 a 60
12	Flujo continuo	3	Silos	Concreto	35

¹ Granjas: Número de granjas visitadas en ese estado. ² Marca comercial: Número de las diferentes marcas comerciales obtenidas en las granjas visitadas (total 6 marcas de alimentos comerciales). ³ Hecho en granja: Es el alimento que se fabrico en la propia granja. Flujo continuo: Todas las etapas de crecimiento en una misma granja.

rificar, concentrar y remover las aflatoxinas de los anticuerpos específicos. Posteriormente, se utilizó fluorescencia y derivatización post columna (detector de fluorescencia marca Hewlett Packard, Modelo: Agilent 1100, EUA), empleándose bromuro de potasio (KBr) como compuesto halogenante. El acondicionamiento de la columna de inmunoafinidad se realizó según

las especificaciones del fabricante (AFLAPREP® R-BIOPHARM, EUA) [1].

Extracción y detección de aflatoxinas

Para la extracción y detección de los niveles de aflatoxinas, se aplicaron los métodos de la Asociación de Químicos

Analíticos Oficiales (AOAC, por sus siglas en inglés) 991.31 [2] y 2005.08 [3]. Se realizó la evaporación (Evaporador marca Buchler, modelo Flash-Evaporador, Fort lee, EUA) del eluido obtenido de la purificación de la muestra a una temperatura aproximada de 70°C, adicionando nitrógeno para evitar la oxidación. Se reconstituyó el eluido con 200 µL de fase móvil y se trasladaron en viales de 1,5 mL para luego ser colocados en el equipo de cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (HPLC-FLD), (modelo Agilent 1100, Hewlett Packard, EUA) cuya lectura se realizó con un flujo de 1.500 mL/min de fase móvil, inyectándose 20 µL de estándar y de muestra.

Para la determinación del límite de detección de las aflatoxinas totales, se utilizó el método HPLC-FLD, basado en que las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ muestran fluorescencia natural, aunque las de tipo B₁ y G₁ muestran fluorescencia escasa, por ello se utilizó una celda electroquímica post-columna (KOBRA[®] CELL R-BIOPHARM RHONE Ltd, EUA) acoplada al HPLC, donde la muestra se hizo reaccionar con KBr (agente derivatizante). Esto permitió que las aflatoxinas B₁ y G₁ fueran derivatizadas a sus derivados bromuros, los cuales incrementaron su fluorescencia, permitiendo una detección y cuantificación menor a 2 µg/kg de aflatoxinas totales y menor a 0,5 µg/kg para cada aflatoxina individual (B₁, B₂, G₁, G₂). Subsecuentemente, se inyectaron 20 µL de estándar de aflatoxinas totales a las concentraciones de 1,25; 2,25; 5 y 10 µg/kg. Es de hacer notar que estos indicadores se utilizaron con el fin de determinar y/o verificar la confiabilidad de las mediciones obtenidas de los niveles de aflatoxinas según el método HPLC-FLD [30].

Los valores obtenidos del procedimiento de detección de aflatoxinas previamente descrito fueron comparados con los valores máximos permitidos (20 µg/kg) establecidos por la Co-

misión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) [8] e instituciones internacionales como lo son la Organización de Agricultura y Alimento de las Naciones Unidas de (FAO, por sus siglas en inglés), la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos de América (FDA, por sus siglas en inglés) y la Unión Europea (UE) [9, 13, 33].

Análisis estadístico

La variable concentración de aflatoxinas totales expresada en µg/kg no se ajustó adecuadamente a la distribución normal, por lo que se procedió a la utilización del método no paramétrico de comparación de dos medias independientes (método de Wilcoxon) con un nivel de significación del 5% [27], con el fin de comparar las concentraciones medias de los estados Aragua y Carabobo, a través de las granjas muestreadas. Para ejecutar la mencionada prueba, se utilizó el programa Statistix 8[®] (1985-2003 Analytical Software).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las TABLAS III y IV se observan los resultados de las muestras tomadas en las granjas de los estados Aragua y Carabobo. Los promedios de aflatoxinas encontrados en las muestras de alimentos para cerdos en etapa de finalización de las granjas muestreadas, se ubicaron cerca del límite mínimo de detección de la prueba para aflatoxinas totales (2 µg/kg). Estos bajos niveles de aflatoxinas resultantes posiblemente pudieran atribuirse, entre otras variables, a los efectos y consecuencias promovidos por las condiciones climáticas del país en el periodo de muestreo de este estudio (manejo de materia prima, escases

TABLE III
VALORES DE AFLATOXINAS (µg/kg) DETECTADOS EN MUESTRAS DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA CERDOS EN ETAPA DE FINALIZACIÓN, EN GRANJAS DEL ESTADO ARAGUA

Granjas	Aflatoxinas Totales	Aflatoxinas B ₁	Aflatoxinas B ₂	Aflatoxinas G ₁	Aflatoxinas G ₂
1	ND	ND	ND	ND	ND
2	6,8434	0,7652	0,7285	ND	5,3497
3	0,1479	ND	0,1479	ND	ND
4	1,0846	ND	ND	ND	1,0846
5	4,7788	ND	ND	ND	4,778
6	4,0700	0,3442	0,3073	ND	3,4185
7	4,5475	ND	ND	ND	4,5475
8	0,5877	ND	0,0841	ND	0,5036
9	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND
11	ND	ND	ND	ND	ND
Promedio	3,15	0,55	0,32	ND	3,28
Desviación estandar	± 2,54	± 0,30	± 0,29	ND	± 2,03

ND: no detectado

El promedio fue obtenido excluyendo granjas ND.

TABLA IV
VALORES DE AFLATOXINAS ($\mu\text{g}/\text{kg}$) DETECTADAS EN MUESTRAS DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA CERDOS EN ETAPA DE FINALIZACIÓN, EN GRANJAS PORCINAS DEL ESTADO CARABOBO

Granjas	Aflatoxinas Totales	Aflatoxinas B ₁	Aflatoxinas B ₂	Aflatoxinas G ₁	Aflatoxinas G ₂
1	ND	ND	ND	ND	ND
2	0,3394	0,2843	0,0551	ND	ND
3	0,6054	ND	0,6054	ND	ND
4	0,2437	0,2437	ND	ND	ND
5	ND	ND	ND	ND	ND
6	1,3253	1,2690	0,0563	ND	ND
7	0,2182	0,2182	ND	ND	ND
8	3,2349	ND	ND	ND	3,2349
9	ND	ND	ND	ND	ND
10	6,7077	ND	0,6417	ND	6,0660
11	ND	ND	ND	ND	ND
12	1,4729	ND	1,4729	ND	ND
Promedio	1,76	0,50	0,57	ND	4,65
Desviación estándar	± 2,23	± 0,51	± 0,58	ND	± 2,00

ND: no detectado.

El promedio fue obtenido excluyendo granjas ND.

de materias primas nacionales, necesidad de importación de algunas de ellas, posible entrada de cereales transgénicos al país). Al respecto, Monasterio y col. [19] han señalado que los cambios climáticos globales han repercutido en Venezuela, afectando la producción agrícola nacional, observándose escasez de cereales, entre otras materias primas para consumo animal. Adicionalmente, se ha indicado que el invierno de 2009 fue afectado por un episodio climático ("El Niño"), que debilitó los vientos alisios, causando una marcada reducción de las precipitaciones, que rompió el balance hídrico de los cultivos y pastizales, produciendo un fuerte impacto productivo que afectó la producción agrícola venezolana [19]. Este proceso determinó que el verano 2009/2010 se iniciara con las reservas hídricas de los suelos completamente agotadas y que los mismos continuaran exponiéndose a temperaturas muy superiores a las normales, lo cual, unido a la falta de lluvias que es propia de esa estación, intensificó el estrés térmico e hídrico, acrecentando los daños a los cultivos [19].

Probablemente, el escaso maíz (*Zea mays*) producido en el periodo previamente descrito fue principalmente destinado al consumo humano, disminuyendo la cantidad utilizada para la elaboración de alimentos balanceados de consumo animal, lo que condujo al incremento de las importaciones de maíz y otros cereales de latitudes menos tropicales (ejemplo países de América del norte), cuyos climas y manejo de cereales frente a eventos climáticos disminuyen posiblemente el riesgo de que sus materias primas vegetales sean colonizadas por cepas aflatoxigénicas, presentando quizás bajos niveles de aflatoxinas, lo que pudo hipotéticamente haber contribuido a de-

tectar en las muestras del presente estudio una escasa concentración de estas micotoxinas.

Por otra parte, se ha descrito la aplicación de métodos que puedan ayudar a reducir los niveles de micotoxinas en alimentos para animales y humanos, como lo es el desarrollo de variedades con resistencia genética o alimentos transgénicos [4], o en la búsqueda de caracteres en plantas, tales como: resistencia a microorganismos patógenos (virus, bacterias y hongos) y resistencia a la infestación con insectos [21, 22].

Existen autores que opinan que, los campos latinoamericanos están llenos de soja (*Glycine ussuriensis*), algodón (*Gossypium herbaceum*) y maíz transgénicos. Venezuela, oficialmente, no está en esta membresía directamente, debido a que en el 2004 el gobierno nacional prohibió la producción de alimentos transgénicos en el país [6], pero la balanza comercial refleja una contradicción: 85% de los alimentos provienen de las importaciones, debido a que no existe una legislación sobre la producción e importación de transgénicos en el país, por lo que existen importaciones de maíz y soja transgénica provenientes de países tales como Estados Unidos, Brasil y Argentina [6].

De lo expuesto por el autor se infiere que, al haber un incremento en el uso de esta materia prima transgénica importada, se estaría disminuyendo la probabilidad de crecimiento de hongos aflatoxigénicos y, por lo tanto, el riesgo de la presencia de las aflatoxinas. Lo descrito anteriormente, de manera hipotética pudiera justificar, entre otras razones, los valores de aflatoxinas totales obtenidos en esta investigación.

Otro factor que pudiese haber influido para que los valores de aflatoxinas totales se ubicaran cerca del límite mínimo de detección fue el incremento de la vigilancia para el control de los alimentos de origen agrícola por parte de las instituciones nacionales. En vista de la alta producción de alimentos balanceados, motivada por la gran demanda dentro del sector de producción de cerdos, y tratando de proteger la salud humana y animal de los efectos nocivos de las aflatoxinas, el Estado venezolano hace más de 30 años contribuyó a la regulación de estas micotoxinas, fijando un nivel máximo permitido de 20 µg/kg de aflatoxinas en estos alimentos [8]. Además, existe la Ley de Salud Agrícola Integral, la cual establece como responsable al Instituto Nacional de Salud Agrícola Integral (INSAI), el cual debe vigilar, controlar e inspeccionar el cumplimiento de las normas técnicas de salud agrícola integral que regulen las actividades de fabricación o elaboración de los alimentos para animales entre otros insumos [20].

Esta política de vigilancia implica supervisiones más profundas y frecuentes por parte de los organismos oficiales a la agroindustria correspondiente, encargada de producir y distribuir alimentos de origen animal en la cadena alimentaria nacional. La aplicación en los últimos años de estas políticas agroalimentarias posiblemente contribuyó a un mayor control de la calidad de los productos agrícolas y quizás a obtener los valores de aflatoxinas totales detectados en esta investigación.

Son escasos los reportes científicos en Venezuela acerca de la determinación de micotoxinas en alimentos balanceados para animales [18], reportándose con frecuencia detecciones de aflatoxinas, entre otras micotoxinas, con métodos inmunodiagnósticos en materias primas para la elaboración de alimentos balanceados [11]. Sin embargo, en otros países se han realizado determinaciones de aflatoxinas, tanto en alimento balanceado como en materia prima, utilizando métodos de tipo químico-analítico, como lo es el HPLC [12, 26, 28], el cual es un método de alta precisión y que está validado por la AOAC [2, 3], a diferencia de algunos inmunoensayos (ELISA y columnas de inmunoespecificidad) que se han utilizado con más frecuencia para medir estas toxinas en los alimentos balanceados [12], a pesar de estar validados y estandarizados solo para algunas materias primas como los granos de maíz y arroz (*Oryza sativa*) [12, 24].

Posiblemente, el efecto individual o en conjunto de cada uno de los argumentos planteados previamente, sustenta los niveles de aflatoxinas encontrados en este estudio.

Los valores de aflatoxinas obtenidos fueron comparados con los valores máximos permitidos establecidos por instituciones nacionales [8] e internacionales FAO/WHO [33], FDA [13] y UE [9], los cuales no superaron ninguno de los límites permitidos fijados por las instituciones para las fechas citadas. Hay que tener en cuenta que el INSAI, como ente regulador, exige a los productores de alimento mantener niveles de aflatoxinas por debajo de la norma. Sin embargo, no existe un nivel seguro de aflatoxinas debido a sus efectos acumulativos [7], por lo que aún cuando se establecen niveles tolerables, y los valores obtenidos son bajos, hay que tener en cuenta que la carne de estos animales se destina al consumo humano [14].

Los niveles permitidos de micotoxinas que establecen estas instituciones tratan de ser valores tolerables para los humanos, debido a que muchas especies de animales para consumo humano pueden tolerar concentraciones mayores, por ejemplo, los cerdos en etapa de finalización pueden tolerar niveles hasta de 400 µg/kg de aflatoxina B₁, teniendo en sus tejidos muy poco efecto sobre el desempeño y residuos de micotoxinas [34].

En la TABLA V se observan las diferencias entre los estados Aragua y Carabobo para el período mayo-agosto 2010, en los niveles de aflatoxinas detectados en alimentos balanceados para cerdos en etapa de finalización, evidenciándose que no existe diferencia ($P>0,05$) entre las concentraciones medias de los Estados evaluados. A pesar de la sensibilidad de detección del método HPLC para aflatoxinas en las muestras tomadas, hay que considerar la alta heterogeneidad en la distribución de micotoxinas en los cereales y otras materias primas como variable interviniente en el muestreo [32], por lo que esta similitud en los promedios detectados de aflatoxinas no refleja necesariamente la realidad entre regiones.

Sin embargo, hay que considerar que las fábricas de suministro de alimentos (siete plantas procesadoras) que abastecían las granjas, están ubicadas en la zona central, manejando y utilizando probablemente la misma materia prima vegetal para elaborar sus alimentos, los cuales fueron distribuidos comercialmente en las granjas de ambos Estados debido a su proximidad geográfica. Por estas razones se sospecha que las cantidades de aflatoxinas encontradas fueron muy similares ($P>0,05$) entre Estados cuyas condiciones agroclimáticas sue-

TABLA V
DIFERENCIAS ENTRE LOS ESTADOS ARAGUA Y CARABOBO (MAYO-AGOSTO 2010), EN LOS NIVELES DE AFLATOXINAS DETECTADOS EN ALIMENTOS BALANCEADOS PARA CERDOS EN ETAPA DE FINALIZACIÓN

Estados	Aflatoxinas totales (µg/kg)				
	Valor promedio	Desviación estándar	Valor mínimo detectado	Valor máximo detectado	Número de granjas
Aragua	3,15	± 2,54	0,1479	6,84	11
Carabobo	1,76	± 2,23	0,2182	6,71	12
Significancia estadística	P>0,05		-	-	n = 23

len ser muy parecidas (temperaturas entre 20 y 26°C y precipitaciones aproximadas de 1100 mm anuales), sugiriendo que la fuente de suministro de alimento en las granjas muestreadas, los microclimas y las condiciones del manejo de los cerdos pudieran ser variables menos determinantes en los valores de aflatoxinas detectados en el presente estudio. Sin embargo, en esta investigación dichas variables no fueron controladas por lo que estas inferencias son hipotéticas.

Investigaciones como estas, pero cuyos muestreos se extiendan durante todo el año pudieran contribuir a verificar si en realidad se están tomando medidas por parte de la agroindustria porcina e instituciones nacionales, en cuanto a la presencia de aflatoxinas en las materias primas y, por consiguiente, en el alimento balanceado, en aquellos casos que dichos muestreos se detecten concentraciones de aflatoxinas similares a los del presente estudio.

Finalmente, aunque los valores detectados en esta investigación no fueron mayores a los máximos permitidos, es recomendable considerarlos para el bienestar de la industria porcina nacional y realizar evaluaciones constantes en estos alimentos para otras micotoxinas, en razón de que los bajos niveles de aflatoxinas pueden hacerse tóxicos según las interacciones con otras micotoxinas o xenobióticos, con eventuales efectos subclínicos en cerdos, incrementando el riesgo de impactos negativos en estos y en la salud pública, por su presencia en la cadena agroalimentaria nacional.

CONCLUSIONES

Los niveles de aflatoxinas cuantificados en alimentos balanceados para cerdos en etapa de finalización, en granjas muestreadas de los estados Aragua y Carabobo (mayo-agosto 2010), fueron menores a 7 µg/kg en ambos Estados, evidenciándose que no excedieron los límites permitidos establecidos por instituciones nacionales e internacionales. Sin embargo, debido a que las micotoxicosis son problemas multifactoriales y al no existir concentraciones seguras de aflatoxinas, es recomendable realizar nuevas investigaciones comparando los niveles de aflatoxinas detectados en muestras de alimentos balanceados ofrecidos en granjas porcinas, durante los meses de sequía y de precipitación.

Asimismo, es conveniente determinar las diferencias en los niveles de aflatoxinas entre alimentos balanceados para cerdos fabricados con materia prima transgénica y no transgénica en Venezuela. Igualmente, se recomienda cuantificar los niveles de otras micotoxinas (zearalenona, fumonisina, tricotecenos y ocratoxina), tanto en muestras de alimentos balanceados como en ciertos tejidos (hepático, renal, músculo esquelético y adiposo) de cerdos provenientes de granjas en la región central del país.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico de la Universidad

Central de Venezuela (CDCH-UCV), por el financiamiento del Proyecto de Investigación registrado con el No. PI 11-7174-/2008 y al laboratorio SEDICOMVET, C.A. por sus contribuciones metodológicas en la realización de esta investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AFLAPREP® R-BIOPHARM. M. Aplicación de columnas de inmunoafinidad para la preparación de muestras previo al análisis de aflatoxinas por HPLC. En línea: <http://www.r-biopharmrhone.com/1-06-2011>.
- [2] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C). Official methods of analysis 991.31. 18th Ed. Washington. D.C. U.S.A. Pp 21-23. 2005 a.
- [3] ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (A.O.A.C). Official methods of analysis 2005.08. 18th Ed. Washington. D.C. U.S.A. Pp 49. 23-24. 2005 b.
- [4] ARMIJO, J.; CALDERÓN, J. Esquema de acciones para evitar, controlar y desinfectar productos de hongos y aflatoxinas. *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* 12(2):15-24. 2009.
- [5] BONOMI, A.; QUARANTELLI, A.; MAZZALI, I.; CABASSI, E.; CORRADI, A.; UBALDI, A.; FUSARI, A.; CHIZZOLINI, R. The effects of aflatoxin B₁ contaminated rations on the productive efficiency and on the meat yield and quality of fattening pigs. *Rivista della Società Italiana di Scienza dell'Alimentazione.* 21:501-534. 1992.
- [6] BRAVO, E. La situación de los transgénicos en Venezuela. En: *América Latina la Transgénesis de un Continente.* Ed. MasGráfica Ltda, Chile. Pp 68-71. 2009.
- [7] CHEN, J.; GOETCHIUS, M.P.; COMBS, G.F.; CAMPBELL, T.C. Effects of dietary selenium and vitamin E on covalent binding of aflatoxin to chick liver cell macromolecules. *J. Nutri.* 112(2): 350-355. 1982.
- [8] COMISIÓN VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES. (COVENIN). Normas Venezolana de Alimento completo para cerdos. Ministerio de Fomento. Método de Ensayo para Determinar Aflatoxinas. Caracas, Venezuela Pp 1882-83. 1983.
- [9] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION AND WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). Worldwide Regulations for Mycotoxins. FAO and Nutrition Paper 64, Rome, Italy. 43 pp. 1995.
- [10] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION AND WORLD HEALTH ORGANIZATION (FAO/WHO). Contaminantes: aflatoxinas. En: El 49^{vo} Informe Técnico del Comité Mixto (FAO/OMS) de Expertos en Aditivos Alimentarios. OMS-Ginebra. Pp 73-87. 1999.
- [11] FERNÁNDEZ, G.; NEGRON, G.; ISEA, G.; SÁNCHEZ, E. Reporte de análisis cuantitativo de aflatoxinas por el método de ELISA en muestras de materias primas de

- alimento balanceado para aves provenientes de una planta ubicada en el municipio Mara del estado Zulia, Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** X (1):63-68. 2000.
- [12] FLORES, C.; HERNÁNDEZ, L.; MEDRANO, J. Contaminación en micotoxinas en alimento balanceado y granos de uso pecuario en México en el año 2003. **Tec. Pec. Mex.** 44(2):247-256. 2006.
- [13] FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Action levels for added poisonous or deleterious substances in food. **Notice, Federal Register.** 53:5043-5044. 1988.
- [14] GALVANO, F.; RITIENI, A.; PIVA, G.; PIETRI, A. Micotoxinas en la cadena alimentaria En: Díaz, D. (Ed) **El libro azul de las micotoxinas.** 2^a. Ed. Nottingham University press. United Kingdon. Pp 199-208. 2008.
- [15] GONZÁLEZ, C. Utilización de la batata (*Ipomoea batata L*) en la alimentación de cerdos confinados y en pastoreo. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Agronomía, Tesis Doctoral. 234 pp. 1994.
- [16] HERNÁNDEZ, R.; FERNÁNDEZ, C.; BAPTISTA, P. Metodología de la investigación. Ed. McGraw-Hill, México. 445 pp. 1997.
- [17] HUA, S. S.; BAKER, J.L.; ESPIRITU, M.F. Interactions of Saprophytic yeasts with a nor mutant *Aspergillus flavus*. **Appl. Environ. Microbiol.** 65(6):2738-3740. 1999.
- [18] MANIGLIA, G.; ASCANIO, E.; BRICEÑO, E.; ARRIETA, D.; FLORES, S.; ZERPA, H. Presence of vomitoxin in balanced food for dogs and cats in the Bolivarian Republic of Venezuela. **J. Vet. Pharmacol. Therap.** 32 (1):209-210. 2009.
- [19] MONASTERIO, P.; PIERRE, F.; BARRETO, T.; MARIN, C.; MORA, O.; TABLANTE, J.; MATURET, W.; MENDOZA, C. Influencia del fenómeno el niño/oscilación del sur sobre precipitaciones y rendimiento del cultivo de maíz en el municipio Peña, estado Yaracuy, Venezuela. **Agron. Trop.** 61(1):59-72. 2011.
- [20] REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA. Ley de salud agrícola integral. Decreto N° 6.129, con Rango, Valor y Fuerza de Ley de Salud Agrícola Integral. En: Extraordinario de la Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela. N° 5.890. Capitulo V, de los insumos pecuarios y agrícolas, Prácticas de manufactura, Artículo 33. 31 de julio de 2008.
- [21] RODRÍGUEZ, E.; ZUMALACÁRREGUI, J.; OTERO, A.; CALLEJA, A.; SUÁREZ, A.; DE LA FUENTE, L. Lo que Ud. debe saber sobre los alimentos transgénicos (y organismos manipulados genéticamente). En: 14 Cartilla de Divulgación. Edición Caja España. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. España. Pp 23-25. 2003.
- [22] SÁNCHEZ, M.C. Biotecnología: Ventajas y desventajas para la agricultura. **Rev. Científ. UDO Agríc.** 3(1):1-11. 2003.
- [23] SCHEAFFER, R.; MENDENHALL, W.; OTT, L. Elementos del problema de muestreo. En: **Elementos del muestreo.** 6^{ta} Ed. Paraninfo. Madrid. Pp 7-38. 2007.
- [24] SCUDAMORE, K. Principios y aplicaciones del análisis de las micotoxinas. En: Díaz, D. (Ed). **El libro azul de las micotoxinas.** 2^{da} Ed. Nottingham University Press. United Kingdon. 171 pp. 2008.
- [25] SERVICIO AUTÓNOMO DE SANIDAD AGROPECUARIA (SASA). Censo porcino 2005-2008. En línea: <http://vlex.com.ve/tags/sasa-venezuela-3415494> / 17-03-2010.
- [26] SHARMA, M.,Y.; MÁRQUEZ, C. Determination of aflatoxins in domestic pet food (dog and cats) using immunoaffinity column and HPLC. **Anim. Feed Sci. Tech.** 93:109-114. 2001.
- [27] SIEGEL, S.; CASTELLAN, J. N. Dos muestras independientes. En: **Estadística no paramétrica aplicada a las ciencias de la conducta.** 4^{ta} Ed. Editorial Trillas, México, D.F. Pp 128-199. 1995.
- [28] STROKA, J.; ANKLAM, E.; JORISSEN, U.; GILBERT, J. Immunoaffinity column cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: collaborative study. **J. Assoc. Offic. Analyt. Chem. Int.** 83: 320-40. 2000.
- [29] TREVOR, K.S.; DÍAZ, G.Y.; SWAMY, H.V. Conceptos Actuales de la micotoxicosis en cerdos. En: Díaz, D. (Ed) **El libro azul de las micotoxinas.** 2^{da}. Ed. Nottingham University Press. United Kingdon. Pp 251-252. 2008.
- [30] TROIANO, R; REUTER, W. H. Rapid quantification of aflatoxins in corn by HPLC with KOBRA[®] CELL derivatization and fluorescence detection. **LC GC North America.** Sep.(1): 48. 2007.
- [31] VAAMONDE, G. Micotoxinas. En: **Toxicología de los alimentos.** (Ed. A. A. Silvestre), 2^{da} Ed. Editorial Hemisferio Sur. Argentina. Pp 153-193. 1996.
- [32] WHITAKER, T.B.; SLATE, A.B.; JOHANSSON, A.S. Muestreo de alimentos para análisis de micotoxinas. En: Díaz, D. (Ed) **El Libro Azul de las Micotoxinas.** 2^{da} Ed. Nottingham University Press. United Kingdon. 25pp. 2008.
- [33] WORLD CANCER RESEARCH FUND (WCRF). Food, Nutrition and the Prevention of Cancer. American Institute for Cancer Research. Washington, USA. Pp 448-489. 1997.
- [34] WU, J.; YU, I.; CHENG, C.; YEN, C.; KUO, C. Effects of low dietary levels of aflatoxina on performance and tissue residues of finishing pigs. **J. Agr. Assoc. China.** 146:42-50. 1989.