

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS

**DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 MEDIANTE KIT DE
ELISA Y ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO EN LECHE FRESCA
QUE SE EXPENDEN EN LOS MERCADOS DE CASCCAPARO,
ROSASPATA Y VINOCANCHÓN DE LA CIUDAD DEL
CUSCO, 2025**

PRESENTADO POR:

Br. MASHELY CRUZ RANILLA

Br. KATHERINE ASHLY QUIÑONES GOMEZ

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

ASESORA:

Dra. ANAHI KARINA CARDONA RIVERO

CUSCO – PERÚ

2026



Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

INFORME DE SIMILITUD

(Aprobado por Resolución Nro.CU-321-2025-UNSAAC)

El que suscribe, el Asesor DRA. ANAHI KARINA CARDONA RIVERO
..... quien aplica el software de detección de similitud al
trabajo de investigación/tesis titulada:

..... DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 MEDIANTE KIT DE ELISA Y ANÁLISIS
..... FÍSICOQUÍMICO EN LECHE FRESCA QUE SE EXPENDEN EN LOS MERCADOS DE
..... CASCAPARO, ROSASPATA Y VINOCANCHÓN DE LA CIUDAD DEL CUSCO, 2025.

Presentado por: MASHELY CRUZ RANILLA DNI N° 74027406;

presentado por: KATHERINE ASHLY QUINONES GOMEZ DNI N° 76034392;

Para optar el título Profesional/Grado Académico de QUÍMICO FARMACÉUTICO
.....

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 3 veces, mediante el
Software de Similitud, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso del Sistema Detección de
Similitud en la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10%.

Evaluación y acciones del reporte de coincidencia para trabajos de investigación conducentes a grado académico o título profesional, tesis

Porcentaje	Evaluación y Acciones	Marque con una (X)
Del 1 al 10%	No sobrepasa el porcentaje aceptado de similitud.	X
Del 11 al 30 %	Devolver al usuario para las subsanaciones.	
Mayor a 31%	El responsable de la revisión del documento emite un informe al inmediato jerárquico, conforme al reglamento, quien a su vez eleva el informe al Vicerrectorado de Investigación para que tome las acciones correspondientes; Sin perjuicio de las sanciones administrativas que correspondan de acuerdo a Ley.	

Por tanto, en mi condición de Asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema de Detección de Similitud.

Cusco, 03 de FEBRERO de 20..... 26

Firma

Post firma ANAHI KARINA CARDONA RIVERO

Nro. de DNI 23999511

ORCID del Asesor 0000-0001-6797-9162

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema de Detección de Similitud: oid: 27259:552037845

DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 MEDIANTE KIT DE ELISA Y ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO EN LECHE FRESCA QUE ...

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:552037845

136 páginas

Fecha de entrega

2 feb 2026, 10:34 a.m. GMT-5

31.142 palabras

176.814 caracteres

Fecha de descarga

3 feb 2026, 3:22 p.m. GMT-5

Nombre del archivo

DETERMINACION DE AFLATOXINA M1 2025 - ULTIMO TRABAJO.docx

Tamaño del archivo

11.7 MB

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 5%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**
81 caracteres sospechosos en N.º de páginas
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.
-  **Texto oculto**
27 caracteres sospechosos en N.º de página
El texto es alterado para mezclarse con el fondo blanco del documento.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

DEDICATORIA

A mis amados padres Epifanio y Bertha, que son el pilar fundamental en mi formación como profesional, gracias por su amor incondicional y su apoyo constante en cada etapa de mi vida. Gracias por ser los mejores padres del mundo.

A mi hermana Karina, por ser mi fuente de inspiración y motivación en este logro académico, gracias por siempre ser mi apoyo, mi consuelo y risa cuando más lo necesitaba.

Mashely Cruz Ranilla

A mis queridos padres Norca y Wilbert por haberme apoyado y acompañado incondicionalmente en cada etapa y cada paso de mi vida. Gracias por estar siempre presentes.

A mi pequeña y traviesa Tuki, mi compañera de días largos y noches de estudio, por estar siempre a mi lado con su ternura y ronroneos de apoyo.

A J.A., por su constante apoyo, compromiso y confianza a lo largo de todo este recorrido académico, celebrando con sinceridad cada uno de mis avances. Gracias por creer y confiar en mí en esta etapa.

Katherine Ashly Quiñones Gómez

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos primeramente a Dios por habernos dado la fuerza, salud y perseverancia para culminar esta etapa tan importante en nuestras vidas.

A nuestros padres, por su amor incondicional, su apoyo constante y sus sacrificios. A ellos les dedicamos con gratitud cada logro alcanzado. A nuestras familias en general, por su compañía y palabras de aliento en los momentos difíciles.

A nuestra asesora de tesis, Dra. Anahí Karina Cardona Rivero, por su guía académica, paciencia y compromiso durante el desarrollo de este trabajo.

A nuestra co-asesora Dra. Yanet Cuentas Romaña por su guía, compromiso, experiencia y exigencia que nos ayudaron a mejorar como estudiantes e investigadoras.

A la Ing. Fiorela Guzmán Figueroa por su guía, apoyo y compromiso con el desarrollo de la etapa experimental de nuestra investigación, sin su apoyo no hubiera sido posible tener resultados óptimos y certeros.

A los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, por las enseñanzas brindadas a lo largo de nuestra formación profesional.

A los docentes de la Facultad de Agronomía y Zootecnia por facilitar los espacios y recursos necesarios para llevar a cabo esta investigación, como el laboratorio donde se realizaron los análisis.

Finalmente, agradecemos a nuestra/os amiga/os y compañera/os de carrera, por su apoyo moral, sus consejos y su compañía durante este camino universitario. Gracias por formar parte de esta etapa inolvidable.

Las autoras

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar aflatoxina M₁ mediante Kit de ELISA y análisis fisicoquímico de la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco. Los datos de Aflatoxina M₁ (AFM₁) fueron procesados con el software RIDASOFT, mientras que los parámetros fisicoquímicos se evaluaron con el equipo Lactichack y se analizaron estadísticamente mediante el programa SPSS, versión 25.

Los resultados de la determinación del análisis de AFM₁ según el Codex Alimentarius en leche fresca, demuestran una contaminación por AFM₁ en los tres mercados. En el mercado Casccaparo se obtuvo concentraciones altas de AFM₁, principalmente en dos puestos (P1: 0.582ug/kg y P4: 0.601ug/kg) que superan el límite establecido. Sin embargo, en el mercado Rosaspata y en el mercado Vinocanchón las concentraciones se mantuvieron dentro de los valores permitidos. En cuanto a la evaluación de los parámetros fisicoquímicos establecidos por MINAGRI, mostraron que la leche comercializada en el mercado de Casccaparo solo cumplió con 2 de los 7 parámetros analizados (28,57%). El mercado de Rosaspata cumplió con 6 de los 7 parámetros evaluados (85%). En contraste, el mercado de Vinocanchón cumplió satisfactoriamente con la totalidad de los parámetros evaluados (100%).

Se concluye que existe riesgo potencial para la salud pública en el mercado de Casccaparo debido a niveles elevados de AFM₁ establecido por el Codex Alimentarius y deficiencias fisicoquímicas en la leche comercializada establecidos por MINAGRI.

Palabras clave: Aflatoxina M₁, Análisis fisicoquímico, Leche fresca, Mercados.

ABSTRACT

The present study aimed to determine aflatoxin M1 levels using an ELISA kit and physicochemical analysis of fresh milk sold in the Casccaparo, Rosaspata, and Vinocanchón markets in the city of Cusco. Aflatoxin M1 (AFM1) data were processed using RIDASOFT software, while physicochemical parameters were evaluated with the Lactichex instrument and statistically analyzed using SPSS version 25.

The results of the AFM1 analysis, based on the Codex Alimentarius, in fresh milk demonstrate AFM1 contamination in all three markets. High concentrations of AFM1 were found in the Casccaparo market, primarily at two stalls (P1: 0.582 µg/kg and P4: 0.601 µg/kg), exceeding the established limit. However, in the Rosaspata and Vinocanchón markets, concentrations remained within the permitted limits. Regarding the evaluation of the physicochemical parameters established by MINAGRI (Ministry of Agriculture and Irrigation), the results showed that the milk sold in the Casccaparo market only met 2 of the 7 parameters analyzed (28.57%). The Rosaspata market met 6 of the 7 parameters evaluated (85%). In contrast, the Vinocanchón market satisfactorily met all of the evaluated parameters (100%).

It is concluded that there is a potential risk to public health in the Casccaparo market due to elevated levels of AFM1, as established by the Codex Alimentarius, and physicochemical deficiencies in the milk sold there, as established by MINAGRI.

Keywords: Aflatoxin M1, Physicochemical analysis, Fresh milk, Markets.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT	IV
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I	3
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	5
1.3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	5
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	6
1.4.1. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA.....	6
1.4.2. JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA.....	6
1.4.3. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA.....	7
1.5. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN	8
1.6. HIPÓTESIS GENERAL	8
CAPÍTULO II	9
2.1. VISIÓN HISTÓRICA	9
2.2. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO	10
2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES	10
2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES	14
2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES	17
2.3. ESTADO DEL ARTE	19
2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS	20
2.4.1. HONGOS	20
2.4.2. MICOTOXINAS	22
2.4.3. ORIGEN DE LAS AFLATOXINAS	23
2.4.4. AFLATOXINAS.....	24
2.4.5. CLASIFICACIÓN DE AFLATOXINAS.....	24
2.4.6. ESTRUCTURA QUÍMICA DE AFLATOXINAS.....	25
2.4.7. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LOS TIPOS DE AFLATOXINAS ..	27
2.4.8. MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE AFLATOXINAS	27
2.4.9. LECHE FRESCA	32
2.5.0. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA LECHE	33

2.5.1. PRODUCCIÓN DE LECHE FRESCA EN EL PERÚ	34
2.5.2. PRESENCIA DE AFLATOXINAS M ₁ EN PRODUCTOS LÁCTEOS.....	35
2.5.3. LÍMITES PERMISIBLES DE AFLATOXINAS EN LECHE.....	36
2.5.4. EQUIPO DE ANÁLISIS DE LECHE FRESCA “LACTICHECK”	37
2.5.5. CODEX ALIMENTARIUS, NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS (CODEX STAN 193-1995)	39
2.5.6. DECRETO SUPREMO QUE APRUEBA EL REGLAMENTO DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS, MINAGRI N°007 – 2017	40
2.5.7. DAÑOS EN LA SALUD POR AFLATOXINAS.....	42
2.5.8. ESTRATEGIAS PARA MITIGAR LA CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS M ₁	44
2.5.9. MERCADOS QUE EXPENDEN LECHE EN LA CIUDAD DEL CUSCO .	46
2.5. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS	49
CAPÍTULO III	51
3.1. MATERIALES.....	51
3.2. DISEÑO METODOLÓGICO	52
3.2.1. NIVEL Y ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN	52
3.2.2. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	52
3.3. IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	54
3.3.1. VARIABLES IMPLICADAS	54
3.3.2. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	57
3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN	59
3.4.1. POBLACIÓN.....	59
3.4.2. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO Y COMPOSICIÓN DE LA MUESTRA 59	
3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE LA MUESTRA.....	60
3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	60
3.7. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS 60	
3.8. PROCEDIMIENTO	61
CAPÍTULO IV	67
4.1. PROCEDENCIA DE LA LECHE FRESCA	67
4.2. NIVELES DE AFLATOXINAS M ₁ EN LECHE FRESCA	68
4.2.1. Niveles de Aflatoxina M ₁ en el Mercado Vinocanchón.....	68
4.2.2. Niveles de aflatoxinas M ₁ en el Mercado Rosaspata.....	69
4.2.3. Niveles de aflatoxinas M ₁ en el Mercado Casccaparo.....	70
4.3. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS NIVELES DE AFLATOXINAS M ₁ CON EL CODEX ALIMENTARIUS.....	74

4.4. PARÁMETROS DE LA CALIDAD FISICOQUÍMICA DE LA LECHE FRESCA	76
4.4.1. Determinación de grasa.....	76
4.4.2. Determinación de sólidos no grasos	77
4.4.3. Determinación de densidad	78
4.4.4. Determinación de agua.....	79
4.4.5. Determinación del punto de congelación	80
4.4.6. Determinación de proteínas.....	81
4.4.7. Determinación de lactosa	82
4.5. COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LECHE FRESCA ENTRE LOS MERCADOS CASCCAPARO, ROSASPATA Y VINOCANCHÓN.....	86
4.5.1. Comparación del contenido de grasa	86
4.5.2. Comparación del contenido de solidos no grasos.....	87
4.5.3. Comparación de densidad	88
4.5.4. Comparación del contenido de agua	89
4.5.5. Comparación del punto de congelación.....	90
4.5.6. Comparación del contenido de proteínas.....	91
4.5.7. Comparación del contenido de lactosa	92
CONCLUSIONES.....	93
RECOMENDACIONES.....	95
BIBLIOGRAFÍA.....	96
ANEXOS	111

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1: Clasificación de hongos de importancia médica	22
Tabla N° 2: Características químicas de las aflatoxinas	27
Tabla N° 3: Ventajas y desventajas del método ELISA	31
Tabla N° 4: Producción trimestral de leche según departamento 2021-2023	35
Tabla N° 5: Límites máximos admisibles de concentración de aflatoxinas M1 en leche fresca	37
Tabla N° 6: Parámetros de medida según Lactichack	38
Tabla N° 7: Características fisicoquímicas de leche cruda	41
Tabla N° 8: Dosis de secuestrantes para aflatoxinas	44
Tabla N° 9: Operacionalización de variables implicadas	57
Tabla N° 10: Cuadro de muestreo	59
Tabla N° 11: Etiquetado de la reparación de los reactivos	63
Tabla N° 12: Procedencia de leche fresca expendidas en el Mercado Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad del Cusco	67
Tabla N° 13: Concentración de Aflatoxinas M1 en el Mercado Vinocanchón de la ciudad del Cusco	68
Tabla N° 14: Concentración de Aflatoxinas M1 en el Mercado Rosaspata de la ciudad del Cusco	69
Tabla N° 15: Concentración de aflatoxinas M1 en el Mercado Casccaparo de la ciudad del Cusco	70
Tabla N°16: Comparación de los niveles de aflatoxinas M1 con la normativa establecida por el Codex Alimentarius	74
Tabla N°17: Contenido de grasa en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon	76
Tabla N° 18: Contenido de sólidos no grasos en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon	77
Tabla N° 19: Densidad en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon	78
Tabla N° 20: Contenido de agua en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon	79
Tabla N° 21: Punto de congelación °C en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon	80
Tabla N° 22: Contenido de proteínas en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon	81

Tabla N° 23: Contenido de lactosa en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon _____	82
Tabla N° 24: Resumen comparativo de los parámetros fisicoquímicos en leche fresca expendida en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon _____	84
Tabla N° 25: Cuadro comparativo de los tres mercados analizados con la norma MINAGRI _____	85
Tabla N° 26: Comparación de medias del contenido de grasa en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$) _____	86
Tabla N° 27: Comparación de medias del contenido de sólidos no grasos en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$) _____	87
Tabla N° 28: Comparación de medias de la densidad en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$) _____	88
Tabla N° 29: Comparación de medias del contenido de agua en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$) _____	89
Tabla N° 30: Comparación de medias del punto de congelación en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$) _____	90
Tabla N° 31: Comparación de medias del contenido de proteínas en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$) _____	91
Tabla N° 32: Comparación de medias del contenido de lactosa en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$) _____	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1: Pared celular y estructuras internas de una célula micótica eucariota....	21
Figura N° 2: Estructura química de aflatoxinas B1 y B2	26
Figura N° 3: Estructura química de aflatoxinas G1 y G2	26
Figura N° 4: Estructura química de aflatoxinas M1 y M2.....	27
Figura N° 5: Método de ELISA Directo.....	30
Figura N° 6: Método de ELISA Indirecto	31
Figura N° 7: Producción mensual de leche fresca de vaca, 2021-2023	34
Figura N° 8: Principio de medida Lactichек.....	37
Figura N° 9: Mercado Rosaspata	46
Figura N° 10: Mercado Vinocanchón	47
Figura N° 11: Mercado Casccaparo	48

ÍNDICE DE FLUJOGRAMAS

Flujograma N° 2: Metabolismo de la aflatoxina B1 y producción del Carcinoma Hepatocelular	43
Flujograma N°3: Procedimiento de evaluación de Aflatoxinas M1	65
Flujograma N° 4: Procedimiento de evaluación del análisis fisicoquímico en el equipo LACTICHECK.....	66

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1: Curva estándar de absorbancia.....	64
Gráfico N° 2: Curva estandar de absorbancia de las muestras de leche fresca evaluadas en el mercado Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon de la ciudad del Cusco.....	72

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1: FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	111
ANEXO N° 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LAS COMERCIANTES QUE EXPENDEN LECHE EN LOS MERCADOS DE CASCCAPARO, ROSASPATA Y VINOCANCHON.....	112
ANEXO N° 3: MATRIZ DE CONSISTENCIA	113
ANEXO N° 4: ARCHIVO FOTOGRÁFICO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LECHE	114
ANEXO N° 5: ARCHIVO FOTOGRÁFICO DEL ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO EN EL EQUIPO LACTICHECK	115
ANEXO N° 6: ARCHIVO FOTOGRÁFICO DE LA DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 EN LECHE FRESCA	117
ANEXO N° 7: SOFTWARE RIDASOFT Win. NET UTILIZADO PARA PROCESAR LOS DATOS OBTENIDOS PARA DETERMINAR LOS NIVELES DE AFLATOXINAS	120
ANEXO N° 8: SOFTWARE SPSS VERSION 25 UTILIZADO PARA PROCESAR LOS DATOS OBTENIDOS PARA LOS PARAMETROS FÍSICOQUÍMICOS	121
ANEXO N° 9: SOLICITUD DE ACCESO Y USO DE EQUIPOS DEL LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL	122
ANEXO N° 10: CERTIFICADO DE CONFORMIDAD DEL KIT DE ELISA	123

ABREVIATURAS

AFM1:	Aflatoxina M1
ANOVA:	Análisis de la Varianza
AOAC:	Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (Association of Official Analytical Chemists)
CV:	Coeficiente de Variación
Codex:	Codex Alimentarius
ELISA:	Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
FAO:	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization)
HSD:	Diferencia Honesta Significativa (Honestly Significant Difference)
IC:	Intervalo de Confianza
INACAL:	Instituto Nacional de Calidad (Perú)
INEI:	Instituto Nacional de Estadística e Informática
LMR:	Límite Máximo de Residuo
MRL:	Límite Máximo de Residuos (Maximum Residue Limit)
NMP:	Número Más Probable
OMS:	Organización Mundial de la Salud
SENASA:	Servicio Nacional de Sanidad Agraria
SNG:	Sólidos no grasos
SPSS:	Statistical Package for the Social Sciences
UV:	Ultravioleta
Ppb:	Partes por billón (parts per billion)
µg/L:	Microgramos por Litro

INTRODUCCIÓN

La leche fresca es uno de los alimentos de alto valor nutricional y ampliamente consumido a nivel mundial, siendo fuente esencial de proteínas, calcio, vitaminas y otros micronutrientes (1). Sin embargo, su calidad puede verse comprometida por diversos factores como la presencia de contaminantes químicos, entre ellos las micotoxinas, específicamente las aflatoxinas M_1 que representan un riesgo potencial para la salud humana, ya que son reconocidas por su carácter tóxico, mutagénico y carcinogénico, las cuales representan un riesgo importante para la salud pública (2).

Las aflatoxinas son metabolitos tóxicos producidos por hongos del género *Aspergillus*, especialmente *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, que pueden contaminar alimentos destinados al ganado como el maíz, maní y otros granos. Cuando estos son ingeridos por vacas lecheras, la aflatoxina B_1 se metaboliza en el hígado y se transforma en aflatoxina M_1 , la cual es excretada posteriormente a través de la leche (2). Debido a su resistencia al tratamiento térmico, como la pasteurización y el hervido, esta toxina puede permanecer activa en la leche y sus derivados, incluso después del procesamiento industrial (3). La aflatoxina M_1 es clasificada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como un compuesto posiblemente carcinógeno para los humanos (grupo 2B), y su presencia en alimentos ha sido regulada por diversos organismos internacionales (4).

El Reglamento Sanitario de Alimentos (RSA) en el Perú, establece que la leche fresca debe cumplir con una serie de parámetros fisicoquímicos y microbiológicos, así como con los límites máximos de residuos de micotoxinas para garantizar su inocuidad por lo que establece un límite máximo permitido de aflatoxinas de 0.5 $\mu\text{g/kg}$ para leche destinada al consumo humano (5).

En el Perú especialmente en regiones como Cusco, el expendio de leche fresca en los mercados tradicionales constituye una práctica común dentro del comercio local. Sin embargo, esta modalidad de comercialización suele desarrollarse con limitada supervisión sanitaria, lo que aumenta el riesgo de que el producto no cumpla con los estándares establecidos por el Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). Investigaciones previas han documentado la presencia de leche adulterada y con residuos contaminantes, lo cual representa un riesgo potencial para la salud pública.

En este sentido, además de la detección de AFM₁, el análisis de la calidad fisicoquímica de la leche resulta esencial, no solo para detectar irregularidades como la adición de agua, sino también para verificar su conformidad con parámetros establecidos, tales como densidad, grasa, sólidos no grasos, proteína, lactosa y punto de congelación. La alteración de estos indicadores compromete directamente la inocuidad del producto y representa la calidad baja o alta de la leche.

Ante esta evidencia, la presente investigación se centró en el análisis de muestras de leche fresca recolectadas en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón, ubicados en la ciudad de Cusco. Para ello, se emplearon métodos analíticos estandarizados, como el equipo Lactichack para el análisis fisicoquímico y el Kit ELISA para la detección de aflatoxina M₁. El objetivo principal del estudio fue determinar los niveles de aflatoxina M₁ y evaluar las características fisicoquímicas de la leche comercializada en estos mercados, con el fin de establecer su conformidad con los estándares de calidad e inocuidad alimentaria establecidos por la normativa vigente.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las aflatoxinas son micotoxinas producidas principalmente por el hongo *Aspergillus flavus*, que se desarrollan con mayor frecuencia en semillas oleaginosas (6). Este hongo está distribuido a nivel mundial y puede crecer en un rango de temperatura de 4 °C a 45 °C, mientras que la producción de aflatoxinas ocurre entre 11 °C y 35 °C. Estas toxinas ingresan indirectamente a la cadena alimentaria a través del consumo de productos contaminados. (7)

La leche fresca se adquiere a partir de la crianza del ganado vacuno, los rumiantes al consumir alimentos contaminados como el pienso adquieren la aflatoxina de tipo B₁ que se encuentran con mayor frecuencia en este tipo de alimentos, esta toxina se transforma en el metabolito M₁ mediante un proceso de hidroxilación, el cual es excretado a través de la leche. Por lo tanto, la exposición indirecta a las aflatoxinas es de gran interés para la salud humana y animal porque estas toxinas llegan a contaminar algunos alimentos como la leche, la carne, los huevos, etc. (8).

La leche fresca es uno de los alimentos de mayor preferencia en las familias, debido a su elevado valor nutricional, razón por la cual forma parte esencial de la canasta básica. Asimismo, constituye la materia prima fundamental para la elaboración de diversos productos lácteos destinados al consumo humano, entre los que destacan el yogur, el queso y otros derivados.

La leche y sus derivados lácteos poseen un alto contenido de proteínas de elevado valor biológico, además de ser una fuente importante de micronutrientes como calcio, fósforo, selenio, riboflavina, tiamina, biotina, niacina, piridoxina y vitamina B12, entre otros. Gracias a esta composición, constituyen alimentos esenciales para la salud humana. Por ejemplo, un vaso de leche aporta aproximadamente el 14% de la ingesta diaria recomendada de tiamina, el 50% de riboflavina y cianocobalamina, el 33% de calcio y fósforo, el 25% de ácido pantoténico y cerca del 20% de vitamina A y selenio. (9)

En el ámbito internacional, países como India, Pakistán, Egipto y varios países africanos reportan prevalencias elevadas de Aflatoxinas M1 en leche, vinculadas a deficiencias en la cadena alimentaria y el incumplimiento de algunos parámetros fisicoquímicos (10).

En cambio, en países de la Unión Europea o EE.UU., donde el control de calidad y los sistemas de vigilancia son más estrictas, la frecuencia de detección y los niveles son considerablemente más bajos. Esta situación pone en evidencia la necesidad de fortalecer la legislación, el monitoreo y la capacitación de los productores en países en desarrollo. (11)

En el caso de Perú, si bien se acoge a los límites del Codex, se requiere una actualización normativa más rigurosa, alineada con prácticas preventivas de países con altos estándares, para así proteger a la población vulnerable, especialmente niños, que consumen productos lácteos a diario. En nuestro país, del 45% de leche que se produce a nivel nacional, son destinados a la fabricación artesanal como quesos, yogures y a la venta ambulatoria al “porongueo”, conllevando a una informalidad sanitaria que ocasiona una falta de inocuidad en el alimento. (12)

Una exposición aguda de aflatoxinas en alimentos como la leche generan patologías como: necrosis hepática, hemorragias, falla hepática aguda y edema, mientras que una exposición con niveles bajos de AFM₁ producen trastornos en el proceso de la digestión, absorción e incluso en el metabolismo de nutrientes, también pueden producir cáncer primario de hígado por lo que es de gran relevancia e interés para la salud humana (13).

Bogantes Ledezma, Pilar y sus colaboradores, en su estudio titulado, “Aflatoxinas”, indican que en la experimentación realizada en animales se demostró que estas aflatoxinas producen una toxicidad aguda y crónica. En la cual mencionan como efectos agudos, una necrosis hepática, congestión pulmonar y nefritis, y como efectos crónicos, carcinogenicidad, daño celular, teratogenicidad y mutagenicidad. (14)

El principal problema en los centros de abasto de nuestra ciudad, es la comercialización de la leche fresca de manera informal, sin ningún tipo de licencias mucho menos sin ninguna reglamentación. Generalmente este producto al ser comercializado de forma informal es más económico para el consumidor que los productos lácteos industrializados por lo que esto conlleva a un mayor consumo de productos lácteos artesanales y al mismo tiempo un mayor riesgo de exposición con microorganismos patógenos como las micotoxinas.

Por lo que la finalidad de este estudio es determinar la presencia de aflatoxinas M₁ puesto que la exposición a este hongo genera daños importantes en la salud y más aún en nuestra región que no cuenta con estudios similares, y a partir de ello sea motivo para que las autoridades tomar acciones, aprobar normativas más estrictas y medidas preventivas como la implementación de buenas prácticas agrícolas y la mejora del almacenamiento de granos para así asegurar la calidad total de leche fresca.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuáles son las concentraciones de aflatoxinas tipo M₁ y cuáles son las características fisicoquímicas de la leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2025?

1.3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar aflatoxina M₁ y realizar el análisis fisicoquímico en leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2025.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Identificar la procedencia de la leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2025.
2. Determinar la presencia de aflatoxina M₁ por el método de Kit de Elisa en leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2025.
3. Comparar los valores obtenidos con los valores máximos permisibles de aflatoxinas M₁ establecidos por el Codex Alimentarius en muestras de leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco.
4. Realizar el análisis fisicoquímico de leche fresca por el equipo Lactichack: densidad, grasas, sólidos no grasos, lactosa, agua, proteínas, punto de congelación y comparar con los valores establecidos por el Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI.
5. Comparar los valores de los parámetros fisicoquímicos de la leche fresca entre los mercados Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon.

1.4. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1. JUSTIFICACIÓN TEÓRICA

La leche es considerada como un alimento de gran importancia por su contenido en micro y macronutrientes en la dieta, por lo que es importante su inocuidad ya que una contaminación mínima de la leche con estas aflatoxinas puede provocar graves riesgos para la salud humana sobre todo a la población que lo consume frecuentemente. (15)

En nuestra región existe una información científica escasa respecto a la contaminación por aflatoxinas en derivados lácteos, siendo un peligro de salud en el hombre, puesto que muchos centros poblados de nuestra región producen y comercializan la leche fresca y a partir de ello la producción de muchos derivados lácteos como el yogurt artesanal y el queso que son elaborados artesanalmente sin ser sometidos a controles básicos para su inocuidad, por lo que quedan expuestos a ser contaminados por estas aflatoxinas. Por ello, la presente investigación tiene como propósito evaluar, de manera científica, si la leche expendida en los centros de abasto cumple con los criterios de inocuidad establecidos por el Codex Alimentarius, así como con los parámetros de calidad fisicoquímica determinados por el Ministerio de Agricultura (MINAGRI) para los productos destinados al consumo humano en la ciudad.

1.4.2. JUSTIFICACIÓN PRÁCTICA

La presente investigación tiene una alta relevancia práctica, ya que aborda un problema de salud pública latente en la comercialización de leche fresca en mercados locales. La detección y cuantificación de aflatoxina M1, una micotoxina con potencial carcinogénico, permite conocer el grado de exposición de la población cusqueña a este contaminante alimentario a través del consumo diario de leche.

Los resultados obtenidos podrán ser utilizados como una herramienta técnica por parte de instituciones reguladoras como la Dirección Regional de Salud (DIRESA), el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) y municipalidades, con el fin de fortalecer los controles higiénico-sanitarios en la cadena de producción y comercialización de la leche. De este modo, se contribuye a garantizar la inocuidad alimentaria, alineándose con los objetivos de salud pública y seguridad del consumidor.

Asimismo, este estudio aporta información útil para los productores lecheros y comerciantes, ya que les permitirá identificar los riesgos asociados al manejo inadecuado de los piensos contaminados con *Aspergillus flavus* o *Aspergillus parasiticus*, principales fuentes de aflatoxinas. De esta forma, se impulsa la mejora en prácticas de alimentación del ganado y almacenamiento, lo cual repercute positivamente en la calidad del producto final.

Por otro lado, el análisis fisicoquímico complementario de la leche permite conocer si las características del producto cumplen con los estándares establecidos por la normativa nacional (MINAGRI), lo cual es esencial para asegurar la competitividad y aceptación del producto en el mercado formal.

En resumen, esta investigación no solo aporta evidencia científica sobre la presencia de aflatoxinas M₁ en leche de consumo local, sino que también ofrece bases prácticas para la toma de decisiones en políticas sanitarias, educación alimentaria, mejora de la producción pecuaria y protección de la salud de los consumidores.

1.4.3. JUSTIFICACIÓN METODOLÓGICA

La presente investigación se justifica metodológicamente en la necesidad de aplicar técnicas validadas y confiables que aseguren la objetividad de los resultados sobre la calidad sanitaria de la leche fresca expendida en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad del Cusco, con énfasis en la detección de aflatoxina M₁, una micotoxina clasificada como potencialmente cancerígena para los humanos (grupo 1) por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) (16). Para ello, se adoptó un enfoque cuantitativo con diseño descriptivo y comparativo, apropiado para caracterizar los niveles de aflatoxina M₁ y los parámetros fisicoquímicos, estableciendo diferencias entre los mercados evaluados (17).

La detección de aflatoxina M₁ se realizó mediante la técnica inmunoenzimática ELISA, reconocida internacionalmente por su alta sensibilidad, especificidad y rapidez en matrices alimentarias (18). En el análisis fisicoquímico se emplearon los métodos estandarizados del Ministerio de Agricultura y Riego del Perú (MINAGRI) (19), garantizando la comparabilidad de los resultados con los límites normativos nacionales. De esta manera, la elección metodológica responde al propósito de obtener resultados rigurosos y reproducibles que puedan servir como base técnica para reforzar las políticas de inocuidad alimentaria y proteger la salud de los consumidores.

1.5. LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

- ❖ La falta de acceso a equipos de laboratorio de la Universidad, ya que todos estaban en mantenimiento, por lo que tuvimos que solicitar a la Facultad de Zootecnia para tener acceso a los equipos lo cual aplazó el tiempo.
- ❖ Escasa disponibilidad de antecedentes locales y regionales relacionados con la determinación de aflatoxina M1 en leche fresca. La mayoría de los estudios consultados provienen de contextos internacionales. Los estudios encontrados usaron una muestra distinta como granos y maíz.

1.6. HIPÓTESIS GENERAL

Existe presencia de aflatoxina M1 y no se cumplen con los parámetros de control de calidad fisicoquímica establecidos por el MINAGRI en la leche fresca, que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad del Cusco, 2025.

CAPÍTULO II

MARCO CONCEPTUAL

2.1. VISIÓN HISTÓRICA

La aflatoxina M₁ es un metabolito de la aflatoxina B₁ que se encuentra en la leche como resultado del consumo de alimentos contaminados por aflatoxinas B₁ por parte de las vacas. La historia de las aflatoxinas M₁ se enmarca dentro del contexto más amplio del descubrimiento y la comprensión de las aflatoxinas como contaminantes alimentarios. (20).

En el año 1960, se alertó un brote de intoxicación masiva en el Reino Unido, conocido como el “Turkey X disease”, que causó la muerte de más de 100,000 pavos. Posteriormente se identificó que el alimento contaminado contenía aflatoxinas, producidas por *Aspergillus flavus*. Este episodio marcó el inicio del estudio de las aflatoxinas M₁. (20)

Sin embargo, ya en el año 1967 fue identificada como un metabolito hidroxilado de la aflatoxina B₁ que eran excretados por la leche de animales que consumían piensos contaminados con aflatoxina B₁. Esta presencia fue confirmada tanto en leches como en sus derivados (quesos y yogures). (20)

Durante los años 1970 y 1980 se realizaron diversos estudios en animales de laboratorio en las cuales se demostraron que la aflatoxina M₁ posee actividad mutagénica, teratogénica y carcinogénica. En 1993, el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC) clasificó a la aflatoxina M₁ como posible carcinógeno humano (Grupo 2B) y en el año 2002, fue reclasificada como carcinógeno humano (Grupo 1). (21)

Con base a las evidencias toxicológicas demostradas, durante los años 1990 a 2000 se establecieron regulaciones internacionales como la FAO y la OMS, a través del Codex Alimentarius, establecieron límites máximos permisibles de aflatoxinas M₁ en leche líquida y productos lácteos (0.5 µg/kg) o (50 ng/kg) orientadas a minimizar la exposición humana, especialmente en niños que es el grupo más vulnerable. (22)

Con ayuda de los avances tecnológicos, se desarrollaron métodos sensibles y específicos para la detección de AFM₁, como: Elisa competitivo, Cromatografía líquida de alta resolución con detección por fluorescencia (HPLC-FLD), Espectrometría de masas acoplada a HPLC (LC-MS/MS). Estas herramientas han permitido un monitoreo eficiente en programas de control de calidad y seguridad alimentaria en diversos países como en nuestro país, Perú. (23)

2.2. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

2.2.1. ANTECEDENTES INTERNACIONALES

Moradzadeh M, Nourani MR, Shahbazi G. Estudio estacional de la contaminación por aflatoxina M1 en leche de vaca del mercado minorista en Gorgan, Irán, 2023.

El trabajo de investigación tuvo como **objetivo**, evaluar la presencia de aflatoxina M1 en leche cruda de vaca expendida en mercados minoristas de Gorgan y analizar la variación estacional de sus niveles. En cuanto a su **metodología** utilizaron la técnica de ELISA competitiva para la cuantificación de aflatoxina M1 para el cual se recolectaron 180 muestras de leche durante las cuatro estaciones del año. Obteniendo como **resultados** un 77,2 % de las muestras contaminadas por aflatoxinas M1, con concentraciones que oscilaron entre 3,5 y 357 ng/L. Una parte de las muestras superó los límites establecidos por la Unión Europea (50 ng/L) y la norma nacional INSO (100 ng/L), aunque ninguna excedió el límite máximo de la FDA (500 ng/L). Se observó además una variación significativa según la estación, registrándose niveles más altos en invierno y primavera. Llegando a la **conclusión** que la contaminación de leche cruda con aflatoxina M1 en Gorgan es elevada y presenta variaciones estacionales, lo que evidencia la necesidad de fortalecer los sistemas de control y vigilancia de micotoxinas en productos lácteos para proteger la salud del consumidor (24).

Tarazona Manrique L, Andrade Becerra J, Vargas Abella C. Frecuencia de la contaminación de leche cruda de vaca por aflatoxina M1 en tanques de enfriamiento en Boyacá, Colombia, 2022.

Este estudio tuvo como **objetivo**, determinar la frecuencia y las concentraciones de aflatoxinas M1 en muestras de leche cruda de vacas que se encuentran almacenadas en tanques de enfriamiento en el departamento de Boyacá durante un año, donde el estudio fue longitudinal, descriptivo cuantitativo, para la **metodología** se utilizó el instrumento Rapid One Step Assay (ROSA) y el análisis de varianza (ANOVA) para establecer las diferencias estadísticas en cada trimestre del año. Obteniendo como **resultados** que 135 muestras dieron positivas a la contaminación por aflatoxinas M1 de un total de 384 muestras, con un valor de 2,4 µg/kg en época seca y 1,4 µg/kg en época de lluvias. Llegando a la **conclusión** que se encontraron mayor concentración de aflatoxinas M1 en época seca en comparación a las demás estaciones. (25)

Arrúa A, Arrua D, Ulke G, et al. Presencia de aflatoxina M₁ en fórmulas lácteas infantiles comercializadas en el área metropolitana a Asunción, Paraguay, 2021.

El trabajo de investigación tuvo como **objetivo** detectar y cuantificar la presencia de aflatoxinas M₁ en fórmulas para lactantes que se comercializan en el Área Metropolitana, para la **metodología** se utilizaron 109 muestras entre fórmulas líquidas y fórmulas lácteas en polvo para lactantes de 0-12 meses y se empleó el **método** de columna de inmunidad ligado a enzimas (ELISA). En los **resultados** se obtuvo un 9.75% contaminados con aflatoxinas M₁ en fórmulas lácteas en polvo de 0-6 meses, mientras que en leches de 6-12 meses un 2%, en cambio, en las fórmulas lácteas fluidas no se obtuvieron resultados significativos. Llegando a la **conclusión** de que encontraron presencia de aflatoxinas en ambas muestras con mayor presencia en fórmulas lácteas en polvo. (26)

Puran M, Hooshyar H, Reza M, Mojtaba L. Prevalencia de aflatoxina M₁ (AFM₁) en productos lácteos convencionales e industriales (yogur, queso, kashk y masa) de Irán: revisión sistemática y metaanálisis, 2021.

El estudio tuvo como **objetivo** revisar la literatura de la aflatoxina más común encontrada en los productos lácteos. La **metodología** más usada fue la prueba más rápida y frecuente, técnica inmunoquímica (ELISA) mientras que la cromatografía en capa fina (TLC) y los métodos cromatográficos (HPLC) se utilizaron como técnicas de confirmación para determinar los niveles de aflatoxina. Llegando a los **resultados** donde la aflatoxina M₁ se puede encontrar en los productos lácteos con un porcentaje de prevalencia de 63,53 (intervalo de confianza [IC] del 95 %: 56,28-70,78) y 54,05 (IC del 95 %: 43,09-65). En cuanto a la muestra y al proceso de producción se obtuvo mayor prevalencia de aflatoxina M₁ en un 73,96 (IC 95%: 60,27-87,66) en yogures y 69,91 (IC 95%: 62,00-78,83) en producción industrial. Obteniendo como resultado, aflatoxina M₁ en un 17,8% en el queso, un 14% en yogurt, un 12,63% en kashk y un 2,1% en doogh y todos superaban los límites permisibles de las normas. Llegando a la **conclusión** que el 88,89% de los productos lácteos estaban contaminados por aflatoxinas M₁ y superaban los límites permisibles al igual que el doogh con 1% de aflatoxinas M₁. (27)

Muhammad S, Hamid A, Kanwal R, y Kanwal I. Prevalencia de contaminación de aflatoxina M1 en la leche: un análisis retrospectivo de estudios realizados en Pakistán, 2021.

El estudio tuvo como **objetivo** averiguar la prevalencia de aflatoxina M1 en leche de Pakistán, según su **metodología** se realizaron búsquedas en varias bases de datos desde el año 2007 hasta el 2020 y se aplicó un modelo de efectos aleatorios con fines analíticos y se investigó la heterogeneidad de los estudios seleccionados, para el cual se utilizó un metaanálisis completo versión 3. Obteniendo **resultados** donde la prevalencia de aflatoxinas M1 en la leche fue del 84,4 % (IC 95 % 75,0–90,7 %). En cuanto a la heterogeneidad basada en meta regresión, se ha observado que hubo una diferencia significativa entre el efecto del año de estudio y tamaño de muestra con prevalencia de aflatoxinas M1 en leche animal. Llegando a la **conclusión** que la contaminación por aflatoxinas M1 en leche animal en Pakistan es alta. Por lo que, es importante realizar un monitoreo continuo de aflatoxinas M1 en la leche animal por parte de las autoridades reguladoras de alimentos y medicamentos de Pakistan de modo que se deben tomar acciones estrictas y medidas preventivas para evitar la prevalencia de la exposición a AFM 1 en leche animal. (28)

Puga Torres B, Salazar D, Cachiguango M, Cisneros G, Gómez-Bravo C. Determinación de aflatoxina M1 en leche cruda de diferentes provincias del Ecuador, 2020.

El estudio tuvo como **objetivo** determinar su presencia de aflatoxinas M1 en leche cruda del centro-norte de Ecuador, constituido por las provincias de Pichincha, Manabí y Santo Domingo de los Tsáchilas. Para su **metodología** se recolectaron un total de 209 muestras de leche cruda, obtenidas tanto durante la temporada seca (junio y agosto) y lluvias (abril y noviembre) para el cual se utilizó el ensayo inmunocromatográfico de flujo lateral. Obteniendo como **resultados** que el 100% de las muestras fueron positivas para esta micotoxina, presentando un valor medio de 0,0774 µg/kg con un rango de 0,023 a 0,751 µg/kg. Estos niveles de AFM1 excedieron el límite regulatorio de la Unión Europea de 0,05 µg/kg en el 59,3% (124/209) de las muestras, mientras que solo el 1,9% (4/209) excedió el límite legal ecuatoriano de 0,5 µg/kg. Mediante pruebas no paramétricas, se determinaron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las provincias para los meses de estudio, la época climática (siendo mayor en la época seca) y la región climática (mayor en la región costa).

Llegando a la **conclusión** que la contaminación por AFM1 en leche cruda no representa un problema grave de salud pública en Ecuador, pero se debe desarrollar un programa de monitoreo y vigilancia de esta micotoxina en la leche para prevenir problemas de salud al consumidor. (29)

Nourin T, Meher N, Suvra D, Sahana P. Detección de aflatoxina M1 por ELISA en leche cruda y procesada en Bangladesh, 2020.

El **objetivo** fue determinar la presencia de aflatoxinas M1 en leche cruda y procesada. Se aplicó la **metodología** de ELISA con el cual se realizó un análisis para obtener información sobre la presencia de aflatoxina M1 altamente tóxica y cancerígena en muestras de leche cruda y procesada para el cual se trabajó con 100 muestras tomadas de diferentes granjas regionales. Obteniendo **resultados** donde el 75 % de las muestras contaminadas estaban por encima de los límites prescritos por las Comunidades Europeas (50 ng/kg), mientras que el 25 % de las muestras seguían por debajo de este límite y el 43 % superan el límite permisible por las normas de la Comisión del Codex Alimentarius EE. UU. (500 ng/kg) de las cuales un 70% de leche cruda se encuentra contaminada en aflatoxina M1 con 22,79 a 1489,28 ng/kg, un 52% en leche pasteurizada con 18,11 a 672,18 ng/kg y un 20% en leche tratada a temperatura ultra alta en 25,07 y 48,95 ng/kg. Llegando a la **conclusión** donde se reflejó un alto nivel de aflatoxina M1 en muestras de leche cruda y procesada por lo que es necesaria una permanente vigilancia y establecer normas más estrictas para estas micotoxinas. (30)

Landeros P, Noa M, López Y, et al. Niveles de aflatoxina M1 en leche cruda y pasteurizada comercializada en la zona metropolitana de Guadalajara, México, 2018.

El **objetivo** fue determinar los niveles de aflatoxinas M1 en dos tipos de muestras, leche cruda y pasteurizada. Se utilizó el **método** ELISA competitivo- directo para el cual se utilizó 10 centros de acopio para leche fresca y 7 marcas de leche pasteurizada y el análisis estadístico mediante ANOVA con programa Sigma Stat 3.0. los **resultados** muestran que se detectó una contaminación por aflatoxinas M1 en un 100% con niveles en el rango de < 0.005 a 0.100 µg/L y de < 0.005 a 0.637 µg/L en leche cruda y pasteurizada respectivamente. El 18.6 % de las muestras superaron el LMR establecido por la Unión Europea (0.05 µg/kg), presentándose porcentajes en leches cruda y pasteurizada de 0.7% y 17.9% respectivamente, pero sólo el 0.7 % excedió el límite de AFM1 establecido para México en la NOM-243-SSA1-2010, que es de 0.5 µg/kg.

Llegando a la **conclusión** que se encontró una contaminación por aflatoxinas en ambas muestras, pero solo un 0.7% supera los límites permisibles establecidos por el Codex Alimentarius (31).

2.2.2. ANTECEDENTES NACIONALES

Salazar Rodríguez I. Niveles de aflatoxina en alimentos y leche cruda en establos de crianza intensiva de la costa del Perú, 2023.

El trabajo de investigación tuvo como **objetivo** evaluar la situación actual de contaminación con aflatoxinas y a partir de ello establecer diversas estrategias para disminuir la contaminación por estas micotoxinas, para su **metodología** se evaluaron 529 muestras de leche y 235 en alimentos durante un año, se utilizó un método cuantitativo de aflatoxina M1 Charm® MRL. En los **resultados** se mostró que el 16% del total de muestras excedieron el límite permisible establecido por la legislación europea. Llegando a la **conclusión** que el mes de diciembre se encontró una mayor contaminación por aflatoxinas que excedieron el límite permisible en comparación a los otros meses del año. (32)

Otero Chafalote L. Determinación de aflatoxina M1 en leche fresca de vaca procedente de establos de crianza intensiva del distrito de Lurín, región Lima, 2021.

El estudio tuvo como **objetivo** determinar la presencia de aflatoxina M1 en leche fresca de vaca procedente de los establos del distrito de Lurín. La **metodología** de dicho estudio se realizó mediante el test de Elisa BioShield M1 que cuenta con un lector de placas con filtro de 450 nm y el software Prognosis Data Reader, para el cual se utilizaron 39 muestras de trece establos diferentes. En los **resultados** se evidenció que existe presencia de aflatoxinas M1 en un 48.7% (19/39) cuyos valores se encuentran en un rango de 0.002-0.043 µg/l. Llegando a la **conclusión** que las leches frescas evaluadas en el estudio se encuentran dentro de los límites permisibles establecidos por el Codex Alimentarius (0.5 µg/l). (33)

Huaracha G. Determinación de *Aspergillus spp.* y aflatoxinas en alimentos destinados al consumo de bovinos (*Bos taurus*) y aflatoxina M1 en leche provenientes de la asociación Fongal, Moquegua, 2021.

El **objetivo** del estudio fue determinar la presencia de del hongo *Aspergillus spp* y aflatoxinas totales en muestras de ensilado de maíz y pienso, así como también la determinación de AFM1 en leche. Para dicho estudio la **metodología** que se utilizó fue la técnica de Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas (ELISA). En los **resultados** se evidenció una contaminación con aflatoxinas en maíz 5,69 a 22,79 µg/kg mientras que en leche cruda se obtuvo 0,00725 a 0,01195 µg/L pero ambas muestras no superan el límite permisible establecido por la normativa. Llegando a la **conclusión** de que no existe contaminación por aflatoxinas en ambas muestras. (34).

Arce Gonzales E, Fernández-Herrera F, Vásquez Requena A, Sessarego Dávila JA. Evaluación de la calidad de leche en una asociación de pequeños ganaderos en la sierra norte de Lima - Perú, 2022

El estudio tuvo como **objetivo** evaluar la calidad fisicoquímica de leche del ganado bovino criollo y determinar si cumple las exigencias de la Norma Técnica Peruana NTP 202.001:2016. La **metodología** del estudio se realizó en el ganado de la Asociación de Ganaderos Los Molinos, que se ubica en el distrito de Gorgor, Lima - Perú. Se tomaron seis muestras de leche semanales durante dos meses. Los datos se analizaron mediante la estadística descriptiva, con el programa Minitab v.18. Teniendo como **resultados** valores de densidad 1,029 g/mL; Temperatura 15,245; Punto de congelación -0,00±,0093 °C, Grasa 3,549, SNG 8,8113 g/100; Proteína 3,298%, Lactosa 4,209, Aguado leche 0,061, Solidos totales 12,356%. Teniendo como **conclusiones** que la leche de vaca producida en la asociación Los Molinos - distrito Gorgor, cumple con las exigencias de la Norma Técnica Peruana (35).

Brousett-Minaya M, Torres Jiménez A, Chambi Rodríguez A, Mamani Villalba B, Gutiérrez Samata H. Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche cruda en las cuencas ganaderas de la región Puno - Perú, 2017.

El **objetivo** del fue evaluar la calidad de la leche cruda en cuanto a sus propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y toxicológicas, en siete cuencas representativas de la región Puno. El estudio se realizó en los meses de agosto y setiembre (época seca) del 2014. Para determinar el extracto seco total o sólidos totales por el **método** de estufa modificado AOAC 925.23, el porcentaje de proteínas por el método de Kjeldahl AOAC 928.08, la densidad de la leche se determinó con un lactodensímetro QUEVENNE graduado, AOAC 925.22, el pH y la temperatura fue determinada por potenciómetro HANNA HI 98129, el contenido de grasa y lactosa se determinó mediante un medidor ultrasónico Lactoscan MCC. En los **resultados** se obtuvo los promedios de densidad 1.029 g/mL, SNG 8.14%, Sólidos totales 12.40%, Grasa 3.31%, Proteína 3.0% y Lactosa 4.49% estos valores fueron comparados con los estándares establecidos en la Norma Técnica Peruana para leche y productos lácteos NTP 200.001-2003 y con la Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2012 para los parámetros de proteína y lactosa en ausencia de parámetros peruanos. Llegando a la **conclusión** que el análisis fisicoquímico de la leche en las cuencas estudiadas mostró que el 50% contiene baja proteína y guardan relación con el bajo porcentaje de lactosa, asimismo, se observó que los altos niveles de proteína coincidieron con una mayor concentración de sólidos totales y con una mayor densidad. La acidez presentada en la mayoría de cuencas sobrepasa la NTP 201.001.2003 que tiene relación directa con el pH por lo que se concluye que la mayoría de las cuencas lecheras se encuentran dentro de los estándares de las normativas vigentes peruanas (36)

2.2.3. ANTECEDENTES LOCALES

Condori Nina E. Análisis fisicoquímico y microbiológico de la leche de vacuno acopiada en la planta procesadora de lácteos “Túpac Amaru”, distrito de Túpac Amaru – Cusco, 2022.

El trabajo de investigación tuvo como **objetivo** analizar las características fisicoquímicas y microbiológicas de la leche de vacuno acopiada en la planta quesera de “Túpac Amaru”, distrito de Túpac Amaru - provincia Canas - región Cusco. Para su **metodología**, los análisis se realizaron mediante un Analizador ultrasónico “Lacti-check”. Obteniendo como **resultados** una acidez de 0.16%; densidad 1.029 g/ml; pH 6.51; punto de congelación -0.568°C. Asimismo la composición química: grasa 3.65%; sólidos no grasos 8.73%; proteína 3.24%; lactosa 4.84 %; dichos valores obtenidos se califican como aceptables por la (NTP -2017) y agua añadida en un 4.67%. Se identificó como positivo a: *Echerichia. Coli* en un 26.09% y *Staphylococcus spp* en un 67% de las muestras de leche. Llegando a la **conclusión** de que existe una deficiente calidad higiénica relacionada a las prácticas de ordeño, conservación y traslado de la leche, además existen proveedores que venden leche adulterada con agua, lo que implica los bajos rendimientos en la producción de quesos afectando la calidad e inocuidad de la leche cruda. (37)

Romero Pumahualca R. Cuantificación de aflatoxinas totales en harina de maíz que se expende en tres mercados de la ciudad del Cusco-Perú, 2021.

El **objetivo** del estudio fue cuantificar las aflatoxinas totales y su correlación de mohos con la humedad y el pH, y la concentración de aflatoxinas totales con la humedad y el pH para el cual se utilizaron 36 muestras de maíz y se utilizó el **método** de ELISA, para la determinación de mohos UFC/g, para la humedad el método gravimétrico y el potenciómetro para el pH. Obteniendo como **resultados** que el 92% de las muestras se encuentran dentro de los límites permisibles, llegando a la **conclusión** de que el maíz se encontraron aflatoxinas dentro de los parámetros establecidos y no existe una correlación significativa entre aflatoxinas totales y recuento de mohos con el pH y la humedad. (38)

Huillca Cutire, R. Determinación de calidad físico - química de la leche cruda en época de lluvia en el centro poblado Urinsaya Ccollana - Layo, Cusco, 2020.

El trabajo de investigación tuvo como **objetivo** determinar el análisis fisicoquímico en leche cruda mediante el uso de equipo Lactoscan, en el Centro Poblado Urinsaya Ccollana – Layo, en época de lluvia, para su **metodología** la evaluación se ha realizado en época de lluvia enero, febrero y marzo, se evaluaron 54 muestras por mes y para el análisis de los datos se utilizó un diseño estadístico completamente aleatorio o aleatorizado el cual se ha realizado en Excel. Los **resultados** muestran que en época de lluvia se obtuvo los promedios, para grasa 3,58 % sólidos no grasos 8,01 %; lactosa 4,56 %; sólidos totales 11,59 %; proteína total 2,89 %; densidad 1,029 g/ml; pH 6,65. Comparando los parámetros físico - que exige el MINAGRI, cumple el 80 % con 6 parámetros exigidos y no fueron cumplidos el 20 % con 2 parámetros. Llegando a la **conclusión** de que las propiedades que están dentro de los parámetros permisibles son como la densidad con 1,029 g/cm³ pH 6,65, grasa con un porcentaje de 3,58 %, proteína 2,89 %, sólidos totales 11,59 %, mientras que 2 propiedades están por fuera del estándar exigido, como sólidos no grasos con un promedio de 8,01 % y lactosa con 4,56 %. (39)

2.3. ESTADO DEL ARTE

La contaminación de la leche fresca con AFM1 implica una preocupación creciente para la salud pública, principalmente en países en desarrollo. La aflatoxina M1 es un metabolito hidroxilado de la aflatoxina B1 (AFB1), que es ingerida por los animales por consumir alimento contaminados con hongos del género *Aspergillus* para luego ser excretada en la leche. Si bien es cierto que las AFM1 tienen una menor toxicidad que las aflatoxinas B1, las AFM1 muestran propiedades mutagénicas, genotóxicas y carcinogénicas, que están clasificada por la IARC como un posible carcinógeno humano (Grupo 2B). (21)

Muchos estudios realizados en América Latina han determinado niveles de AFM1 superiores a los límites permisibles establecidos por organismos internacionales como el Codex Alimentarius (0.5 µg/kg) y la Unión Europea (0.05 µg/L). Los estudios realizados especialmente en zonas rurales y con escasa supervisión sanitaria demuestran niveles de aflatoxinas superiores a los establecidos en la normativa, así como también no se cumple con los parámetros fisicoquímicos establecidos por MINAGRI. (22)

Durante años se han utilizado diversas técnicas para la detección de AFM1 como, ELISA competitivo, HPLC y LC-MS/MS. Aunque los métodos inmuno enzimáticos son adecuados para tamizajes a gran escala, estudios han señalado la necesidad de confirmaciones mediante técnicas cromatográficas más precisas. Paralelamente, investigaciones recientes apuntan al desarrollo de biosensores y métodos de detección rápida para facilitar la vigilancia en campo y de esa manera asegurar la inocuidad del producto. (40)

En la actualidad, el Instituto Nacional del Cáncer (NIH 2023) indica que las personas pueden infectarse por aflatoxinas cuando consumen productos contaminados, como los productos lácteos, una vez ingresadas al organismo las aflatoxinas pueden actuar como carcinógenos potentes atacando a cualquier órgano o sistema principalmente al hígado y el riñón. Por tal motivo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) en conjunto con la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer (WHO-IARC, por sus siglas en inglés) lo clasifican dentro del grupo 1. (41)

Sin embargo, pese a la evidencia acumulada, existen importantes vacíos de conocimiento. En el caso de Perú, por ejemplo, son escasos los estudios que relacionan la presencia de AFM1 y en nuestra ciudad la mayoría de investigaciones solo se centran en el análisis químico, dejando de lado enfoques integradores que aborden la cadena de producción láctea desde una perspectiva preventiva.

En este contexto, la presente investigación busca aportar una evidencia local sobre la presencia de AFM1 en leche fresca dado que no se cumplen con los parámetros establecidos por MINAGRI (parámetros fisicoquímicos) y Codex Alimentarius (concentración de aflatoxinas M1), y dar a conocer los niveles reales de contaminación de la leche fresca, servirá de base para futuras regulaciones y sobre todo alertar a la población de Cusco sobre la presencia de estas aflatoxinas M1 debido a los posibles riesgos que puedan ocasionar en la salud humana si el consumo es continuo y por un tiempo prolongado.

2.4. BASES TEÓRICO CIENTÍFICAS

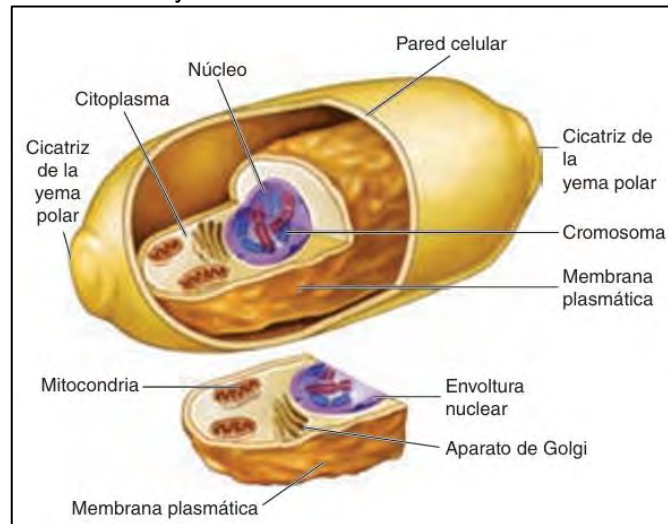
2.4.1. HONGOS

Los hongos son organismos eucariotas con una complejidad biológica mayor en comparación con las bacterias. Pueden presentarse como organismos unicelulares o como formas multicelulares, originadas por la diferenciación y el crecimiento de filamentos ramificados. Su reproducción ocurre mediante procesos tanto sexuales como asexuales. A pesar de que se conocen más de 200 000 especies de hongos, solo una pequeña proporción (menos de 200) ha sido identificada como causante de enfermedades en los seres humanos, como las micosis. (42)

1. Estructura de los hongos

Los hongos poseen características propias de las células eucariotas, como un núcleo definido que alberga nucléolo, membrana nuclear y cromosomas lineales. Su citoplasma incluye un citoesqueleto constituido por microfilamentos de actina y microtúbulos formados por tubulina. Asimismo, presentan ribosomas y diversos organelos celulares, entre los que se encuentran las mitocondrias, el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi. En la mayoría de los casos, los hongos se encuentran en estado haploide, aunque durante la reproducción sexual se origina un núcleo diploide mediante la fusión de núcleos. (42)

Figura N° 1: Pared celular y estructuras internas de una célula micótica eucariota.



Fuente: Ryan J, Ray G. Sherris. Microbiología médica. (42)

2. Metabolismo de los hongos

Los hongos poseen un metabolismo de tipo heterótrofo y utilizan compuestos orgánicos del medio como fuente externa de carbono. La mayoría de las especies fúngicas se desarrollan a partir de fuentes de carbono orgánico y emplean amonio o nitratos como fuente de nitrógeno. En general, requieren oxígeno para su crecimiento, aunque algunas especies pueden desarrollarse en condiciones anaerobias; no obstante, estas no son patógenas para el ser humano. (42)

3. Reproducción de los hongos

Los hongos pueden reproducirse por procesos sexuales o asexuales.

La reproducción asexual, denominada fase anamorfa, se lleva a cabo mediante la formación de conidias, las cuales funcionan como unidades reproductivas. Durante este proceso, el núcleo haploide se divide por mitosis, originando conidias de aspecto esporulado que se producen por gemación o por la fragmentación de las hifas. (42)

La reproducción sexual corresponde a la fase teleomorfa y se caracteriza por la producción de esporas sexuales, como ascosporas, zigosporas y basidiosporas. En este mecanismo, los núcleos haploides de las células participantes se fusionan para formar un núcleo diploide, que posteriormente experimenta meiosis.

Como resultado, se generan núcleos haploides, algunos de los cuales pueden presentar recombinación genética y sufrir divisiones mitóticas adicionales. (42)

4. Clasificación de los hongos

La clasificación de los hongos de importancia médica se basa en los tipos de tejidos que parasitan y las enfermedades que producen. (42)

Tabla N° 1: Clasificación de hongos de importancia médica

GÉNERO	CRECIMIENTO TÍPICO	TABIFICACIÓN ^a	FORMA SEXUAL	DIVISIÓN	CLASIFICACIÓN MÉDICA
<i>Aspergillus</i>	Moho	+	?	Ascomycota	Oportunista
<i>Blastomyces</i>	Dimórfico	+	?	Ascomycota	Sistémica
<i>Candida</i>	Dimórfico	+	?	Ascomycota	Oportunista
<i>Coccidioides</i>	Dimórfico	+	?	Ascomycota	Sistémica
<i>Cryptococcus</i>	Levadura		+	Basidiomycota	Sistémica
<i>Epidermophyton</i>	Moho	+	+	Ascomycota	Superficial
<i>Histoplasma</i>	Dimórfico	+	+	Ascomycota	Sistémica
<i>Microsporum</i>	Moho	+	+	Ascomycota	Superficial
<i>Mucor</i>	Moho	—	+	Zygomycota	Oportunista
<i>Pneumocystis</i>	Quistes ^b		?	Ascomycota	Oportunista
<i>Rhizopus</i>	Moho	—	+	Zygomycota	Oportunista
<i>Sporothrix</i>	Dimórfico	+	?	Ascomycota	Subcutánea
<i>Trichophyton</i>	Moho	+	+	Ascomycota	Superficial

Fuente: Ryan J, Ray G. Sherris. Microbiología médica. (42)

2.4.2. MICOTOXINAS

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por ciertas cepas de hongos que se producen cuando han infestado productos agrícolas como cereales o frutos secos. Las especies más relevantes pertenecen a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Fusarium*. (43)

La FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) estima que el 25% de las cosechas mundiales de granos se encuentran infectados por hongos toxicogénicos. (43)

La producción de las micotoxinas es afectada por factores extrínsecos (temperatura y humedad relativa) y factores intrínsecos (humedad, nutrientes, pH y acidez). Dentro de los principales grupos de micotoxinas se encuentran las aflatoxinas que se destacan por su elevada toxicidad a nivel hepático. También se encuentran las ocratoxinas, que afectan principalmente a los riñones, la zearelonona, las fumonisinas, el deoxivalenol, los tricotecenos, etc. (43)

2.4.3. ORIGEN DE LAS AFLATOXINAS

El estudio de aflatoxinas inicio a principios del año 1960 en el país de Inglaterra, en la cual se reportó que un total de 100 000 pavos fallecieron sin ninguna enfermedad y etiología conocida que se produjo después de haber sido alimentados con harina de maní de origen brasileño (20).

En el año 1961 el científico veterinario William Percy Blount llevó a cabo una profunda investigación concluyendo que muchos de los pavos tenían entre 4 y 6 semanas de edad y el resto 10 y 16 semanas, observando que los pavos afectados naturalmente buscaban el calor de sus criadores y luego, debido a la debilidad se hundían en el suelo y se adormecían muriendo entre las 24 y 48 horas. (20).

Blount demostró una relación causal entre la toxicidad de los alimentos, la harina de maní y la enfermedad, descubriendo con exactitud síntomas como las lesiones hepáticas a la vez excluyendo que la enfermedad sea la causa de los agentes infecciosos, así también, excluyendo a las sustancias tóxicas que se encuentran comúnmente en los alimentos de las aves como elementos tóxicos, pesticidas, glucósidos, alcaloides, fitotoxinas naturales, etc. Aunque sus esfuerzos no condujeron a la identificación de un factor causal, proporcionó una base sólida para que los científicos posteriores (20).

Unos meses después, se volvió a reportar un caso similar en Kenya indicando la muerte de varios patos. Al mismo tiempo se reportaba el fallecimiento de truchas arcoíris en diversos criaderos de Estados Unidos y Europa (14). Y en Londres, continuaba la muerte de pavos en granjas consecuencia de una alimentación previa de cacahuete de origen brasileño. Más adelante se comprobó que el principal sospechoso era la harina de maní mediante pruebas de examen de post mortem en patitos, pollos, faisanes jóvenes, ganado, ratas y cerdos, encontrándose como principal daño las lesiones hepáticas. Luego de varios estudios a finales del año 1960 se sospecha que la causa podría ser una toxina y en el año 1961 se identificó como moho contaminante al *Aspergillus flavus* (20).

2.4.4. AFLATOXINAS

Las aflatoxinas son compuestos orgánicos que se producen por hongos toxigénicos y especialmente de los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. (44) “Micotoxina” proviene de la palabra griega “mycos” que en español significa hongo y de la palabra latín “toxicum”, que significa tóxico o veneno. (45)

Las aflatoxinas son productos químicos altamente tóxicos que se producen por una serie de especies de hongos y mohos que tienen la capacidad de infestar durante o después de la cosecha. Los productos frecuentemente afectados por estas micotoxinas son: las nueces, los cereales, el cacao, el café, frutas como la manzana y semillas de oleaginosas, también tienen la capacidad de ingresar a la cadena alimenticia e infestar algunos alimentos como el huevo, la carne, el queso y la leche producto de una alimentación de los rumiantes con piensos contaminados. (45)

2.4.5. CLASIFICACIÓN DE AFLATOXINAS

Existen al menos 20 tipos de aflatoxinas, siendo las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 las más comunes en productos de granos, cereales y frutos secos, mientras que las aflatoxinas M1 y M2 son producto de metabolización de las aflatoxinas B1 y B2 que son secretados en la leche y orina de los rumiantes que son alimentados con piensos contaminados. (46)

Las aflatoxinas están clasificadas de acuerdo a la estructura química que poseen y se dividen en dos grandes grupos:

Primer grupo difuro-cumaro-ciclo-pentanonas: En este grupo se encuentran las aflatoxinas B₁, B₂, B_{2A}, M₁, M₂, M_{2A} y Aflatoxicol.

Segundo grupo: Está conformado por aflatoxinas G₁, G₂, G_{2A}, GM₁, GM₂, GM_{2A} y B₃. (47)

- **La aflatoxina B**

Es un contaminante común de climas tropicales y subtropicales presente en alimentos almacenados como: maní, pistachos, arroz, maíz, etc. Esta aflatoxina es el metabolito más tóxico, su efecto se produce en el desarrollo del feto, produciendo un rápido desarrollo de cáncer ocasionando unos cambios inesperados en los genes, el cual genera mutación específicamente en el codón 249 del gen supresor P53. (48)

- **Las aflatoxinas M1**

Este tipo de aflatoxina se originan a través del metabolismo de la aflatoxina B1 provenientes del forraje contaminados con estas aflatoxinas de las vacas, siendo responsable de la contaminación en alimentos proveniente de estos animales, esta micotoxina tiene un efecto hepatotóxico agudo, también con efecto carcinogénico, mutagénico y teratógeno. Existen diversos estudios sobre la presencia de AFM1 en productos lácteos como queso, leches, helados, yogures y entre otros, mostrando el riesgo que pueden producir en la salud con el consumo de dichos alimentos, así también se demuestra que los procesos de pasteurización y esterilización pueden inactivar estas micotoxinas. En comparación con la AFB1 las AFM1 son menos carcinogénicas y mutagénicas, pero poseen una alta actividad genotóxica en los animales.

Esta micotoxina tiene presencia en leches pasteurizadas, en polvo, leche tratada y otros derivados lácteos, su presencia varía de acuerdo a muchos factores como: especie animal, lactancia, la salud y la ubre del animal, la forma de ordeño, en el consumo de alimentos, su ubicación geográfica, la contaminación del pienso e incluso la estación del año. (49)

2.4.6. ESTRUCTURA QUÍMICA DE AFLATOXINAS

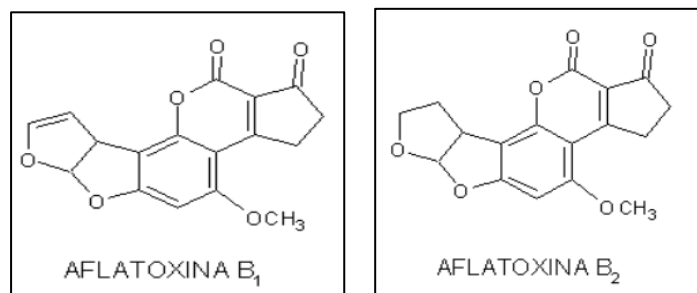
En 1962 se determinó la estructura química de aflatoxinas como cumarinas sustituidas, que contienen un resto dihidrofurfurano fusionado con configuración tipo lactona (50), muchas de estas aflatoxinas son poco solubles en agua y pueden extraerse usando disolventes como metanol o cloroformo. (51)

Las aflatoxinas se purifican en forma cristalina, son termorresistentes que muestran una estabilidad a un pH de 3 a 10, un punto de fusión mayor a 250°C y estas características hacen que sean estables en el ambiente por lo tanto muy difíciles de eliminar. (51)

Las aflatoxinas se caracterizan por ser un grupo de compuestos orgánicos no proteicos, de bajo peso molecular y un esqueleto de un anillo furano que está unido al núcleo de la cumarina. (52) En la actualidad existen 20 tipos de aflatoxinas de las cuales son considerados de mayor importancia solo tres tipos como los principales causantes de la contaminación en los alimentos: (53)

- a) **Las aflatoxinas B:** Este grupo comprende las aflatoxinas B1 y B2, considerando la aflatoxina B1 la más tóxica y con mayor prevalencia en los alimentos. Las aflatoxinas de tipo B poseen un anillo ciclopentona que está fusionado a un anillo de lactona y emiten fluorescencia azul.

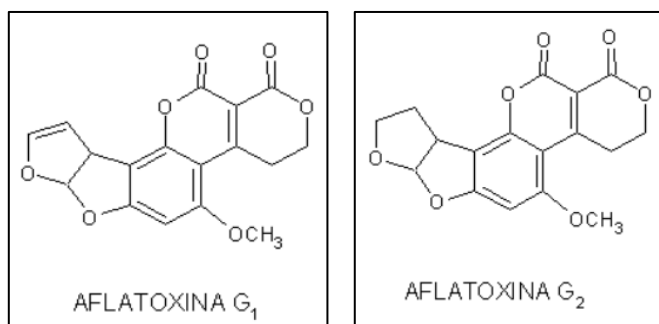
Figura N° 2: Estructura química de aflatoxinas B1 y B2



Fuente: Martínez M. Estructura química de las aflatoxinas. (54)

- b) **Las aflatoxinas G:** En este grupo se encuentra la aflatoxina G1 y G2, que en su lugar fusionan otro anillo lactona y emiten fluorescencia verde.

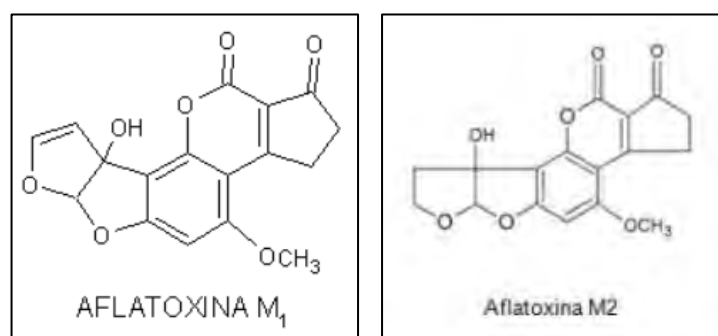
Figura N° 3: Estructura química de aflatoxinas G1 y G2



Fuente: Martínez M. Estructura química de las aflatoxinas. (54)

- c) **Las aflatoxinas M:** Estas comprenden las aflatoxinas M1 y M2, siendo la M1 la más tóxica con un peso molecular bajo y presenta una estructura general bifurano y un grupo hidroxilo en la posición 4. Ambos tipos son producto del metabolismo de las aflatoxinas B1 y B2 que se eliminan mediante la leche. (55)

Figura N° 4: Estructura química de aflatoxinas M1 y M2



Fuente: Martínez M. Estructura química de las aflatoxinas. (54)

2.4.7. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DE LOS TIPOS DE AFLATOXINAS

Tabla N° 2: Características químicas de las aflatoxinas

Tipo de Aflatoxina	Fórmula Estructural	Peso Molecular (g/mol)	Punto de Fusión °C
Serie 1 difuro-cumaro-ciclo-pentanosas			
B1	C ₁₃ H ₁₂ O ₆	312	268 – 269
B2	C ₁₃ H ₁₄ O ₆	314	286 – 289
G1	C ₁₃ H ₁₂ O ₆	328	244 – 246
G2	C ₁₃ H ₁₄ O ₆	330	237 – 240
M1	C ₁₃ H ₁₂ O ₆	328	299
M2	C ₁₃ H ₁₄ O ₆	330	293

Fuente: Urrego J. Aflatoxinas: Mecanismos de Toxicidad en la Etiología de Cáncer Hepático Celular. (56)

2.4.8. MÉTODOS DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE AFLATOXINAS

Existen diversos métodos para la determinación de aflatoxinas esto en base a las características de absorción y emisión, dentro de estos métodos se encuentran las cromatografías como el HPLC, espectroscopia de masas, cromatografía de masas, cromatografía de capa fina, ensayo de columna de inmuno-afinidad y ensayo inmuno-absorbente ligado a enzimas, dentro de estos métodos incluyen el Inmunoensayo Adsorbente Ligado a Enzimas (ELISA), así como el radioinmunoensayo (RIA) y las inmunitoras reactivas (dispositivo de flujo lateral), estos utilizan antígenos y anticuerpos que son dependientes de la especificidad de unión. (57)

1. MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

- **Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)**

Es un tipo de cromatografía líquida empleado tras la purificación y limpieza mediante la columna de inmunoafinidad, este método se caracteriza por poseer un alto poder de separación y sensibilidad, excelente reproducibilidad y sobre todo un fácil uso (58). La técnica por HPLC realiza su separación analítica por la afinidad del analito por la fase estacionaria o la fase móvil.

Consiste en que una sustancia líquida circula con una sustancia sólida o inmisible y al introducir una mezcla de analitos avanza a una velocidad distinta dependiendo de su afinidad por una de las fases mencionadas anteriormente, lo cual conlleva a que las sustancias eluyan en tiempos diferentes y consecuencia de ello se separen. (49)

- **Cromatografía de Capa Fina (TLC)**

Este método es muy común para ser usado en la determinación de aflatoxinas, los componentes que la conforman son la fase estacionaria de sílice, alúmina o celulosa que se encuentra en un material inmóvil de vidrio o de plástico de forma inerte generalmente conocido como matriz, el otro componente es la fase móvil que está formada por una mezcla de solventes orgánicos como el metanol: acetonitrilo: agua, este se encarga de transportar las muestras de aflatoxinas por la fase estacionaria sólida. Este método permite la detección de diversos tipos de aflatoxinas a través de una única muestra de prueba y una buena sensibilidad, además de ello debe de contar con personal capacitado en su uso y suele ser un método de alto costo. (59)

- **Cromatografía de Gases**

Técnica utilizada para aflatoxinas por ser un compuesto semi-volátil mediante el uso de columnas capilares, a través de ello se puede separar aflatoxinas del tipo B1, B2, G1, G2. Este método fue desarrollando nuevas aplicaciones a través de los años, como es la GC-MS, exclusivo para la detección de aflatoxinas del tipo B1 que se basa en la incorporación de la aflatoxina a la cromatografía de gases por inyección a la columna, luego se procede con la separación en una columna capilar de sílice recubierto con una fase no polar. Este método es menos sensible que la TLC el cual disminuye el interés por los investigadores en utilizar este método. (60)

2. MÉTODOS INMUNOQUÍMICOS

- **Técnica de Radioinmunoensayo (RIA)**

Es una técnica competitiva, donde el anticuerpo (Ab) es utilizado de forma limitada a comparación a la cantidad del antígeno analito, para esta técnica es necesario contar con un trazador el cual es un antígeno marcado radiactivamente (Ag^*) y para ser utilizada, el trazador y el anticuerpo se deben utilizar a una concentración fija, en este método se crean moléculas complejas antígeno-anticuerpo, en donde el antígeno marcado y no marcado compiten por el anticuerpo.

Una de las ventajas de este método RIA es poder realizar diversos análisis a la misma vez con excelente capacidad de sensibilidad y especificidad, pero a la vez este método posee un antígeno en estado puro y un marcador considerado como elemento dañino para la salud siendo este un isótopo radiactivo. Es por estas razones por la es menos frecuente o menos común el uso de este método para la determinación de aflatoxinas. (61)

- **Dispositivos de Flujo Lateral**

Ensayos inmunocromatográficos que se realizan a través de dispositivos de flujo lateral que posee una membrana porosa proporcionando un buen flujo, también contiene una almohadilla adsorbente que da la capacidad de absorber el líquido que fluye con un aumento del volumen. Este dispositivo detecta aflatoxinas a nivel cualitativo directo y se caracteriza por su alta sensibilidad y especificidad con la reacción antígeno-anticuerpo confirmando buena capacidad y rápida detección de los analitos. (59)

- **Ensayo Inmunoabsorbente Ligado a Enzimas**

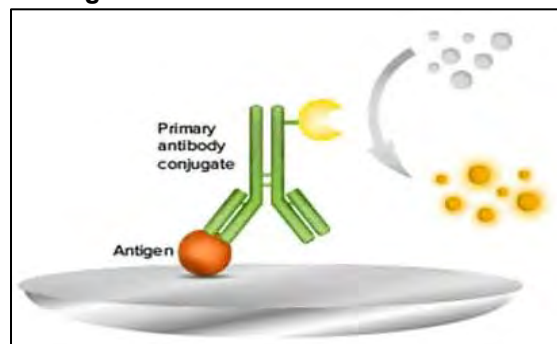
Método utilizado a partir de los años 80, la cual se basa prácticamente en anticuerpos dispersos en las placas. En este método se generan complejos tras la detección de los epítopos de las aflatoxinas por los anticuerpos de la placa, este complejo ocasiona un sustrato cromogénico, generando una luz o señales eléctricas que son medibles. Esta muestra está caracterizada por poseer un menor volumen de muestra a comparación de las demás técnicas, además de ello tiene un alto rendimiento de muestra y un análisis rápido para la detección de micotoxinas por lo que es un método usado de manera habitual. (62)

- **Inmunoensayos Competitivos de Enzimas Ligadas (ELISA)**

✓ ELISA DIRECTO

El sistema de Elisa directo es dónde se hace uso de un conjugado enzima-micotoxina, los anticuerpos se inmovilizan en una fase sólida, esferas o tubos de poliestireno, esferas de nylon o tarjetas de material plástico, o bien placas para micro titulación. La muestra en solución o el estándar de toxina es usualmente incubada al mismo tiempo con el conjugado enzimático. Después de los lavados apropiados, la cantidad de enzima conjugada que reacciona con el anticuerpo se determina por incubación con un sustrato en solución que contiene peróxido de hidrógeno que actúa como un oxidante cromógeno. El color que resulte de la reacción se mide visualmente o por medio de un espectrofotómetro (63).

Figura N° 5: Método de ELISA Directo

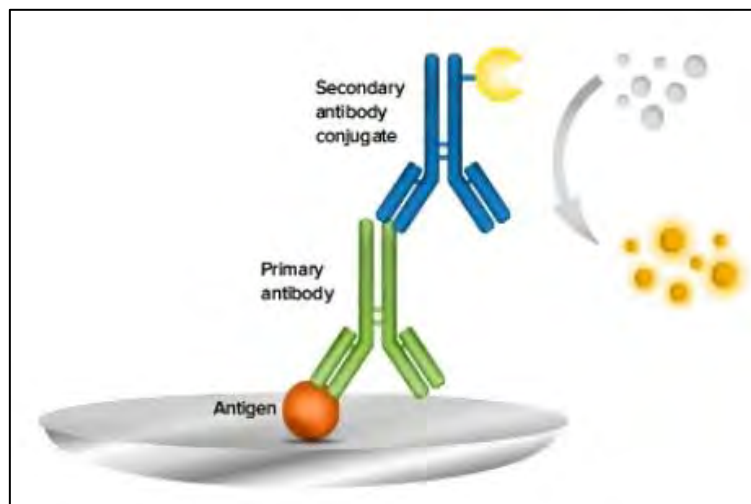


Fuente: Molecular Devices. ELISA. (64)

✓ ELISA INDIRECTO

En este sistema se utiliza un conjugado proteína-micotoxina y un anticuerpo secundario con el cual una enzima ha sido conjugada. Usualmente la enzima más utilizada para la conjugación es la peroxidasa de "horseradish" y otras enzimas como la fosfatasa alcalina y la β -galactosidasa (65). En el ensayo ELISA indirecto un conjugado formado por la micotoxina enlazada a una proteína o un polipéptido es inmovilizada en una placa de micro titulación. La placa se incuba con el anticuerpo específico en presencia o ausencia de las micotoxinas homólogas. La cantidad de anticuerpo enlazado al conjugado proteínico inmovilizado en la placa es determinado después por la reacción con un complejo enzimático IgG. Así la toxina en las muestras y la toxina en la fase sólida compiten con los mismos sitios de unión con el anticuerpo específico en solución (63).

Figura N° 6: Método de ELISA Indirecto



Fuente: Molecular Devices. ELISA (64)

Ventajas y desventajas del método ELISA

Tabla N° 3: Ventajas y desventajas del método ELISA

VENTAJAS	DESVENTAJAS
-Es aproximadamente de 10 a 100 veces mucho más sensible ya que logra detectar valores tan bajos como 2.5 pg de micotoxinas puras.	-Los resultados se obtienen en un tiempo mayor ya que oscila entre 2 a 3 horas.
-La sensibilidad de los sistemas ELISA es específica para cada micotoxina.	-Requieren mucho mayor manejo y especialización por lo que se realizan en laboratorios de investigación.

Fuente: Medina B. Determinación de Micotoxinas. (63)

2.4.9. LECHE FRESCA

La leche fresca es obtenida naturalmente de las glándulas mamarias, que se obtienen mediante el ordeño sin aumento ni exclusión de alguna sustancia. (66)

En los últimos 10 años la leche es considerada un alimento de gran importancia para la alimentación de los seres humanos en todas las edades porque poseen una gran cantidad de nutrientes y por su excelente relación en el aporte energético y calidad nutricional. (67)

Los componentes de la leche son:

- **Proteínas:** Están conformadas por aminoácidos y puede ser de varios tipos de acuerdo a la cantidad y combinación de dichos aminoácidos, como: Caseína, Beta-lactoglobulina, Alfa-lactoalbúmina, Lactoferrina, Lactoperoxidasa, Inmunoglobulinas, Lisozima. (68) También están las proteínas lácteas que se encuentran en la leche descremada tras una segregación de glóbulos grasos. (66)
- **Caseína:** Es el componente más abundante en la leche fresca por su contenido de proteínas en un 80% y por su composición en varias moléculas como la alfa-caseína, la beta-caseína, la kappa-caseína y la gamma-caseína. (66)
- **Beta-lactoglobulina:** Esta proteína lo encontramos en el proceso de ebullición de la leche que aparece en la superficie en la capa de nata. (68)
- **Alfa-lactoalbúmina:** Es una proteína que se caracteriza por unir la glucosa con la galactosa para producir la síntesis de la lactosa. Al igual que la Beta-lactoglobulina se encuentran durante la ebullición de la leche en la capa nata. (68)
- **Lactoferrina:** Es una proteína que contiene hierro y por ello su color rojo característico. Son muy importantes debido a que poseen una función de defensa contra las bacterias y hongos ya que tienen la capacidad de alterar la pared de los microorganismos, quitándoles el hierro ya que es muy importante para la proliferación de estos, causando así su muerte. (68)

- **Lactoperoxidasa:** Es una proteína que se encuentra con mayor concentración en la leche de vaca y se caracterizan por tener una función antimicrobiana catalizando la formación de diversas sustancias. (68)
- **Inmunoglobulinas:** Estas proteínas se encuentran abundantemente en el calostro, se caracterizan por tener una función de reconocimiento de sustancias extrañas en el organismo mediante la unión a membranas produciendo así la destrucción por el sistema inmune. (68)
- **Hidratos de carbono:** La lactosa es el único azúcar de la leche, aunque en ella existen también en pequeña proporción poliósidos libres y glúcidos combinados (69). La leche fresca contiene una menor cantidad de lactosa, solo un 4.9% y es por ello que no se adquiere el edulcorante correcto. La sacarosa tiene un poder edulcorante 5 veces más que la lactosa por tanto junto a las sales de leche es responsables de su sabor característico. (70)
- **Vitaminas:** La leche es muy rica en vitamina A, de la misma forma que la vitamina D, también son una buena fuente en riboflavina y tiamina, sin embargo, son muy pobres en niacina y ácido ascórbico. Muchas de estas vitaminas se encuentran en forma de cremas y leches, por ejemplo: la riboflavina está presente como lactoflavina en la leche descremada. Durante la preparación del queso las vitaminas hidrosolubles pasan al suero es por ello que el queso pierde una gran proporción de estas vitaminas de la misma forma, en el proceso del hervido se pierde una gran cantidad de ácido ascórbico y tiamina es por ello que se recomienda complementar la dieta con estos nutrientes. (71)

2.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA LECHE

I. Minerales, cenizas y sales

Los rumiantes adquieren todos los minerales del suelo donde se alimentaron como el calcio que es la más significativa y abundante a nivel nutricional. Muchos estudios sobre la dieta que la deficiencia de calcio en nuestro organismo es por el bajo consumo en la dieta. (72) Otro mineral de gran abundancia en la leche es el fósforo, pero con menor importancia a nivel nutricional ya que a diferencia del calcio este mineral se puede consumir a partir de otros alimentos. La leche es muy pobre en hierro y cobre. (72)

II. Enzimas

Las enzimas más importantes son la lipasa, proteasa, xantinaoxidasa y fosfatasa, esta última sirve como indicador de una deficiencia en el proceso de la pasteurización. Se encuentran de manera diversa en todo el sistema, como asociados a micelas de caseína, sobre la superficie de los glóbulos rojos y en forma de suspensión coloidal. (73)

III. Acidez

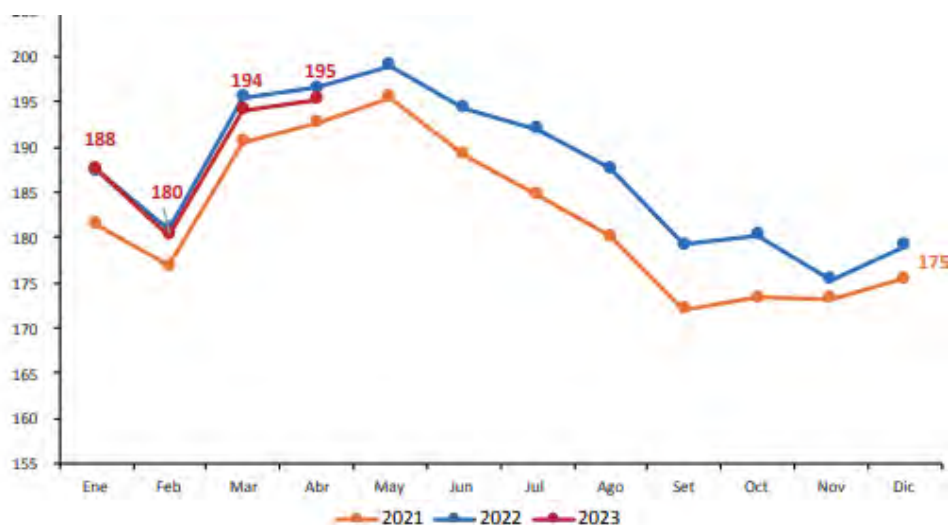
El pH de la leche oscila entre 6.5 y 6.7 y por su contenido en fosfatos, las proteínas y sales minerales hacen que se encuentre bien tamponado. En el proceso del calentamiento de la leche, en un inicio el pH normal desciende debido a que existe una liberación de dióxido de carbono y luego la liberación de los iones hidrógeno mientras que el calcio y fosfato se encuentran formando compuestos insolubles. (71)

2.5.1. PRODUCCIÓN DE LECHE FRESCA EN EL PERÚ

En el Perú la leche fresca se adquiere mayormente a nivel nacional de los pequeños ganaderos, de las cuales en nuestro país existen 113,000 y 120,000 productores y un 90% de estos son pequeños ganaderos. (74)

El boletín trimestral que realiza el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI) informa que la producción de leche en nuestro país sostuvo una tendencia creciente en el primer trimestre del año 2023 con 562 000 toneladas. (74)

Figura N° 7: Producción mensual de leche fresca de vaca, 2021-2023



Fuente: Acosta C.L. Leche y Derivados. (74)

En nuestro país, la producción de leche fresca durante el mes de abril del 2023 mostró un ascenso en 195 000 toneladas y esto representa un aumento de 0.6% con respecto al mes de marzo, siendo así el segundo mes consecutivo en la que se muestra un crecimiento mensual positivo. (74)

Tabla N° 4: Producción trimestral de leche según departamento 2021-2023

Departamento	Enero -marzo		Variación % (2023/2022)	Participación % 2023
	2022	2023		
Cajamarca	95 939	95 458	-0,5	17,0
Lima	91 587	89 459	-2,3	15,9
Arequipa	88 063	86 640	-1,6	15,4
La Libertad	43 493	45 983	5,7	8,2
Puno	42 768	42 011	-1,8	7,5
Cusco	35 407	36 290	2,5	6,5
Amazonas	26 249	27 370	4,3	4,9
Ica	21 158	21 298	0,7	3,8
Huánuco	16 715	16 926	1,3	3,0
Junín	14 784	14 989	1,4	2,7
Ayacucho	13 977	12 131	-13,2	2,2
Lambayeque	11 490	11 196	-2,6	2,0
Apurímac	10 343	10 231	-1,1	1,8
Pasco	10 066	10 058	-0,1	1,8
Piura	9 767	9 906	1,4	1,8
San Martín	8 912	8 902	-0,1	1,6
Ancash	5 813	6 042	3,9	1,1
Tacna	5 663	5 602	-1,1	1,0
Huancavelica	5 171	5 060	-2,1	0,9
Moquegua	4 462	4 464	0,1	0,8
Ucayali	1 153	1 038	-10,0	0,2
Loreto	354	328	-7,5	0,1
Madre de Dios	314	318	1,2	0,1
Tumbes	78	72	-8,2	0,0
Total	563 727	561 772	-0,3	100,0

Fuente: Acosta C.L. Leche y Derivados. (74)

2.5.2. PRESENCIA DE AFLATOXINAS M₁ EN PRODUCTOS LÁCTEOS

La presencia de aflatoxinas M₁ en los productos lácteos por encima de los parámetros permisibles implica un gran riesgo de salud para la población, ya que estos productos son consumidos principalmente por niños, a quienes se considera mucho más sensibles a los efectos adversos de la AFM₁. Con respecto al procesamiento del yogur de leche, se observa que los cambios en el contenido de las muestras de yogur AFM₁ no son estadísticamente significativos ($P > 0,01$) durante el almacenamiento durante 3 semanas. También es importante resaltar que la prevalencia y los niveles de contaminación de AFM₁ varían mucho dependiendo de múltiples factores, como la localización geográfica, el año de muestreo y el tipo de muestra (75)

Estas aflatoxinas se encuentran estables en algunos productos como: yogures, quesos, leche pasteurizada, leche entera o desnatada. Mientras que en algunos procesos de pasteurización la contaminación por este tipo de aflatoxinas se encuentra inalteradas. Estos procesos de pasteurización pueden ser de 63 °C por 30 minutos, pasteurización a 77 °C por 16 segundos, calentamientos de 64 a 100 °C por 15 a 20 minutos. (76)

2.5.3. LÍMITES PERMISIBLES DE AFLATOXINAS EN LECHES

La aparición de AFB1 en productos alimenticios se considera uno de los problemas importantes de seguridad alimentaria en todo el mundo. Para proteger la salud humana y animal, más de 100 países establecieron niveles máximos tolerables para esta aflatoxina en productos alimenticios. El riesgo de aflatoxicosis humana es alto en países donde no existen regulaciones estrictas sobre el nivel máximo de aflatoxinas permitido y donde no se monitorean los cultivos agrícolas. En estudios epidemiológicos que se realizaron en la India y algunos países de África indican que existe una relación con el consumo de productos contaminados que conllevan a la producción de cáncer de hígado (77).

El Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios viene evaluando desde el año 1987 el contenido de aflatoxinas en los alimentos, por el cual recomienda que se reduzca lo más mínimo posible debido a que poseen un gran potencial carcinogénico.

De la misma forma el informe del Panel de Contaminantes de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) en el año 2007 mantiene la misma posición mencionada anteriormente, mantener niveles bajos de aflatoxinas por ser genotóxicas y carcinogénicas (78).

Sin embargo, en el año 1995 enmendada hasta el año 2024 la Comisión del Codex Alimentarius, establece una norma que comprende únicamente niveles máximos de contaminantes y sustancias tóxicas naturales que se encuentran en los piensos en los casos en que el contaminante en los piensos puede ser transferido al alimento de origen animal y que pueden ser pertinentes para la salud pública y estos deben aplicarse a los productos que circulan en el comercio internacional. Estableciendo una concentración de 0.5ug/kg para aflatoxinas M1 en leche fresca. (22)

Tabla N° 5: Límites máximos admisibles de concentración de aflatoxinas M₁ en leche fresca

Nombre del producto	Nivel máximo (NM) µg/kg	Parte del producto a la que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Leche	0,5	Todo el producto.	La leche es la secreción mamaria normal de animales lecheros obtenida mediante uno o más ordeños sin ningún tipo de adición o extracción, destinada al consumo en forma de leche líquida o a elaboración ulterior. Se aplica un factor de concentración a las leches parcial o totalmente deshidratadas.

Fuente: Codex Alimentarius CXS 193-1995 (22)

2.5.4. EQUIPO DE ANÁLISIS DE LECHE FRESCA “LACTICHECK”

Para el análisis de la leche fresca se utilizó el equipo de LactiCheck que proporciona resultados sobre grasas, sólidos no grasos, proteínas, agua añadida y lactosa, es una unidad hermética compacta que está diseñado para medir productos de leche de vaca o cabra procesada o no procesada. (79)

I. Principio de funcionamiento: ultrasonido

Las ondas de sonido o acústicas de alta frecuencia afectan a las fuerzas moleculares de la muestra y los niveles de organización molecular monitorizan los datos de atenuación y velocidad de las ondas de sonido. Por lo tanto, la estructura composicional de grasas y sólidos no grasos se miden directamente mientras que los otros parámetros se determinan mediante un algoritmo usando esos datos. (79)

Figura N° 8: Principio de medida LactiCheck



Fuente: Page & Pedersen International, Ltd. LactiCheck™ 2. (79)

II. Ventajas y características de LACTICHECK

- ❖ Proporciona soluciones orientadas a resultados en las industrias lácteas y alimentarias.
- ❖ El tiempo de análisis es aproximadamente 40 segundos y una precisión del 2% cv.
- ❖ Lactichack mide directamente la muestra de la leche y no requiere calibración periódica.
- ❖ El Lactichack es un apoyo rentable para los sistemas infrarrojos totalmente automatizados y puede integrarse en posiciones satélites (recepción de leche, producción, etc.) en puntos de control clave.
- ❖ Una unidad hermética compacta que funciona simplemente pulsando un botón, el modelo LC-RR está diseñado para medir productos de leche de vaca o cabra procesada o no procesada.

III. Parámetros de medida LACTICHECK

Tabla N° 6: Parámetros de medida según Lactichack

Grasas	
Calibrado en un rango fijo	
(entre +/-1,0% grasas)	0,3 -9% ($\pm 0,06$ %)
Grasas altas:	9 -14% ($\pm 0,08$ %)
Proteínas	
Calibrado en un rango fijo (Real o Total)	
(entre +/-1,0% proteínas)	2 -5% ($\pm 0,1$ %)
Estándar	2 -5% ($\pm 0,2$ %)
Sólidos No Grasas (SNF)	
6 -12% ($\pm 0,1$ %)	
Densidad	1,0260-1,0330 g/cm ³ ($\pm 0,0005$ g/cm ³)
Agua añadida en leche	2 -60% (± 2 %)
Lactosa	3 -7% ($\pm 0,1$ %)

Fuente: Page & Pedersen International, Ltd. Lactichack TM 2. (79)

2.5.5. CODEX ALIMENTARIUS, NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS (CODEX STAN 193-1995)

Es un conjunto de normas internacionales elaboradas por la Comisión del Codex Alimentarius, creada en 1963 por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Su propósito principal es garantizar la seguridad alimentaria y promover prácticas comerciales justas en el comercio internacional de alimentos (80).

El Codex Alimentarius incluye directrices y estándares para la calidad, seguridad, etiquetado y regulación de los productos alimenticios, abarcando desde la producción primaria hasta el consumo final. A través de estas normativas, se busca proteger la salud de los consumidores y asegurar que los alimentos sean de calidad, sin riesgo para la salud pública. (80)

Las normas que componen el Codex son adoptadas voluntariamente por los países, pero sirven como base para la creación de leyes nacionales y pueden ser utilizadas como referencia en disputas comerciales en organismos internacionales como la Organización Mundial del Comercio (OMC). Es un foro internacional que reúne a: Científicos, Expertos técnicos, Autoridades gubernamentales, Organizaciones internacionales de consumidores, Organizaciones internacionales de la industria. (80)

Importancia del Codex Alimentarius

- ❖ Son una referencia para los requisitos internacionales sobre la inocuidad de los alimentos
- ❖ Son normas justificadas científicamente
- ❖ Son citadas como requisitos básicos en los Tratados de Libre Comercio

El Perú es miembro del Comité del Codex Alimentarius desde 1963 y ha adoptado las normas Codex desde 1998 por lo que los productos para el consumo humano son analizados y elaborados con las normas básicas para tener un producto inocuo y de calidad. Sin embargo, en el año 1995 enmendada hasta el año 2024 la Comisión del Codex Alimentarius. Estableciendo una concentración de 0.5ug/kg para aflatoxinas M1 en leche fresca. (80)

2.5.6. DECRETO SUPREMO QUE APRUEBA EL REGLAMENTO DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS, MINAGRI N°007 – 2017

I. DISPOSICIONES GENERALES

- **Artículo 1.- Objeto**

El presente Reglamento tiene como objeto establecer requisitos que deben cumplir la leche y productos lácteos de origen bovino, destinados al consumo humano, para garantizar la vida y la salud de las personas, generando productos inocuos y prevenir prácticas que puedan inducir a error. (81)

- **Artículo 3.- Denominación**

El uso de los términos “leche” y “productos lácteos”, se ajustará a lo dispuesto en la Norma General del Codex para el Uso de Términos Lecheros, Codex Stan 206-1999. (81)

- **Artículo 4.- Ámbito de aplicación**

El presente Reglamento se aplica a la leche y productos lácteos nacionales e importados, destinados para consumo humano y es de aplicación a su obtención, procesamiento, envase, transporte, comercialización y expendio. (81)

II. AUTORIDADES COMPETENTES

- **Artículo 5.- Autoridades competentes**

Para velar por el cumplimiento de las disposiciones contenidas en el presente Reglamento, son autoridades competentes, según corresponda: (81)

- ✓ Ministerio de Agricultura y Riego, Servicio Nacional de Sanidad Agraria - SENASA.
- ✓ Ministerio de Salud, Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria - DIGESA y el Instituto Nacional de Salud, a través del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición - CENAN.
- ✓ Presidencia del Consejo de ministros, Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual - INDECOPI.
- ✓ Gobiernos Regionales.
- ✓ Gobiernos Locales.

III. ESPECIFICACIONES TÉCNICAS Y SANITARIAS DE LA LECHE Y PRODUCTOS LÁCTEOS

• **Artículo 6.- Especificaciones**

Técnicas

La leche y productos lácteos que son objeto de tratamiento y regulación del presente Reglamento, deben cumplir con las especificaciones técnicas establecidas para cada producto.

Para la determinación de las características fisicoquímicas de la leche y productos lácteos especificados en el presente Reglamento, se aplicarán los métodos de ensayos establecidos en las Normas Técnicas Peruanas y, en lo no previsto, se realizará por métodos de ensayo normalizados, validados y reconocidos internacionalmente. (81)

• **Artículo 7.- Especificaciones de calidad sanitaria e inocuidad**

La leche y productos lácteos deben cumplir con los criterios establecidos para residuos de plaguicidas, residuos de medicamentos de uso veterinario, contaminantes microbiológicos, metales pesados u otros contaminantes, establecidos en la normativa sanitaria nacional vigente o, en su defecto, con lo referido en las normas del Codex Alimentarius; y, en lo no previsto por estas, con lo señalado en las regulaciones federales de los Estados Unidos de América o, en su defecto, con lo establecido por la normativa de la Unión Europea. (81)

• **Artículo 8.- Especificaciones técnicas**

Tabla N° 7: Características fisicoquímicas de leche cruda

Característica	Unidad	Especificaciones	
		Mínimo	Máximo
Densidad a 15 ° C *	g/ml	1,0296	1,0340
Materia grasa láctea *	g/100g	3,2	-
Acidez titulable, como ácido láctico *	g/100g	0,13	0,17
Ceniza*	g/100g		0,7
Extracto seco ^a *	g/100g	11,4	-
Extracto seco magro ^{b, c} *	g/100g	8,2	-
Caseína en la proteína láctea *	g/100g	Proporción natural entre la caseína y la proteína*	

Fuente: MINAGRI. Decreto supremo de la leche y productos lácteos. (81)

2.5.7. DAÑOS EN LA SALUD POR AFLATOXINAS

Las micotoxinas ingresan al cuerpo tras ser ingeridas en alimentos contaminados, inhalación de esporas y por contacto directo. Las micotoxinas son altamente liposolubles por lo que son absorbidas en el tracto gastrointestinal y en el hígado llegan a biotransformarse por las enzimas del citocromo P450, entre ellas la CYP1A2, 3A4, 2B6, 3A7, 3A5 y GSTM1.

Las enzimas de mayor importancia son representadas por la CYP3A4, éstas intervienen en la formación del metabolito aflatoxina Q1 (AFQ1), mientras que la CYP1A2 forma la aflatoxina M1 (AFM1). En los seres humanos se obtienen otros metabolitos como el aflatoxicol, AFP1, AFB2á y AFB1 -2,2 dihidrodiol.

La toxicidad de las micotoxinas en humanos se debe a la influencia de factores tales como:

- ❖ Biodisponibilidad y toxicidad de la micotoxina.
- ❖ Sinergismo entre micotoxinas
- ❖ Cantidad ingerida en función de la concentración de micotoxina además del alimento ingerido y su cantidad.
- ❖ Continuidad o pausa del consumo del alimento contaminado
- ❖ Estado de salud y edad del individuo consumidor

Los niños y jóvenes son más propensos a sufrir de una intoxicación por micotoxinas ya que hay mayor variación en el metabolismo, ya que este sector de la población carece de los diversos mecanismos bioquímicos de detoxificación.

La AFM1 tiene potencia carcinogénica inferior a la AFB1, por lo que la AFM1 y la AFB1 tienen una TD50 (dosis con la que el 50% de los individuos son propensos a desarrollar tumores) entonces de 10.38 y 1.15 mcg/Kg por día, lo que da a entender que la AFM1 es nueve veces menos carcinogénica en comparación a la AFB1. (82)

- **Carcinoma Hepatocelular (CHC)**

A lo largo de muchas décadas se evidenció que la exposición de aflatoxinas causa cánceres en el hígado tanto en seres humanos como en diversas especies animales. De todos los cánceres en el mundo, el carcinoma hepatocelular representa el 5.6% y ocupa el sexto lugar como el cáncer con mayor frecuencia. (83)

El carcinoma hepatocelular casi siempre es mortal y se evidencia con mayor frecuencia en los países menos desarrollados como Asia y África subsahariana.

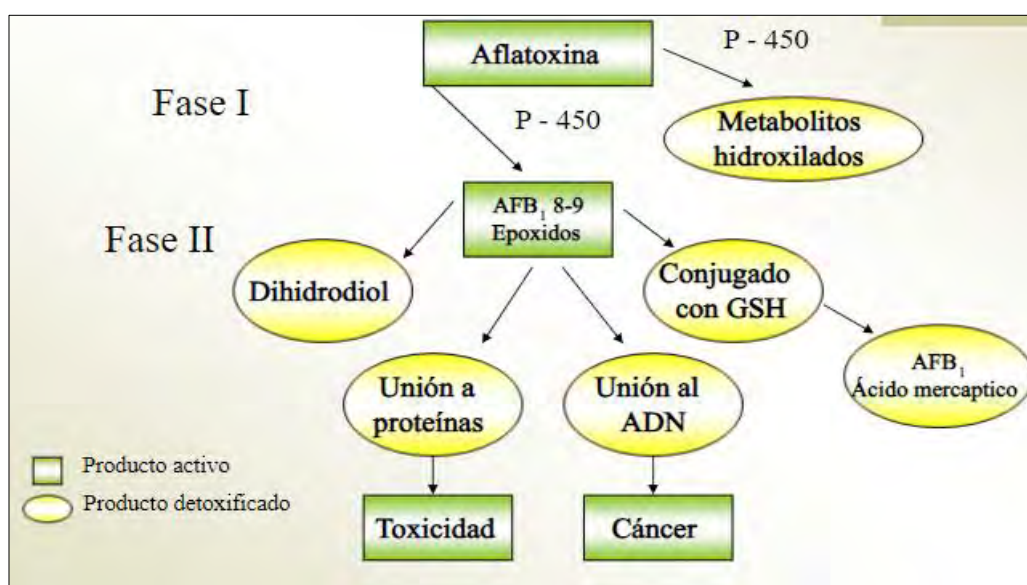
Se reportan alrededor de 780.000 nuevos casos de cáncer de hígado cada año y más de 745.000 casos de muerte. En cambio, en los países desarrollados se reportan más del 90% de cánceres en personas mayores a 45 años de edad y en regiones de mayor riesgo, el carcinoma hepatocelular empieza a aparecer desde los 20 años de edad, llegando a un pico máximo en el grupo etario de 40 a los 49 años en la población masculina y de 50 a los 59 años en la población femenina los cuales son atribuidas a la exposición continua durante los años de vida. (83)

- **Metabolismo de aflatoxinas B1 y producción de Carcinoma hepatocelular**

Debido a la liposolubilidad de las aflatoxinas se absorben en el tracto gastrointestinal, el metabolismo de AFB1 se realiza mediante reacciones oxidativas de la superfamilia de isoenzimas CYP450. Las distintas isoenzimas CYP450 dan como producto a metabolitos AFB1 de diferente capacidad de generar cáncer. Por ejemplo, la CYP3A4 y CYP1A2 en los seres humanos son isoenzimas importantes para la bioactivación de la AFB1 ya que forma la AFBO y el CYP3A4 ayuda a la formación de AFBO y aflatoxina Q1 (AFQ1) en el hígado. (84)

Los epóxidos de AFBO se llegan a conjugar con el glutatión (GSH) ya que se reduce la toxicidad por la enzima glutatión-S-transferasa (GST). El destino de AFB1 difiere en los organismos humanos, animales y otras especies. La desalquilación, cetoreducción, epoxidación e hidroxilación son las principales vías metabólicas de AFB1. Estas reacciones llevan a la formación de AFBO potencialmente tóxico y aflatoxina M1 (AFM1). (84)

Flujograma N° 1: Metabolismo de la aflatoxina B1 y producción del Carcinoma Hepatocelular



Fuente: Ornelas A. Aflatoxinas y su Asociación con el Carcinoma Hepatocelular. (84)

2.5.8. ESTRATEGIAS PARA MITIGAR LA CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS M1

La AFM₁ en leche proviene principalmente de la transformación hepática de la aflatoxina B₁ presente en los alimentos de los rumiantes. Para reducir la aflatoxina M₁ hay que: minimizar aflatoxinas B₁ en materias primas (pre y postcosecha), evitar alimentar lotes contaminados, usar secuestrantes probados en rumiantes cuando corresponda y monitorizar leche y alimento con un plan de muestreo y trazabilidad. (85)

I. MEDIDAS INMEDIATAS

- **Retirar y separar lotes sospechosos:** Todo grano con moho visible, olor raro o humedad alta debe separarse y etiquetarse como; no apto para lechería.
- **Muestreo y análisis:** Muestrear la leche del tanque y las materias primas sospechosas usando kits ELISA o envío al laboratorio para HPLC/LC-MS.
- **Añadir un secuestrante certificado:** Usar un producto específico para rumiantes (bentonitas/montmorillonita, HSCAS, pared celular de levadura). (85)

Tabla N° 8: Dosis de secuestrantes para aflatoxinas

TIPO	DOSIS TÍPICA	OBSERVACIONES
Bentonita / Montmorillonita	0.5–2% del alimento (5– 20 kg/ton)	Alta eficacia en rumiantes.
HSCAS	0.5–2% del alimento	Buena capacidad de unión a AFB ₁ .
Pared celular de levadura (YCW)	0.05–0.2% del alimento	Efecto variable, mejora salud intestinal.
Carbón activado	Uso industrial controlado	Posible adsorción de nutrientes.

Fuente: Mazaheri , Yeganeh ; Shavali Gilani, Parisa; Shariatifar, Nabi. Eficacia de diversos métodos para reducir los niveles de aflatoxina M1 en la leche. (85)

- **No enviar leche potencialmente contaminada:** La pasteurización no asegura eliminación de AFM₁. Aíslar la leche si sospecha niveles altos y sigue normativa local. (85)

II. CONTROL EN EL ALIMENTO (PRE Y POSTCOSECHA)

Pre-cosecha

- Selecciona variedades menos susceptibles y siembra en condiciones que reduzcan estrés del cultivo.
- Control de insectos y plantas dañadas (puertas de entrada para *Aspergillus*).
- Cosecha en el momento correcto para evitar humedecimiento en planta.

Postcosecha / almacenamiento

- Secar granos a humedad <12% (objetivo técnico).
- Ventilar silos; controlar temperatura y puntos calientes.
- Limpieza y rotación de stock.
- Evitar contacto del grano con paredes o suelos húmedos.
- Inspeccionar y limpiar silos entre campañas. (85)

III. MANEJO DE RACIONES Y ANIMALES

- Balance nutricional: corregir niveles de proteína/energía para mantener la salud hepática y la inmunidad.
- Suplementos protectores: antioxidantes (vitamina E, selenio) y soporte hepático pueden ayudar a mitigar efectos, pero no eliminan la contaminación.
- Evitar estrés: (calor, manejo brusco) que puede afectar metabolismo y aumentar transferencia. (85)

IV. ESTRATEGIAS A MEDIANO/LARGO PLAZO (SOSTENIBILIDAD)

- Definición de lineamientos de compra que contemplen la verificación de certificados de calidad y la aplicación de cláusulas de rechazo ante la presencia de contaminación.
- Capacitación periódica del personal en técnicas de muestreo, conservación adecuada y detección de mohos.
- Incorporación de sistemas de trazabilidad digital para el control y registro de lotes por ración y por tanque.
- Adopción de prácticas agrícolas sostenibles, incluyendo rotación de cultivos, manejo integrado de plagas y uso de control biológico cuando sea posible.

- Elaboración de un plan de contingencia documentado que establezca procedimientos para el retiro de leche, la comunicación de alertas y el manejo de insumos contaminados. (85)

2.5.9. MERCADOS QUE EXPENDEN LECHE EN LA CIUDAD DEL CUSCO

I. Mercado Rosaspata

El mercado de Rosaspata ubicada en la ciudad del Cusco es un pequeño mercado que está cerca al centro histórico. Da inicio a sus actividades en el año 1967 en dónde la municipalidad del Cusco organizó este mercado con 220 puestos fijos, contando así con electricidad, agua y alcantarillado.

El mercado de Rosaspata alberga a vendedores locales y de zonas aledañas al Cusco como Calca, Pisac y Corao trayendo diversos productos como hortalizas frescas debido a que las vendedoras horas antes recogen de sus campos de cultivo, fresas que son cultivadas en sus huertos ambientados con el sistema de invernaderos para su mejor producción, así como leche fresca traídos en barriles adecuados para su traslado. Este mercado ofrece una variedad de productos como carnes, frutas, abarrotes, así como la venta de productos lácteos lo cual consta de 5 puestos ubicados al interior y exterior del mercado. (86)

Figura N° 9: Mercado Rosaspata



Fuente: Elaboración propia

II. Mercado Vinocanchón

Este mercado ubicado en el distrito de San Jerónimo empezó a funcionar entre los años 1950 y 1960 aunque el comercio se hacía en la plaza de armas de San Jerónimo donde acudían los pobladores posteriormente fue reubicada entre los años 1980 y 1985 dónde actualmente está ubicada exactamente entre la calle Lima y Suárez y la comercialización se inicia en los años 2000 en dónde los comerciantes de la avenida el ejército toman posición del mercado tomando el nombre de Mercado mayorista de Vinocanchon, siendo la zona sur del Cusco que acude a este mercado casi en su totalidad, este mercado ofrece diversos productos como verduras, frutas, flores, carnes y abarrotes así como productos lácteos entre ellos yogurt, queso, mantequilla y leche fresca ésta última se expende al interior de dicho mercado contando con 4 a 5 puestos ambulatórios. (87)

Figura N° 10: Mercado Vinocanchón



Fuente: Elaboración propia

III. Mercado Casccaparo

El Mercado de Casccaparo, inaugurado en 1970 como un centro de distribución minorista y mayorista, está situado en el barrio de San Pedro, a escasa distancia del reconocido Mercado Central de San Pedro en la ciudad de Cusco. Con más de 50 años de funcionamiento, se ha consolidado como un punto clave para el comercio local, en una zona históricamente vinculada al intercambio de bienes. A diferencia del concurrido y turístico mercado vecino, Casccaparo conserva un enfoque auténticamente local, con una infraestructura modesta compuesta por más de 500 puestos fijos bajo gestión municipal. A partir del año 2020, se implementaron mejoras en la organización interna, condiciones sanitarias y seguridad, además de extender los horarios de atención. En la actualidad, el mercado continúa ofreciendo productos esenciales para la población cusqueña, como frutas, verduras, carnes, leche, queso, especias, hierbas medicinales y otros insumos propios de la gastronomía y medicina tradicional andina. Su ambiente tranquilo y precios accesibles lo convierten en una alternativa más íntima y representativa de la vida cotidiana cusqueña. De forma reciente, las autoridades municipales han iniciado estudios técnicos para su modernización, que contemplan una nueva infraestructura de dos niveles y un sótano para estacionamiento, respetando la normativa del centro histórico (88)

Figura N° 11: Mercado Casccaparo



Fuente: Elaboración propia.

2.5. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

❖ **Toxinas**

Son sustancias tóxicas microbiana, vegetal o química que reacciona con compuestos celulares y alteran el crecimiento celular de un organismo vivo. (89)

❖ **Micotoxinas**

Sustancias producidas por hongos desarrolladas bajo factores ambientales como la humedad y temperatura, causando enfermedades a humanos y animales. (90)

❖ **Aflatoxinas M1**

Es el metabolito secundario, producto del metabolismo de la aflatoxina B1 producido por hongos y se desarrollan desde los 6°C hasta los 45°C. (91)

❖ **Leche fresca**

Es la secreción de las glándulas mamarias de un líquido que está compuesto de agua y contenido graso destinado como alimento para sus crías. (92)

❖ **Kit de ELISA**

Técnica que utiliza inmunoensayos enzimáticos para la detección de aflatoxinas cuyo formato es cuantitativo y preciso, con un corto tiempo de incubación. (93)

❖ **Análisis fisicoquímico**

Es el conjunto de métodos y técnicas que determinan la composición y características químicas y físicas de los alimentos. (94)

❖ **Lactichек**

Es un analizador de leche, que da valores de grasa, sólidos no-grasos, proteínas, lactosa, pH, punto de congelación, sólidos y densidad. (79)

❖ **Codex Alimentarius**

Conjunto de normas alimentarias presentadas de manera uniforme para proteger la salud del consumidor y facilitar el comercio internacional de alimentos. (95)

❖ **Mercado de abastos**

Establecimiento comercial colectivo de venta minorista de alimentos y artículos de primera necesidad, particularmente el de titularidad y servicio públicos. (96)

❖ **Carcinoma Hepatocelular**

Es la neoplasia maligna primaria de hígado más frecuente y la quinta a nivel mundial, convirtiéndose en un problema de salud pública que se produce por infección crónica por VHB y el alto consumo de aflatoxinas. (97)

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

- MUESTRA DE ESTUDIO
 - o Leche fresca

- MATERIALES DE LABORATORIO
 - o Kit de Elisa Reagen
 - o Vaso de precipitado
 - o Pipeta 10uL
 - o Pipeta 20uL
 - o Pipeta 100uL
 - o Gradillas
 - o Termómetro de alimentos
 - o Tubos de ensayo de plástico

- EQUIPOS DE LABORATORIO
 - o Agitador magnético Vortex genie 2
 - o Analizador de leche Lactichack
 - o Lector de microplacas Epoch 2 BioTek
 - o Centrifuga Labnet C2500 Prism R
 - o Lavador de microplacas Bio Tek El x 50
 - o Incubadora Jitterbug -4 Boekel
 - o Campana de extracción Air Clean 600 PCR Work Station

- REACTIVOS DE ESTUDIO
 - o Metanol 99.9% puro

- OTROS MATERIALES DE ESCRITORIO
 - o Papeles A-4
 - o Cinta masking
 - o Mandil de laboratorio
 - o Guantes de látex
 - o Gorras

- o Mascarilla KN95
- o Lentes para evitar el salto de reactivos
- o Plumones
- o Lapicero
- o Cuaderno de apuntes
- o Rotuladores
- o Marcadores
- o Laptop
- o Envases de vidrio
- o Agua destilada

3.2. DISEÑO METODOLÓGICO

3.2.1. NIVEL Y ENFOQUE DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, dado que se recopilaban y analizaban datos numéricos mediante técnicas estadísticas, lo que permitió describir y comparar los niveles de aflatoxina M1 y los parámetros fisicoquímicos en muestras de leche fresca expandidas en tres mercados de la ciudad del Cusco.

El nivel de investigación corresponde a un descriptivo, comparativo y transversal debido a que se caracterizaron los niveles de aflatoxina M1 y los parámetros fisicoquímicos (grasa, densidad, acidez y proteína) presentes en las muestras para posteriormente, establecer diferencias significativas entre los mercados analizados, sin indagar en las causas que originan dichas variaciones.

3.2.2. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación fue aplicada, porque los resultados sirven para evaluar la inocuidad de la leche en Cusco y orientar medidas sanitarias.

El diseño fue no experimental y transversal, dado que no se manipularon variables, sino que se observaron y analizaron tal como se presentaron en su contexto natural, en un solo momento del tiempo. (17)

El estudio se realizó en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón, ubicados en la ciudad del Cusco, Perú. El periodo de recolección de muestras comprendió el mes de junio del año 2025, coincidiendo con la temporada de mayor comercialización de leche fresca en la zona.

- **Según el propósito**

Aplicada

Busca generar información útil y directamente aplicable para la vigilancia sanitaria, control de calidad e inocuidad de la leche fresca que se expende en mercados locales. Sus resultados pueden apoyar la toma de decisiones en políticas públicas y mejorar prácticas ganaderas y comerciales. (17)

- **Según el nivel de profundidad**

Descriptiva y comparativa

Describe las características fisicoquímicas y niveles de contaminación por aflatoxina M1 en leche fresca, y compara estos valores entre tres mercados del Cusco (Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón). (17)

- **Según el diseño**

No experimental

No se manipulan las variables; se observa y analiza la leche tal como se comercializa en su entorno natural.

Transversal

La recolección de datos se realizó en un único momento del tiempo (junio de 2025), lo que caracteriza al estudio como de corte transversal. (98)

- **Según el método**

Empírico–analítico

Utiliza métodos científicos basados en observación y medición rigurosa (ELISA, métodos fisicoquímicos normalizados) y análisis estadístico (ANOVA, Tukey HSD) para interpretar los datos recolectados. (98)

- **Según el ámbito de aplicación**

De campo y laboratorio

La toma de muestras se realizó directamente en los mercados (campo) y los análisis se desarrollaron en un laboratorio especializado. (98)

- **Según la temporalidad**

Prospectiva

Se recolectaron las muestras en tiempo real, es decir, se planificó previamente la recolección de datos (muestras de leche fresca) y luego se obtuvieron las muestras. No se usaron datos preexistentes ni registros históricos, sino que los datos fueron obtenidos directamente en el periodo de junio de 2025, con una finalidad específica y bajo un protocolo definido. (98)

Se diseñó el estudio antes de la recolección de datos, por lo tanto, los resultados aún no existían al momento de plantear la investigación.

3.3. IDENTIFICACIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.3.1. VARIABLES IMPLICADAS

1. Variable: Niveles de aflatoxinas M1

- Definición conceptual: La aflatoxina M1 es un metabolito secundario derivado del metabolismo de la aflatoxina B1, producida por hongos del género *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, los cuales requieren condiciones de temperatura que varían entre los 6 °C y los 45 °C para su desarrollo (91).
- Definición operacional: La determinación de los niveles de aflatoxina M1 se realizará mediante el Kit de ELISA, un instrumento de alta precisión que permite detectar esta micotoxina en leche fresca.
- Indicador: Concentración de aflatoxina M1 en muestras de leche fresca.
- Naturaleza: Cuantitativa.
- Medición: Indirecta.
- Escala: Razón.
- Instrumento de medición: Kit de ELISA.
- Expresión final: Microgramos por kilogramo (µg/kg).

2. Variable: Parámetros fisicoquímicos

- Definición conceptual: Se refiere al conjunto de técnicas y métodos destinados a identificar y cuantificar las propiedades físicas y químicas de una sustancia, en este caso, de la leche fresca (99).
- Definición operacional: La medición de los parámetros fisicoquímicos se efectuará mediante el instrumento LactiCheck, el cual permite evaluar diversas características composicionales de la leche.
- Indicadores:
 - ✓ Grasa
 - ✓ Sólidos no grasos
 - ✓ Densidad
 - ✓ Agua
 - ✓ Punto de congelación
 - ✓ Proteínas
 - ✓ Lactosa
- Naturaleza: Cuantitativa.
- Medición: Indirecta.
- Escala: Razón.
- Instrumento de medición: LactiCheck.
- Expresión final: Gramos por 100 gramos (g/100g) para materia grasa, sólidos no grasos, proteínas y lactosa; gramos por mililitro (g/mL) para densidad y (°C) para punto de congelación.

3. Variable: Procedencia de la leche

- Definición conceptual: Se refiere al lugar de origen geográfico de la leche fresca, es decir, la zona o distrito donde fue producida antes de ser transportada a los mercados de expendio. Este factor puede influir en las características sanitarias y fisicoquímicas del producto debido a condiciones específicas de producción, manejo y transporte. (92)
- Definición operacional: La procedencia será identificada mediante el registro del lugar de origen declarado por las comerciantes, como por ejemplo Anta, Calca o Pisac.
- Indicador: Lugar de origen de la muestra de leche.
- Naturaleza: Cualitativa.
- Medición: Directa.
- Escala: Nominal.

- Instrumento de medición: Registro de campo mediante ficha de encuesta.
- Expresión final: Nombre del distrito o zona productora (ej. Anta, Paruro, Oropesa).

3.3.2. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla N° 9: Operacionalización de variables implicadas

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	NATURALEZA	MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL
Niveles de aflatoxinas M1	La aflatoxina M1 es el metabolito secundario, producto del metabolismo de aflatoxina B1 producido por hongos <i>Aspergillus flavus</i> que para desarrollarse necesitan temperaturas de los 6°C hasta los 45°C. (91).	La determinación de los niveles de aflatoxinas M1 se realizarán con el instrumento del Kit de ELISA, instrumento de alta precisión.	Determinación de aflatoxinas M1 en leche fresca	Cuantitativa	Directa	Razón	Kit de ELISA Marca: REAGEN Sensibilidad: 0.01ng/g Límite de detección: 1.5 horas (100)	µg/kg
Parámetros físico-químicos	Es el conjunto de técnicas y métodos que ayudan a determinar la composición y características físicas y químicas de una sustancia o materia prima. (99).	La determinación de parámetros físicoquímicos se realizará con el instrumento LactiCheck.	Grasa	Cuantitativa	Directa	Razón	Lactichек	g/100g
			Sólidos no grasos	Cuantitativa	Directa	Razón	Lactichек	g/100g
			Densidad	Cuantitativa	Directa	Razón	Lactichек	g/mL
			Agua	Cuantitativa	Directa	Razón	Lactichек	g/100g
			Punto de congelación	Cuantitativa	Directa	Razón	Lactichек	°C
			Proteínas	Cuantitativa	Directa	Razón	Lactichек	g/100g
			Lactosa	Cuantitativa	Directa	Razón	Lactichек	g/100g

Procedencia	Se refiere al lugar de origen de la muestra de leche fresca, que influye en su calidad sanitaria y composición fisicoquímica. (92)	La procedencia será determinada a través del cuestionario llenado por las comerciantes de los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon.	Lugar de origen de la muestra de leche.	Cualitativa	Directa	Nominal	Registro de campo mediante ficha de encuesta	Nombre del distrito o zona productora (ej. Anta, Pisac, Calca).
-------------	--	--	---	-------------	---------	---------	--	---

Fuente: Elaboración propia.

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

3.4.1. POBLACIÓN

La población está conformada por los puestos donde se expenden leche fresca en los centros de abasto de Cascaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad del Cusco.

3.4.2. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO Y COMPOSICIÓN DE LA MUESTRA

Se consideró las muestras de leche fresca que se comercializan en los mercados de Cascaparo, Rosaspata y Vinocanchón que son los mercados más concurridos por la población cusqueña y donde se expenden mayor cantidad de leche fresca. El tipo de muestreo usado fue no probabilístico por conveniencia y no aleatorio.

Este tipo de muestreo permitió obtener muestras directamente de los lugares donde los consumidores adquieren el producto, facilitando la recolección de información relevante sobre la presencia de aflatoxina M1 en la leche comercializada. La elección de los mercados se basó en su alta afluencia de público y volumen de venta, lo cual permitió obtener una visión general del nivel de contaminación en productos lácteos de consumo habitual.

Tabla N° 10: Cuadro de muestreo

CENTROS DE ABASTO DE LA CIUDAD DEL CUSCO				
DISTRITO	MERCADO	MUESTRA	PUESTO	CANTIDAD DE MUESTRA
Cusco	Casccaparo	Leche fresca	Puesto 1	3
			Puesto 2	3
			Puesto 3	3
			Puesto 4	3
Cusco	Rosaspata	Leche fresca	Puesto 1	3
			Puesto 2	3
			Puesto 3	3
			Puesto 4	3
San Jerónimo	Vinocanchón	Leche fresca	Puesto 1	3
			Puesto 2	3
			Puesto 3	3
			Puesto 4	3
Cantidad total muestreada				36

Fuente: Elaboración propia

3.5. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN DE LA MUESTRA

- CRITERIOS DE INCLUSIÓN:
 - ❖ Leche fresca expendidas en los centros de abasto de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón y alrededores de los centros de abasto.
 - ❖ Comerciantes que acepten participar en el estudio con el respectivo llenado y firma del consentimiento informado.
- CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:
 - ❖ Leche fresca expendida en centros de abasto no mencionados en el estudio.

3.6. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

- a) Detección de aflatoxina M1: Se aplicó el método inmunoenzimático tipo ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), utilizando un kit comercial validado, siguiendo estrictamente las instrucciones del fabricante y los protocolos de análisis recomendados por organismos internacionales.
- b) Análisis fisicoquímico: Se midieron los parámetros de grasa, acidez, densidad y proteína mediante métodos establecidos por el Manual de Métodos de Análisis del MINAGRI (2017) y otras normas técnicas reconocidas a nivel nacional.

3.7. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS

Los resultados obtenidos fueron sistematizados en hojas de cálculo y posteriormente procesados utilizando los programas estadísticos SPSS versión 25 y Microsoft Excel. Para el análisis específico de aflatoxinas M1 se llevó a cabo mediante el software RIDASOFT, correspondiente al Kit de ELISA utilizado, el cual permitió una interpretación precisa de las concentraciones obtenidas y el coeficiente de correlación R. (100)

El procesamiento de los parámetros fisicoquímicos de la leche se realizó mediante el software SPSS versión 25, en donde se realizó un análisis descriptivo mediante medidas de tendencia central (media) y dispersión (desviación estándar), seguido de un análisis inferencial utilizando ANOVA aplicando primero un análisis de normalidad mediante Shapiro-Wilk ($\alpha = 0,05$) para determinar el tipo de distribución de los datos. Los parámetros de distribución normal fueron tratados como paramétricos y analizados mediante ANOVA de un factor, seguido de la prueba post hoc Tukey HSD cuando se detectaron diferencias significativas.

3.8. PROCEDIMIENTO

1. Recolección de muestras y procedimiento para la determinación de Aflatoxinas M1:

Las muestras se recolectaron de las comerciantes que expenden leche fresca en lo centro de abasto de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon. La recolección se realizó con el respectivo etiquetado e identificación del puesto del comerciante.

PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

- ✓ **Envases:** Las muestras deben colectarse en envases limpios, secos, herméticos, tales como frascos de vidrio de boca ancha, bolsas de plástico desechables, cuya capacidad sea adecuada para la cantidad de muestra a recolectar. Para la toma de muestras destinadas a ensayos microbiológicos los envases deben ser estériles y si son bolsas plásticas, éstas deben ser de primer uso. Cuando se utilicen envases con tapas, éstas deben ser tipo rosca no metálica, es necesario que el material sea insoluble, no absorbente e inerte. Las bolsas de plástico desechables deben sellarse firmemente tras su llenado, de forma que no se produzca goteo o escurrimiento durante su manipulación posterior (101).
- ✓ **Cantidad de muestra:** La cantidad de muestra recomendada para los ensayos fisicoquímicos y/o sensoriales deben conservarse en su envase original o bolsa de primer uso, se debe contar con 3 unidades o de lo contrario 100 g o 300 mL, debe existir refrigeración (0 a 4°C) y su tiempo máximo para el transporte al laboratorio debe de ser lo más rápido posible y antes de las 24 horas de tomada la muestra (101).
- ✓ **Identificación de las muestras:** Las muestras deben estar claramente identificadas mediante un rótulo o etiqueta, consignando, con letra legible y tinta indeleble, los siguientes datos, que deben coincidir con lo declarado en la solicitud de ensayo:
 - Identificación de la muestra,
 - Lugar de la toma de muestra,
 - Fecha y hora de la toma de muestra,
 - Número de lote (si fuera el caso)
 - Temperatura de la muestra al momento de ser tomada.

La etiqueta, deberá colocarse de forma tal, que se evite que el envase sea abierto y la muestra sea alterada. Por ejemplo: entre la tapa y el frasco, en el nudo o cierre de la bolsa. Dependiendo de las circunstancias las muestras pueden precintarse a fin de detectar toda apertura no autorizada. Cuando una muestra se destine para más de un tipo de ensayo se identificarán las unidades de muestra para cada uno de éstos, de forma tal, que sean rastreables hasta la muestra original (101).

✓ **Preparación de la muestra**

Primero se aseguró que las muestras estén almacenadas correctamente, generalmente deben refrigerarse a 2-4°C durante 1 o 2 días.

2. Determinación de las propiedades fisicoquímicas de la leche fresca:

En esta etapa se determinó las propiedades fisicoquímicas de la leche fresca mediante el uso del equipo LACTICHECK, en el laboratorio de sanidad de la Escuela Profesional de Zootecnia; previa capacitación de uso de la Ing. Fiorela Guzmán Figueroa.

Para realizar una investigación válida se procedió a analizar tres veces la muestra de cada puesto para obtener un promedio confiable. Esta misma operación se realizó para los 3 centros de abasto.

3. Determinación de aflatoxinas M1 en leche fresca

En esta etapa se trabajó con el protocolo establecido por el kit de Elisa para aflatoxinas M1 (REAGEN).

✓ **Preparación de muestra**

- Se tomó 1 mL de muestra en una centrifuga y se agregó 0,5 mL de solución de metanol al 20% y se agitó vigorosamente durante 1 minuto con un multivortice o agitador.
- Se centrifugó a 8000xg durante 5 minutos
- Se tomó 50 uL de muestra por pocillo para el ensayo

✓ **Preparación de reactivos**

- Los reactivos se mezclaron invirtiéndolos antes de su uso. Se prepararon los volúmenes necesarios para los pocillos a analizar.
- Se mezcló 1 volumen de concentrado de tampón de lavado 20X con 19 volúmenes de agua destilada.
- Se etiquetó las tiras individuales que se utilizaron tal como se muestra en el siguiente cuadro:

Tabla N° 11: Etiquetado de la reparación de los reactivos

Componente	Volumen por reacción	24 reacciones
Aflatoxina M1 anticuerpo #1	50 UI	1.2 mL
Anticuerpo conjugado con HRP 1X #2	100 UI	2.4 mL
Solución de lavado 1X	2.0 MI	48 mL
Tampón de detección	100 UI	2.4 mL
Sustrato TMB	100 UI	2.4 mL

Fuente: REAGEN. Manual del kit de prueba ELISA de aflatoxina M1. (100)

1. Se agregó 50 uL de cada estándar de aflatoxina M1 por duplicado en diferentes recipientes (se agregaron los estándares a la placa de concentración baja a concentración alta).
2. Se agregó 50 uL de cada muestra por duplicado en diferentes recipientes de muestra.
3. Se agregó 50 uL de anticuerpo N°1 a cada recipiente y se mezcló bien agitando suavemente la placa manualmente durante 1 minuto.
4. Se incubó la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente (20 - 25 °C / 68 - 77 °F).
5. Se lavó la placa 4 veces con 250 uL de solución de lavado 1X. Después del último lavado, se volteó la placa y secó suavemente con toallas de papel.
6. Se agregó 100 uL de HRP-Anticuerpo n.º2 a cada pocillo. Se incubó la placa durante 30 minutos a temperatura ambiente (20 a 25 °C).
7. Se lavó la placa 4 veces con 250 uL de solución de lavado 1X. Después del último lavado, se volteó la placa y se secó suavemente con toques sobre toallas de papel (se realizó el siguiente paso inmediatamente después de lavar la placa. No se permitió que la placa se seque al aire entre los pasos de trabajo).
8. Se agregó 100 uL de sustrato TMB y posteriormente se tomó el tiempo en un cronómetro a la reacción inmediatamente después de agregar el sustrato. Luego se mezcló la solución agitando suavemente la placa manualmente durante 1

minuto mientras se incubaba. (No se colocó ningún sustrato en el recipiente original para evitar una posible contaminación. Cualquier solución de sustrato que presente coloración es indicativa de deterioro y debe desecharse. Se recomienda cubrir la placa de micro titulación durante la incubación).

9. Después de la incubación durante 15 minutos a temperatura ambiente, se agregó 100 uL de tampón de parada para detener la reacción enzimática.
10. Se hizo la lectura la placa lo antes posible después de la adición del tampón de parada en un lector de placas con longitud de onda de 450 nm (Antes de la lectura, se utilizó un paño sin pelusa en la parte inferior de la placa para asegurar de que no haya humedad ni huellas dactilares que interfieran con las lecturas).

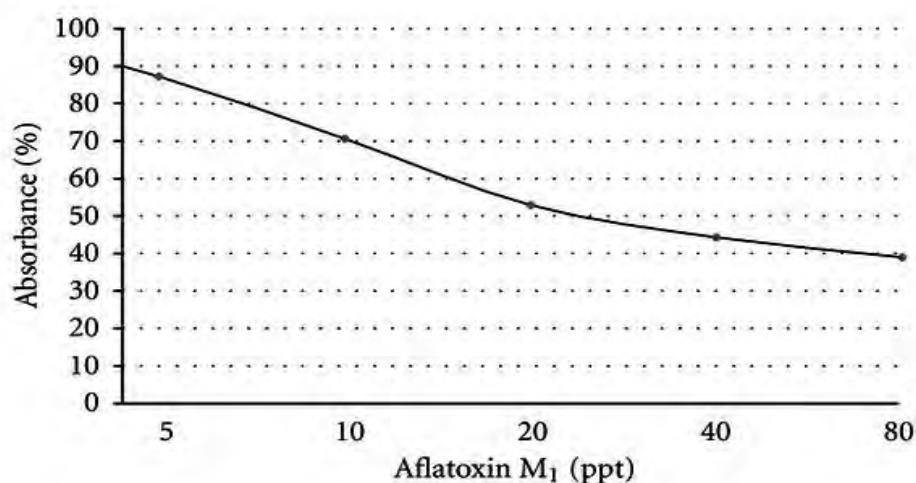
Cálculos de concentración de aflatoxina M₁ previos al ingreso del SOFTWARE RIDASOF

Se elaboró una curva estándar trazando la absorbancia relativa media (%) obtenida de cada estándar de referencia contra su concentración en µg/kg en una curva logarítmica.

$$\text{Absorbancia relativa (\%)} = \frac{\text{estándar de absorbancia (o muestra)} \times 100}{\text{estándar de absorbancia cero}}$$

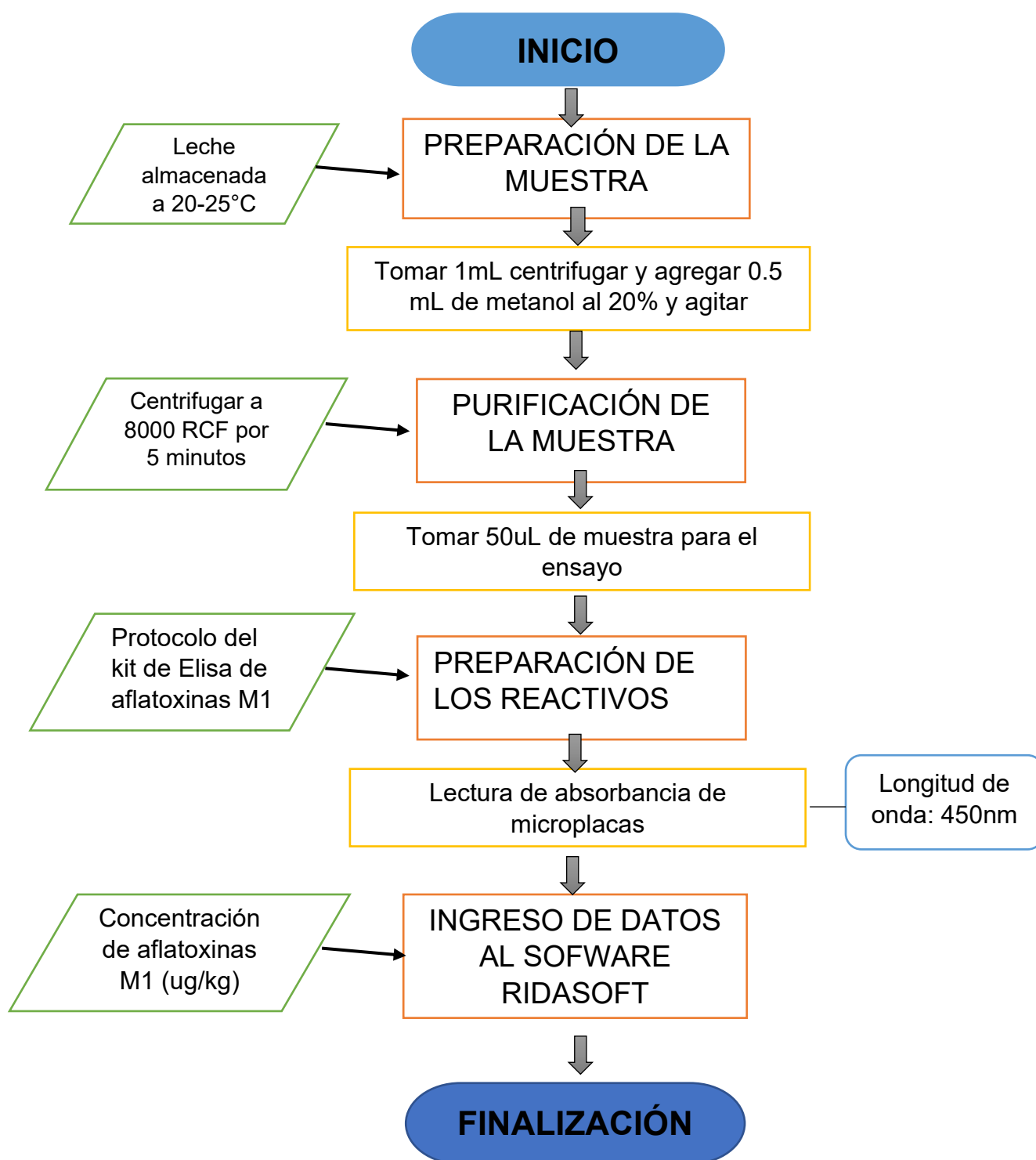
Los datos obtenidos de absorbancia relativa obtenidas para cada muestra fueron ingresados al SOFTWARE RIDASOF para el cálculo exacto de aflatoxinas M₁.

Gráfico N° 1: Curva estándar de absorbancia



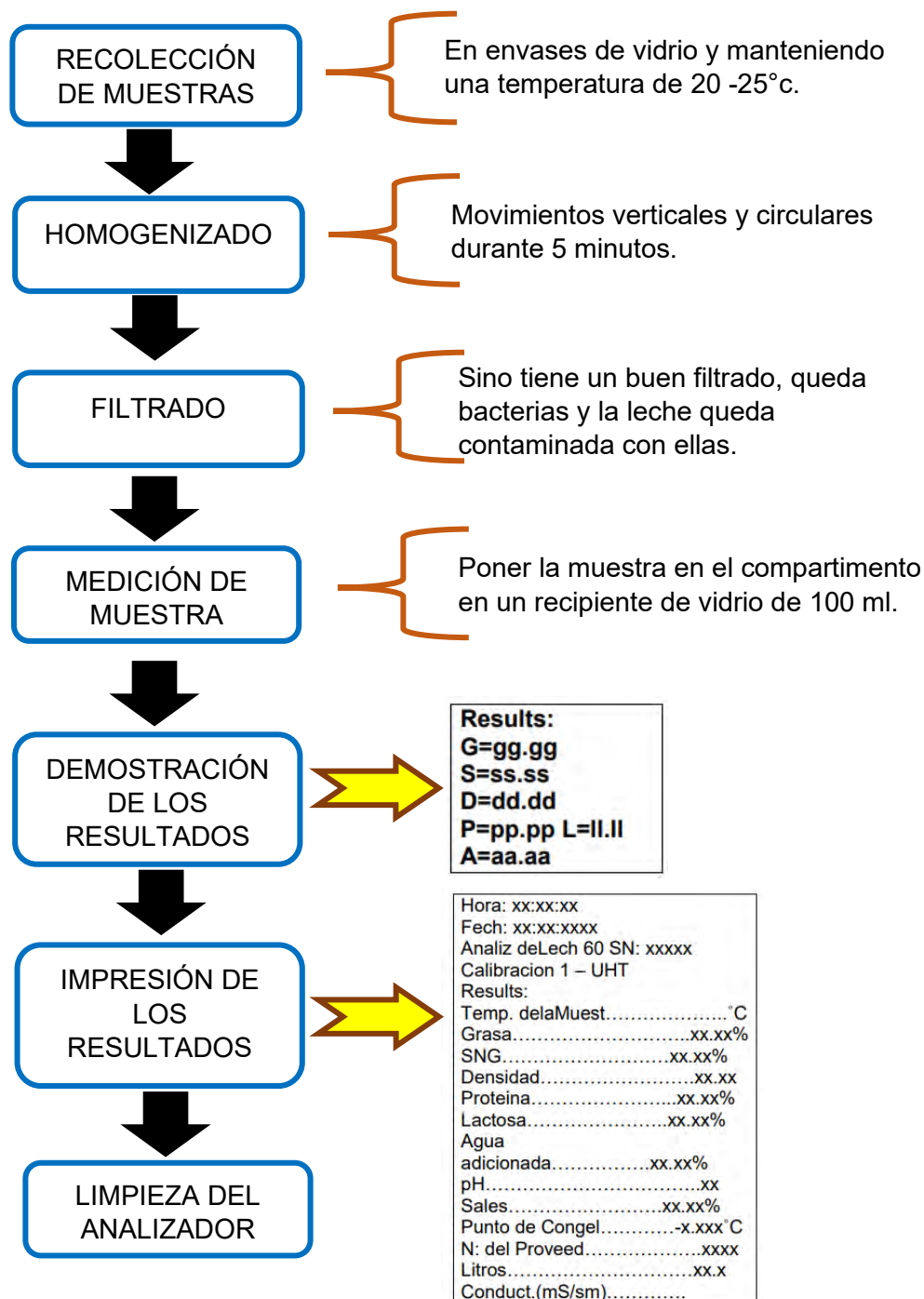
Fuente: REAGEN. Manual del kit de prueba ELISA de aflatoxina M₁. (100)

Flujograma N°2: Procedimiento de evaluación de Aflatoxinas M₁



Fuente: Elaboración propia

Flujograma N° 3: Procedimiento de evaluación del análisis fisicoquímico en el equipo LACTICHECK



Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO IV ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. PROCEDENCIA DE LA LECHE FRESCA

Tabla N° 12: Procedencia de leche fresca expendidas en el Mercado Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad del Cusco

Provincia	Lugares de procedencia	Frecuencia	Porcentaje (%)	Porcentaje total
Calca	Amaru	3	8,3	24.9%
	Calca	3	8,3	
	Pisac	3	8,3	
Cusco	Anahuarque	3	8,3	24.9%
	Chocco	3	8,3	
	Kayra	3	8,3	
Anta	Anta	9	25,0	41.6%
	Ccallampata	3	8,3	
	Zurite	3	8,3	
Urubamba	Urubamba	3	8,3	8.3%
Total		36	100,0	100%

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

En la tabla N° 12 se observa el lugar de procedencia de la leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. La muestra procede principalmente de la provincia de Anta con un 41.6% en específico de las localidades de Anta (25.0%), Ccallampata (8.3%) y Zurite (8.3%). El 24.9% proceden de la provincia de Calca en específico de las localidades de Amaru (8.3%), Calca (8.3%) y Pisac (8.3%), al igual que la provincia del Cusco con un 24.9% de las localidades de Anahuarque (8.3%), Chocco (8.3%) y Kayra (8.3%) y de la provincia de Urubamba con un 8.3%.

Según un boletín pecuario del INEI, la producción de leche fresca de vaca por provincias en el ámbito regional a abril de 2024. La producción de leche fresca de vaca en mayor cantidad se ha producido en las provincias de Anta con 2,057.84 toneladas, Calca 442.32 toneladas, Urubamba 241.59 toneladas y Cusco 146.19 toneladas. (102)

4.2. NIVELES DE AFLATOXINAS M1 EN LECHE FRESCA

4.2.1. Niveles de Aflatoxina M1 en el Mercado Vinocanchón

Tabla N° 13: Concentración de Aflatoxinas M1 en el Mercado Vinocanchón de la ciudad del Cusco

PUESTO	ABS. MEDIA	ABS. (%)	CONCENTRACIÓN CALCULADA (µg/kg)	FACTOR DE DILUCIÓN	AFLATOXINAS M1 (µg/kg)
1	143.563	66.2	0.241	1.5	0.361
2	133.510	61.5	0.304	1.5	0.457
3	147.590	68.0	0.219	1.5	0.328
4	139.730	64.4	0.264	1.5	0.396

Fuente: Datos recolectados del software Ridasof

En la tabla N° 13 se muestran los resultados de los niveles de aflatoxinas M₁ en los 4 puestos del mercado Vinocanchon. El puesto N° 1 muestra una absorbancia media de 143.563 con una concentración de aflatoxinas M₁ de 0.361µg/kg. A diferencia del puesto N° 2 que presenta una menor absorbancia (133.510) y una mayor concentración en aflatoxinas M₁ (0.457µg/kg) a diferencia de los demás puestos. Sin embargo, el puesto N° 3 muestra una absorbancia media de 147.590 y una concentración de aflatoxinas M₁ de 0.328µg/kg y el puesto N° 4 una absorbancia media de 139.730 y una concentración de aflatoxinas M1 de 0.396µg/kg.

Por lo tanto, estos resultados nos indican que el puesto N° 1 (0.361µg/kg), el puesto N°3 (0.328µg/kg) y el puesto N° 4 (0.396µg/kg) presentan una concentración moderada de aflatoxinas M₁ y se encuentra dentro del rango establecido por la normativa. Sin embargo, el puesto N° 2 (0.457µg/kg) presenta una concentración de aflatoxinas M₁ muy próximos al límite establecido por el Codex Alimentarius (0.5µg/kg) por lo que requiere una mayor vigilancia y medidas correctivas para una mejor calidad de leche fresca.

En el estudio realizado por Otero Chafalote L. Lima (2021), se reportó la presencia de aflatoxina M₁ en el 48,7 % (19/39) de las muestras de leche fresca analizadas, con concentraciones que variaron entre 0,002 y 0,043 µg/L. Estos niveles se encuentran por debajo del límite máximo permisible establecido por el Codex Alimentarius (0,5 µg/L), lo que indica que las muestras evaluadas no representaban un riesgo significativo para la salud del consumidor. Los resultados obtenidos en nuestra investigación son consistentes con los hallazgos del presente estudio, lo cual sugiere una tendencia similar en cuanto a la concentración de aflatoxina M₁. (33)

Por su parte, Huaracha G. Moquegua (2021) determinaron presencia de aflatoxina M₁ en el 100 % de las muestras analizadas, con concentraciones que variaron entre 0,00725 y 0,01195 µg/L. Estos niveles se encuentran por debajo del límite máximo permisible establecido por la normativa vigente, lo que indica que las muestras no representaban riesgo para el consumo humano. Sin embargo, los valores obtenidos en dicho estudio fueron inferiores a los hallados en la presente investigación. (34)

4.2.2. Niveles de aflatoxinas M1 en el Mercado Rosaspata

Tabla N° 14: Concentración de Aflatoxinas M1 en el Mercado Rosaspata de la ciudad del Cusco

PUESTO	ABS. MEDIA	ABS. (%)	CONCENTRACIÓN CALCULADA µg/kg	FACTOR DE DILUCIÓN	AFLATOXINAS M1 (µg/kg)
1	145.850	67.2	0.228	1.5	0.342
2	152.390	70.2	0.194	1.5	0.291
3	133.450	61.5	0.305	1.5	0.457
4	134.900	62.2	0.295	1.5	0.442

Fuente: Datos recolectados del software Ridasof

En la tabla N° 14 se muestran los resultados de los niveles de aflatoxinas M₁ en los 4 puestos del mercado Rosaspata. El puesto N°1 con absorbancia media de 145.850 presenta una concentración de aflatoxinas M₁ de 0.342µg/kg. El puesto N° 2 con absorbancia media de 152.390 presenta una concentración de aflatoxinas M₁ de 0.291µg/kg. A diferencia del puesto N° 3 que presenta una menor absorbancia de 133.450 con una concentración mayor de aflatoxinas de 0.457µg/kg y el puesto N° 4 con absorbancia 134.900 presenta una concentración de aflatoxinas M₁ 0.442µg/kg.

Por lo tanto, los resultados obtenidos en el estudio muestran que el puesto N° 1 y N°2 presentan valores dentro del límite permitido (0.342 y 0.291µg/kg respectivamente) establecido por el Codex Alimentarius (0.5µg/kg) los cuales no representan un riesgo inmediato. Sin embargo, los puestos N°3 y N°4 con valores de 0.457 y 0.442 respectivamente aún se encuentran dentro del límite permisible establecido, pero cercanos al límite superior por lo que es necesario una mayor vigilancia y verificación de las fuentes de leche fresca.

El estudio realizado por Puga Torres B, Salazar D, Cachiguango M, Cisneros G y Gómez Bravo C. Ecuador (2020). El 100% de las muestras fueron positivas para esta micotoxina, presentando un valor medio de 0,0774 µg/kg con un rango de 0,023 a 0,751 µg/kg. Estos niveles de AFM1 excedieron el límite regulatorio de la Unión Europea de 0,05 µg/kg en el 59,3% (124/209) de las muestras, mientras que solo el 1,9% (4/209) excedió el límite legal ecuatoriano de 0,5 µg/kg. Los valores reportados en dicho estudio son comparables con los obtenidos en la presente investigación, evidenciando una tendencia similar en la contaminación por aflatoxina M1 en leche cruda. (29)

Así mismo el estudio realizado por Otero Chafalote L. Lima (2021) se encontró la presencia de aflatoxinas M₁ en un 48.7% (19/39) cuyos valores se encuentran en un rango de 0.002-0.043ug/L que no superan el límite permisible establecido por la normativa (0.5ug/L), siendo estos valores similares a lo encontrado en nuestro estudio. (33)

4.2.3. Niveles de aflatoxinas M1 en el Mercado Casccaparo

Tabla N° 15: Concentración de aflatoxinas M1 en el Mercado Casccaparo de la ciudad del Cusco

PUESTO	ABS. MEDIA	ABS. (%)	CONCENTRACIÓN CALCULADA (µg/kg)	FACTOR DE DILUCIÓN	AFLATOXINAS M1 (µg/kg)
1	122.560	56.5	0.388	1.5	0.582
2	134.500	62.0	0.298	1.5	0.446
3	144.767	66.7	0.234	1.5	0.351
4	121.090	55.8	0.401	1.5	0.601

Fuente: Datos recolectados del software Ridasof

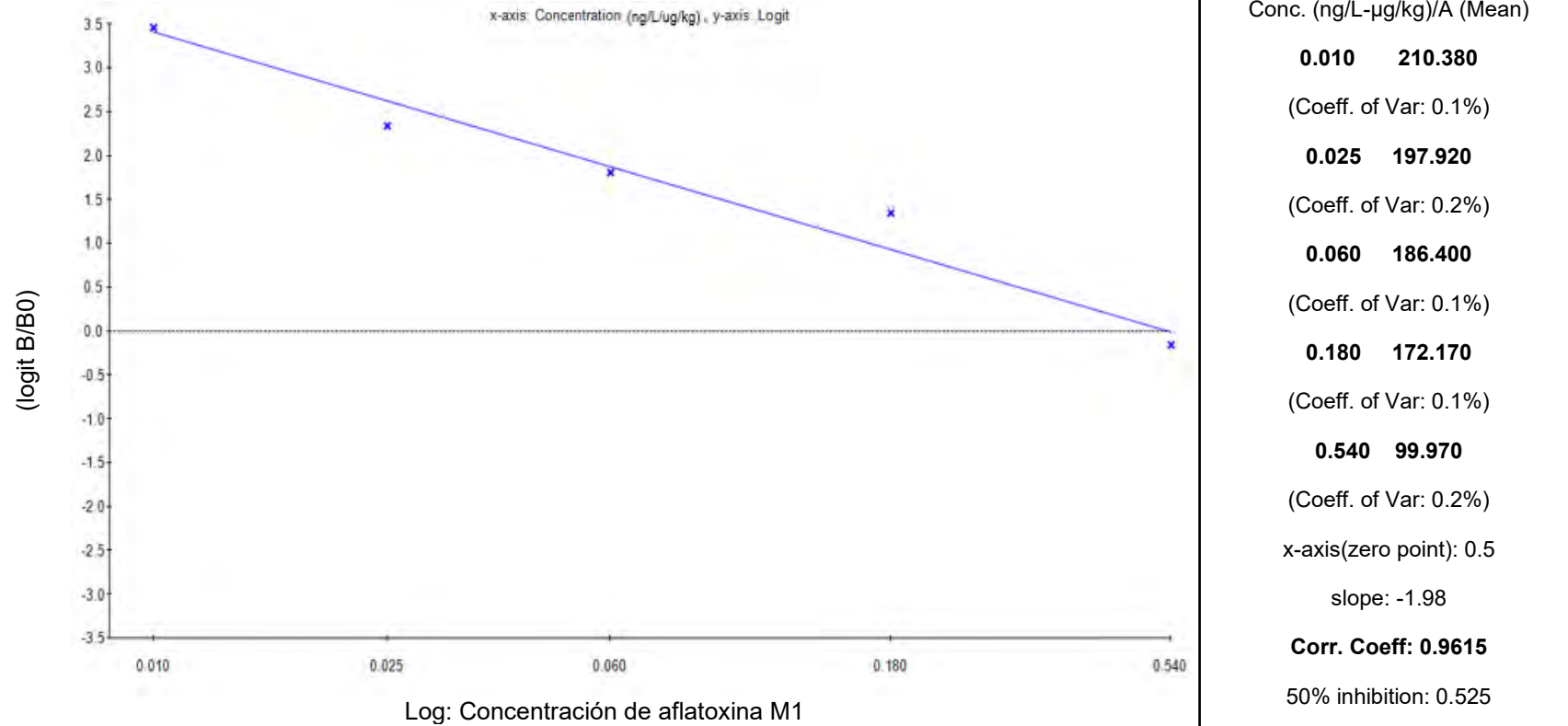
En la tabla N° 15 se muestran los resultados de los niveles de aflatoxinas M₁ en los 4 puestos del mercado Casccaparo. El puesto N°1 muestra una de las concentraciones más altas en aflatoxinas M1 (0.582µg/kg) con una absorbancia media de 122.560 al igual que el puesto N° 4 que muestra la concentración más alta de aflatoxinas M1 con 0.601µg/kg y una absorbancia media de 121.090. Sin embargo, el puesto N° 2 muestra una concentración moderada en aflatoxinas M1(0.446µg/kg) con una absorbancia media de 134.500, siendo el puesto N°3 que muestra la concentración más baja en aflatoxinas M1 (0.351µg/kg) con una absorbancia de 144.767.

Por lo tanto, los resultados obtenidos muestran que el puesto N° 1 y el puesto N° 4 presentan niveles de aflatoxinas M₁ por encima del límite legal permitido por el Codex Alimentarius (0.5µg/kg), esto implica un gran riesgo para la salud pública, por lo que deben ser considerados no aptos para el consumo humano. Mientras que el puesto N° 2 y el puesto N° 3 presentan una concentración de aflatoxinas M₁ dentro del límite permitido, aunque el puesto N° 2 (0.446µg/kg) está relativamente cercano al límite por lo que es necesario un seguimiento preventivo.

Nourin T., Meher N., Suvra D. y Sahana P. Bangladesh (2020), encontraron que el 70 % de las muestras de leche cruda analizadas estaban contaminadas con aflatoxina M₁, presentando concentraciones que variaron entre 22,79 y 1 489,28 ng/kg. Estos niveles superan el límite máximo permisible establecido por la Comisión del Codex Alimentarius (500 ng/kg), lo que evidencia una alta incidencia de esta micotoxina en la leche producida en esa región. Los resultados obtenidos guardan similitud con los del presente estudio, al reflejar una problemática común en la inocuidad de la leche cruda (30)

Landeros P, Noa M, López Y, et al. México (2018) reportaron la presencia de aflatoxina M₁ en el 100 % de las muestras analizadas, con concentraciones que oscilaron entre 0,005 y 0,100 µg/L. Solo el 0,7 % de las muestras superó el límite máximo permisible establecido por la normativa internacional (0,05 µg/L). Estos resultados evidencian niveles de contaminación inferiores a los obtenidos en el presente estudio. (31)

Gráfico N° 2: Curva estandar de absorbancia de las muestras de leche fresca evaluadas en el mercado Cascaparo, Rosaspata y Vinocanchon de la ciudad del Cusco



B = absorbancia del estándar o muestra

B0 = absorbancia del estándar cero (sin aflatoxina)

Fuente: Datos recolectados del software Ridasof

Se realizó un análisis del coeficiente de correlación entre las absorbancias obtenidas para los estándares de concentración conocida de aflatoxina M₁ y las absorbancias de las muestras problema de los tres mercados. El coeficiente de correlación resultante fue de **$r = 0.9615$** , lo cual indica una relación lineal positiva muy fuerte. Este valor respalda la validez de la curva de calibración utilizada y la fiabilidad del método aplicado para la determinación cuantitativa de aflatoxinas en las muestras analizadas y que las muestras presentan un comportamiento absorbente muy similar al de los estándares. Los puntos azules siguen una normalidad por lo que es una prueba estadística paramétrica.

4.3. COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS NIVELES DE AFLATOXINAS M1 CON EL CODEX ALIMENTARIUS

Tabla N°16: Comparación de los niveles de aflatoxinas M1 con la normativa establecida por el Codex Alimentarius

MERCADO	PUESTO	RESULTADOS DE AFLATOXINAS M1 (µg/kg)	CODEX ALIMENTARIUS (≤ 0.5µg/kg)
Casccaparo	Puesto 1	0.582	0.5
	Puesto 2	0.446	0.5
	Puesto 3	0.351	0.5
	Puesto 4	0.601	0.5
Rosaspata	Puesto 1	0.342	0.5
	Puesto 2	0.291	0.5
	Puesto 3	0.457	0.5
	Puesto 4	0.442	0.5
Vinocanchon	Puesto 1	0.361	0.5
	Puesto 2	0.457	0.5
	Puesto 3	0.328	0.5
	Puesto 4	0.396	0.5

Fuente: Datos recolectados del software Ridasof

En la tabla N° 16 se muestra la comparación de los niveles de aflatoxina M₁ (AFM₁) detectados en muestras de leche fresca provenientes de los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón, en relación con el límite máximo permitido por el Codex Alimentarius (0,5 µg/kg).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa que la mayoría de las muestras presentan concentraciones de AFM₁ inferiores al límite máximo establecido por el Codex Alimentarius, lo que indica que, en términos generales, la leche analizada cumple con la normativa internacional vigente.

En el mercado de Casccaparo las concentraciones de AFM₁ variaron entre 0,351 y 0,601 µg/kg. Sin embargo, los puestos 1 (0,582 µg/kg) y 4 (0,601 µg/kg) superaron el límite permitido de 0,5 µg/kg, evidenciando incumplimiento parcial de la normativa en este mercado.

En el mercado de Rosaspata los valores registrados oscilaron entre 0,291 y 0,457 µg/kg, encontrándose todas las muestras dentro del límite máximo permitido, lo que indica cumplimiento total de la normativa del Codex Alimentarius en este mercado.

En el mercado de Vinocanchón las concentraciones de AFM1 se situaron en un rango de 0,328 a 0,457 µg/kg, sin superar el límite establecido. Por lo tanto, las muestras analizadas en este mercado cumplen con la normativa internacional.

Los resultados indican que la leche fresca comercializada en los mercados de Rosaspata y Vinocanchón es apta según el Codex Alimentarius, mientras que en el mercado de Casccaparo se identificaron casos puntuales de incumplimiento, lo que representa un riesgo potencial para la salud del consumidor y justifica la implementación de medidas de control y monitoreo continuo.

4.4. PARÁMETROS DE LA CALIDAD FÍSICOQUÍMICA DE LA LECHE FRESCA

4.4.1. Determinación de grasa

Tabla N°17: Contenido de grasa en la leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Mercado	N	Media (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	Desviación estándar (%)
Casccaparo	12	3,29	3,03	3,96	0,39
Rosaspata	12	3,87	3,49	4,85	0,58
Vinocanchon	12	3,68	3,34	4,06	0,33
Total	36	3,61	3,03	4,85	0,50

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

En la Tabla N°17 se observa que el contenido promedio de grasa en la leche fue de 3,61%, con valores entre 3,03% y 4,85%. El mercado de Rosaspata registró el promedio más alto (3,87%) y la mayor variabilidad, mientras que Vinocanchón mostró una media de 3,68% con menor dispersión, reflejando mayor homogeneidad. En contraste, Casccaparo presentó el promedio más bajo (3,29%) y un valor mínimo (3,03%) inferior a los demás mercados. Por lo que los resultados obtenidos muestran que el contenido promedio de grasa en la leche fresca de los tres mercados evaluados cumple con el valor mínimo de 3,20 % establecido por la normativa del MINAGRI (2017).

Según Condori Nina E. (2022), obtuvo un resultado de grasa con una media de 3.65%, mayor a nuestra investigación, esta diferencia se puede deber principalmente por el mes en que se realizó el estudio ya que el trabajo de Condori se realizó en época seca (37). Durante este periodo, la disponibilidad de pastos frescos disminuye y la dieta del ganado se basa principalmente en forrajes secos y suplementos, los cuales poseen menor contenido de agua y mayor proporción de fibra y energía. Esta condición favorece la síntesis de ácidos grasos en el rumen y, en consecuencia, un incremento en el porcentaje de grasa en la leche (103).

En el estudio realizado por Huilca Cutire R. (2020) muestra un resultado promedio de 3.58 % con un mínimo de 1,51% y un máximo de 4,25% siendo estos valores inferiores a los encontrados en el presente estudio. (39)

4.4.2. Determinación de sólidos no grasos

Tabla N° 18: Contenido de sólidos no grasos en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Mercado	N	Media (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	Desviación estándar (%)
Casccaparo	12	7,77	7,40	8,31	0,33
Rosaspata	12	8,18	7,56	8,49	0,37
Vinocanchon	12	8,45	8,30	8,77	0,17
Total	36	8,13	7,40	8,77	0,41

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

En la tabla N°18 se muestran los resultados estadísticos descriptivos del contenido de Sólidos No Grasos (SNG, %) en leche fresca expendida en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. El valor promedio general de SNG fue de 8,13%, con un rango entre 7,40% y 8,77%, y una desviación estándar de 0,41, lo que indica una moderada variabilidad en la composición de las muestras.

La leche expendida en el mercado Vinocanchón presentó el promedio más elevado de SNG (8,46%). Mientras que la leche expendida en el mercado Rosaspata registró un promedio intermedio de 8,18%. Por el contrario, la leche expendida en el mercado Casccaparo tuvo el valor promedio más bajo de 7,77%.

De acuerdo con el Reglamento Sanitario de Leche y Productos Lácteos (D.S. N.º 007-2017-MINAGRI), los resultados muestran que Casccaparo está por debajo del límite, lo que podría asociarse a adulteración (como adición de agua) o deficiencias alimenticias del ganado. Rosaspata se aproxima al umbral, mientras que solo Vinocanchón cumple con lo establecido, evidenciando mejores prácticas ganaderas o de manejo post-ordeño.

Condori Nina E. (2022) obtuvo un resultado de SNG 8.73% asemejándose al resultado obtenido para el mercado de Vinocanchon, por el contrario, difiere con los resultados obtenidos para el mercado de Rosaspata y Casccaparo ya que son valores inferiores. (37)

En el estudio de Huilca Cutire (2020) se reportó un valor de SNG de 8,01%, ligeramente inferior al promedio obtenido en el presente estudio (8,13%). No obstante, ambos estudios presentan valores por debajo del mínimo normativo en los mercados de Rosaspata y Casccaparo, mientras que en el mercado Vinocanchón se evidencia un valor superior, lo que sugiere mejoras en prácticas ganaderas, alimentación o manejo post-ordeño. (39)

4.4.3. Determinación de densidad

Tabla N° 19: Densidad en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Mercado	N	Media (g/mL)	Mínimo (g/mL)	Máximo (g/mL)	Desviación estándar (g/mL)
Casccaparo	12	1,023	1,021	1,026	0,001
Rosaspata	12	1,026	1,021	1,028	0,002
Vinocanchon	12	1,028	1,027	1,029	0,001
Total	36	1,025	1,021	1,029	0,002

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

En la tabla N°19 se presentan los resultados estadísticos del análisis de densidad en donde el valor promedio general fue de 1,025 g/mL, con valores mínimos y máximos de 1,021 a 1,029 g/mL, respectivamente. La desviación estándar global fue de 0,002, lo que sugiere una leve variabilidad entre las muestras. El mercado Vinocanchón presentó el promedio más alto de densidad (1,028g/mL). El mercado Rosaspata obtuvo un promedio de 1,026 g/mL. El mercado Casccaparo registró el promedio más bajo (1,023 g/mL, situándose claramente por debajo del límite mínimo establecido.

Según Condori Nina E. (2022), en su estudio obtuvo un resultado de 1.029 g/mL este valor se asemeja al valor del mercado de Vinocanchon, pero difiere con los mercados de Rosaspata y Casccaparo ya que están por debajo del promedio descrito. (37)

Así también Huillca Cutire R. (2020) obtuvo un resultado de 1.029 g/mL este valor también se asemeja al valor del mercado de Vinocanchon y del mismo modo difiere con los mercados de Rosaspata y Casccaparo ya que están por debajo del promedio encontrado por Huillca. (39)

De acuerdo con el Reglamento Sanitario de Leche y Productos Lácteos (D.S. N.º 007-2017-MINAGRI), la densidad de la leche cruda debe estar en el rango de 1,029 a 1,034 g/mL a 15 °C. Los resultados indican que solo el mercado de Vinocanchón cumple con el valor mínimo normativo de densidad promedio. Por el contrario, el mercado Casccaparo y Rosaspata presentan valores por debajo del límite inferior permitido (1,028 g/mL), lo cual podría sugerir una posible adulteración de la leche mediante la adición de agua o una extracción parcial de grasa, ambas prácticas que reducen el valor nutricional y la calidad del producto.

4.4.4. Determinación de contenido agua

Tabla N° 20: Contenido de agua añadida en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Mercado	N	Media (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	Desviación estándar (%)
Casccaparo	12	4,47	1,23	7,69	3,10
Rosaspata	12	1,40	0,00	1,95	0,83
Vinocanchon	12	1,25	0,00	1,85	0,76
Total	36	2,37	0,00	7,69	2,38

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

La Tabla N°20 muestra los estadísticos descriptivos del contenido de agua añadida a las muestras de leche de los tres mercados de la ciudad del Cusco.

El promedio general fue de 2,38%, con un valor mínimo de 0,00% (sin agua añadida) y un máximo de 7,69%, el mercado Casccaparo presentó el valor promedio más alto de agua añadida con 4,47%, lo que indica una alta probabilidad de adulteración. El mercado Rosaspata obtuvo un promedio de 1,40%, así como valores que van desde 0,00% hasta 1,95%, lo cual es más aceptable dentro de márgenes de error por manipulación o conservación. El mercado Vinocanchón mostró el promedio más bajo con 1,25% reflejando menor adulteración y mayor consistencia en la calidad del producto.

Condori Nina E. (2022) reportó un valor de 4,67%, superior al obtenido en el presente estudio, lo que indica que las muestras analizadas en su investigación fueron manipuladas mediante la adición de agua (37).

Huillca Cutire R. (2020) reportó porcentajes de agua añadida variables según el mes: 13,68% en enero, 2,05% en febrero y 4,05% en marzo, evidenciando adulteración de la leche. Estos valores resultan superiores a los obtenidos en el presente estudio. (39)

Según el Reglamento Sanitario de Leche y Productos Lácteos (D.S. N.º 007-2017-MINAGRI) la leche cruda entera no debe contener agua añadida, siendo su detección indirecta a través de parámetros como grasa, SNG, densidad y punto de congelación, si hay parámetros que están por debajo del límite, se presume de una adulteración.

Los resultados muestran que las muestras de leche del mercado Casccaparo presentan un contenido de agua elevado y variable ya que junto con los análisis de densidad y SNG, confirman la adulteración de la leche. En contraste, los mercados de Rosaspata y Vinocanchón registran valores bajos o nulos, reflejando mejores prácticas de manejo.

4.4.5. Determinación del punto de congelación

Tabla N° 21: Punto de congelación °C en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Mercado	N	Media °(C)	Mínimo (°C)	Máximo (°C)	Desviación estándar (°C)
Casccaparo	12	-0,52	-0,55	-0,49	0,030
Rosaspata	12	-0,55	-0,56	-0,55	0,005
Vinocanchon	12	-0,55	-0,57	-0,54	0,013
Total	36	-0,54	-0,57	-0,49	0,023

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

En la Tabla N°21 se muestran los resultados obtenidos en donde el promedio general del punto de congelación fue de -0,54 °C, con valores entre -0,57 °C y -0,49 °C, y una desviación estándar global de 0.023, indicando cierta variabilidad entre las muestras. Los mercados de Rosaspata y Vinocanchon presentan una media -0,55 °C mientras que el mercado Casccaparo registró una media de (-0,52 °C) menos negativo.

Condori Nina E. (2022) en su estudio encontró un valor de -0.56°C lo cual se asemeja a los valores encontrados en los mercados de Rosaspata y Vinocanchon con -0.55°C, por el contrario, difiere con el mercado de Casccaparo con un -0.52°C. (37)

En el estudio de Arce Gonzales E. (2022) encontraron un valor de -0,55 igual al que se encontró en el presente estudio con respecto a los mercados Rosaspata y Vinocanchon y difiere con el mercado de Casccaparo (35).

El punto de congelación (o punto crioscópico) es un parámetro que detecta adulteración por adición de agua. Según el Reglamento Sanitario de Leche y Productos Lácteos (D.S. N.º 007-2017-MINAGRI), el valor estándar para leche fresca es de -0,55 °C. Valores menos negativos (más cercanos a cero) suelen indicar dilución con agua, mientras que valores más negativos sugieren un producto más concentrado o sin adulteración. Los datos indican que el mercado de Casccaparo presenta leche con un punto de congelación significativamente más alto (menos negativo) lo que sugiere la posible adición de agua en las muestras. En cambio, los mercados Rosaspata y Vinocanchón muestran valores promedio dentro del rango crioscópico esperado. Estos resultados se correlacionan con los análisis de agua añadida, densidad y SNG, reforzando la evidencia de que la leche expandida en Casccaparo podría estar adulterada con agua.

4.4.6. Determinación de proteínas

Tabla N° 22:Contenido de proteínas en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Mercado	N	Media (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	Desviación estándar (%)
Casccaparo	12	2,65	2,61	2,73	0,042
Rosaspata	12	2,81	2,78	2,89	0,043
Vinocanchon	12	2,87	2,81	2,91	0,029
Total	36	2,78	2,61	2,91	0,100

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

La tabla N°22 muestra el contenido de proteínas en leche fresca recolectadas en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. El promedio general fue de 2,78 %, con valores que oscilaron entre 2,61 % y 2,91 %, y una desviación estándar total de 0,10, lo que indica una variabilidad leve a moderada entre las muestras.

El mercado de Vinocanchón presentó el valor promedio más alto con un 2,87 %, el mercado Rosaspata registró un promedio de 2,82 % y el mercado Casccaparo presentó el valor más bajo con 2,66 % siendo el mercado con menor contenido proteico.

Según Condori Nina E. (2022) en su estudio encontró un valor de 3.24% este valor difiere de nuestro estudio debido a que es superior al encontrado, esto puede ser debido a deficiencias en la alimentación del ganado, genética, etapa de lactancia, estado fisiológico, manejo y sanidad del ganado (37).

En cambio, Huilca Cutire R. (2020) en su estudio encontró un valor de proteína de 2.89% resultado que se asemeja al encontrado en nuestro estudio. (39)

Los resultados reflejan que el contenido de proteínas varía según el mercado, y que el mercado Vinocanchón muestra el mejor perfil nutricional seguido del mercado de Rosaspata y por último Casccaparo para este parámetro. El hecho de que el mercado Casccaparo registre el promedio más bajo de proteínas, junto con niveles altos de agua y baja densidad, puede deberse a adulteración por dilución o deficiencias en la alimentación del ganado. Este hallazgo coincide con los resultados obtenidos en los parámetros de agua añadida, punto de congelación y SNG, lo que refuerza la calidad deficiente del producto en este mercado.

4.4.7. Determinación de lactosa

Tabla N°23: Contenido de lactosa en la leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Mercado	N	Media (%)	Mínimo (%)	Máximo (%)	Desviación estándar (%)
Casccaparo	12	4,6300	4.28	4,98	,33670
Rosaspata	12	4,9358	4,80	5,05	,08888
Vinocanchon	12	5,0908	4,93	5.90	,27714
Total	36	4,8856	4,28	5,90	,31616

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

La tabla N°23 muestra el contenido de lactosa en las muestras de leche analizadas en donde el promedio general hallado en el estudio fue de 4,89%, con valores que variaron entre 4,28% y 5,90%, y una desviación estándar de 0,32, lo cual refleja una calidad aceptable en general, pero con importantes diferencias entre mercados.

Vinocanchón registró el valor promedio más alto (5,09%) y un máximo de 5,90%, con una moderada variabilidad $DE = 0,28$, lo que refleja una leche con mayor concentración de nutrientes y sin evidencia de adulteración. Rosaspata presentó un promedio de 4,94%, con baja variabilidad $DE = 0,0889$, destacando por su homogeneidad y cumplimiento del estándar esperado. Mientras que Casccaparo mostró el valor más bajo 4,63% y la mayor dispersión $DE = 0,34$, con un mínimo de 4,28%, lo que sugiere posible dilución del producto o mala conservación post ordeño.

Según Condori Nina E. (2022) en su estudio encontró un valor de 4.84% lo cual se asemeja al promedio obtenido en nuestro estudio con respecto a los mercados de Rosaspata y Vinocanchon, mientras que difiere con el mercado de Casccaparo que presenta un valor muy bajo. (37)

En cambio, Huillca Cutire R. (2020) en su estudio encontró un valor de 4.56% resultado inferior al valor hallado en nuestro estudio 4.88%, Huillca plantea factores como la mastitis como responsable a su valor hallado. (39)

La lactosa es el principal carbohidrato de la leche su valor sirve como indicador indirecto de adulteración; si hay adición de agua, el porcentaje de lactosa disminuye al diluirse.

Aunque la NTP 202.001:2017 no establece límites normativos para el contenido de lactosa, múltiples referencias científicas y técnicas coinciden en que su concentración normal en leche fresca cruda se encuentra en un rango de 4,8 % a 5,2 %. Un valor por debajo de ese rango podría indicar adulteración (dilución) o problemas en el metabolismo de la vaca.

Los resultados evidencian diferencias en el contenido de lactosa entre los mercados: Vinocanchón y Rosaspata muestran valores altos y consistentes, cumpliendo con los estándares de calidad esperados. En contraste, Casccaparo presenta el contenido más bajo, lo cual se suma a la tendencia observada en los parámetros de proteína, grasa, agua y crioscopía, y sugiere que este mercado podría estar ofreciendo leche parcialmente adulterada o de menor calidad nutricional. Esta diferencia es relevante porque la lactosa no puede aumentarse artificialmente sin detectarse fácilmente, por lo tanto, su reducción indica generalmente dilución con agua o leche de baja concentración.

RESUMEN COMPARATIVO DE LOS PARAMETROS FISICOQUÍMICOS:

Tabla N° 24: Resumen comparativo de los parámetros fisicoquímicos en leche fresca expendida en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon

Parámetro	Casccaparo	Rosaspata	Vinocanchon
Grasa (%)	3,29	3,87	3,68
Proteína (%)	2,65	2,81	2,87
Lactosa (%)	4,63	4,94	5,09
Sólidos no grasos (%)	7,77	8,18	8,45
Densidad (g/mL)	1,023	1,026	1,028
Agua añadida (%)	4,47	1,40	1,25
Punto de congelación (°C)	-0,52	-0,55	-0,55

Fuente: Elaboración propia en base a los datos obtenidos.

La Tabla N° 24 resume la comparación de los parámetros fisicoquímicos analizados en las muestras de leche fresca de los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón.

- El mercado de Casccaparo presenta valores sistemáticamente más bajos en grasa, lactosa, proteína, SNG y densidad, y más altos en agua y punto de congelación, lo cual sugiere posible adulteración con agua y pérdida de calidad nutricional.
- Por el contrario, Vinocanchon se posiciona como el mercado con leche de mayor calidad global, cumpliendo o superando los estándares en casi todos los parámetros, con baja variabilidad entre muestras, lo que refleja buenas prácticas de ordeño, conservación y transporte.
- Rosaspata se ubica en una posición intermedia, con valores nutricionales aceptables, pero en algunos casos con mayor dispersión, lo que sugiere cierta variabilidad en el manejo postordeño.

Desde un enfoque de salud pública y control de calidad, los hallazgos evidencian la necesidad de monitoreo frecuente en el mercado de Casccaparo, así como la implementación de buenas prácticas ganaderas y de comercialización para garantizar leche segura y nutritiva para los consumidores.

Tabla N° 25: cuadro comparativo de los tres mercados analizados con el decreto supremo 007-2017-MINAGRI

P	Límite (007-2017- MINAGRI)	C	C/N	R	C/N	V	C/N
Grasa (%)	≥ 3,2	3,2 9	Conforme	3,87	Conforme	3,68	Conforme
Proteína (%)	≥ 2,8	2,6 5	No conforme	2,81	Conforme	2,87	Conforme
Lactosa (%)	≥ 4,8	4,6 3	No conforme	4,94	Conforme	5,09	Conforme
Sólidos no grasos (%)	≥ 8,0	7,7 7	No conforme	8,18	Conforme	8,45	Conforme
Densidad (%)	1,028 – 1,033	1,0 23	No conforme	1,026	No conforme	1,028	Conforme
Punto de congelación (°C)	-0,530 a -0,550	-0, 52	No conforme	-0,55	Conforme	-0,55	Conforme
Agua añadida (%)	0	4,4 7	No conforme	1,40	No conforme	1,25	No conforme

Fuente: Elaboración propia en base a los datos obtenidos.

Leyenda de abreviaturas

P: Parámetro

C: Mercado de Casccaparo

R: Mercado de Rosaspata

V: Mercado de Vinocanchón

C/N: Condición de conformidad o cumplimiento (Conforme / No conforme)

Los valores estándar están basados en las tablas de la Norma Técnica Peruana NTP 202.001 y el Decreto Supremo 007-2017-MINAGRI referencias técnicas suplementarias.

- Casccaparo: No cumple con grasa, proteína, lactosa, SNG ni densidad; presenta un punto de congelación más alto y agua añadida excesiva. Indica adulteración significativa y baja calidad nutricional.
- Rosaspata: Cumple con grasa y lactosa; está en el límite para SNG y proteína; densidad ligeramente baja; punto crioscópico adecuado; agua dentro de lo aceptable. Hay leve riesgo en proteína/SNG y manejo técnico.
- Vinocanchon: Cumple con todos los estándares: grasa, proteína, lactosa, SNG, densidad, punto crioscópico y agua añadida mínima. Es el mercado de mejor calidad global.

4.5. COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS EN LECHE FRESCA ENTRE LOS MERCADOS CASCCAPARO, ROSASPATA Y VINOCANCHÓN

4.5.1. Comparación del contenido de grasa

Tabla N° 26: Comparación de medias del contenido de grasa en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$)

Mercado	Entre mercados	Diferencia de medias	Desviación estándar	Significancia
Casccaparo	Vinocanchon	-0,38833	0,18526	0,106
	Rosaspata	-0,57250	0,18526	0,011
Rosaspata	Vinocanchon	0,18417	0,18526	0,586
	Casccaparo	0,57250	0,18526	0,011
Vinocanchon	Rosaspata	-0,18417	0,18526	0,586
	Casccaparo	0,38833	0,18526	0,106

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

Con el fin de determinar si existen diferencias significativas en el contenido de grasa entre los mercados evaluados, se aplicó la **prueba estadística paramétrica de comparaciones múltiples de Tukey** con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$. Los resultados, presentados en la tabla N° 26 evidencian diferencias estadísticamente significativas entre los mercados analizados y permiten formular las siguientes observaciones:

La única diferencia estadísticamente significativa se encontró entre los mercados de Rosaspata y Casccaparo ($p = 0,011$), donde la muestra de leche del mercado Rosaspata presentó un contenido de grasa significativamente mayor que la del mercado Casccaparo (diferencia de medias = 0,5725 g/100g).

Las diferencias entre Vinocanchón y Rosaspata ($p = 0,586$), así como entre Vinocanchón y Casccaparo ($p = 0,106$), no fueron estadísticamente significativas, a pesar de que Vinocanchón presentó un promedio intermedio.

Estos resultados indican que la leche expendida en el mercado de Rosaspata se diferencia significativamente del mercado Casccaparo en cuanto al contenido de grasa en la leche fresca, lo cual refuerza los hallazgos descriptivos y sugiere que la leche expendida en el mercado Rosaspata presenta mejores características nutricionales en este parámetro. Por otro lado, la similitud estadística entre el mercado Vinocanchón y los otros mercados podría atribuirse a la menor dispersión en sus datos o a un menor tamaño del efecto.

4.5.2. Comparación del contenido de sólidos no grasos

Tabla N° 27: Comparación de medias del contenido de sólidos no grasos en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$)

Mercado	Entre mercados	Diferencia de medias	Desviación estándar	Significancia
Casccaparo	Vinocanchon	-0,68833*	0,126	0,000
	Rosaspata	-0,41250*	0,126	0,007
Rosaspata	Vinocanchon	-0,68833*	0,126	0,089
	Casccaparo	-0,41250*	0,126	0,007
Vinocanchon	Rosaspata	0,27583	0,126	0,089
	Casccaparo	0,68833*	0,126	0,000

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS

En la tabla N° 27 se muestra la prueba estadística paramétrica aplicando del test de comparaciones múltiples HSD de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ que reveló diferencias estadísticamente significativas entre los mercados evaluados:

Se encontró una diferencia significativa entre el mercado Vinocanchón y el mercado Casccaparo ($p = 0,000$), con una diferencia de medias de 0,6883%, y entre el mercado Rosaspata y Casccaparo ($p = 0,007$), con 0,4125% de diferencia. No se detectó diferencia significativa entre los mercados Vinocanchón y Rosaspata ($p = 0,089$), aunque sí existe una tendencia hacia valores mayores en Vinocanchón.

Estos resultados confirman que el mercado Casccaparo presenta un contenido de SNG significativamente menor en comparación con los otros mercados, lo que podría comprometer la calidad nutricional del producto ofrecido en ese punto de venta. Además, según lo establecido en el Reglamento Sanitario de Leche y Productos Lácteos (D.S. N.º 007-2017-MINAGRI), el contenido mínimo permitido de SNG en leche fresca es de 8,2%. A la luz de estos resultados, se observa que el promedio del mercado Casccaparo no cumple con este valor normativo, mientras que los mercados Vinocanchón y Rosaspata sí lo alcanzan o superan.

4.5.3. Comparación de densidad

Tabla N° 28: Comparación de medias de la densidad en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$)

Mercado	Entre mercados	Diferencia de medias	Desviación estándar	Significancia
Casccaparo	Vinocanchon	-0,0043000*	0,0008658	0, 000
	Rosaspata	-0,0023250*	0,0008658	0,029
Rosaspata	Vinocanchon	-0,0019750	0,0008658	0,073
	Casccaparo	0,0023250*	0,0008658	0,029
Vinocanchon	Rosaspata	0,0019750	0,0008658	0,073
	Casccaparo	0,0043000*	0,0008658	0,000

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS

En la tabla N°28 se muestra la prueba estadística paramétrica aplicando del test de comparaciones múltiples HSD de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ que reveló diferencias estadísticamente significativas entre los mercados evaluados:

- Vinocanchón y Casccaparo: diferencia significativa de 0,0043 g/mL ($p = 0,000$).
- Rosaspata y Casccaparo: diferencia significativa de 0,0023 g/mL ($p = 0,029$).
- Vinocanchón y Rosaspata: diferencia no significativa ($p = 0,073$), aunque existe una tendencia hacia valores mayores en Vinocanchón.

Estos resultados permiten afirmar que el mercado Casccaparo presenta una densidad significativamente menor que los otros mercados, lo cual refuerza la sospecha de posibles prácticas de adulteración. Por el contrario, el mercado Vinocanchón destaca como el único mercado que cumple con el rango normativo, reflejando una mejor calidad y conservación del producto.

4.5.4. Comparación del contenido de agua

Tabla N° 29: Comparación de medias del contenido de agua en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$)

Mercado	Entre mercados	Diferencia de medias	Desviación estándar	Significancia
Casccaparo	Vinocanchon	-3,228333	0,778278	0,001
	Rosaspata	-3,079167	0,778278	0,001
Rosaspata	Vinocanchon	0,149167	0,778278	0,980
	Casccaparo	-3,079167	0,778278	0,001
Vinocanchon	Rosaspata	-0,149167	0,778278	0,980
	Casccaparo	-3,228333	0,778278	0,001

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

La tabla N° 29 se muestra la prueba estadística paramétrica aplicando del test de comparaciones múltiples HSD de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ que reveló diferencias estadísticamente significativas entre los mercados evaluados:

- Casccaparo y Rosaspata: diferencia significativa de 3,08% ($p = 0,001$).
- Casccaparo y Vinocanchón: diferencia significativa de 3,23% ($p = 0,001$).
- Vinocanchón y Rosaspata: no se encontró diferencia significativa ($p = 0,980$).

Estos resultados estadísticos confirman que el mercado Casccaparo presenta un contenido de agua significativamente mayor que los mercados de Rosaspata y Vinocanchón, lo que refuerza la sospecha de adulteración sistemática en dicho mercado. Por el contrario, los mercados de Rosaspata y Vinocanchón no difieren significativamente entre sí, lo cual sugiere que ambos ofrecen leche de mejor calidad y sin evidencia estadística de adulteración.

El análisis del contenido de agua en la leche revela diferencias marcadas entre los mercados. El mercado Casccaparo destaca negativamente por presentar niveles de agua añadida significativamente más altos, lo cual, junto con sus bajos valores de densidad y Sólidos No Grasos (SNG), constituye una evidencia consistente de alteración de la calidad.

4.5.5. Comparación del punto de congelación

Tabla N° 30: Comparación de medias del punto de congelación en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$)

Mercado	Entre mercados	Diferencia de medias	Desviación estándar	Significancia
Casccaparo	Vinocanchon	0,029500	0,007923	0,002
	Rosaspata	0,032000	0,007923	0,001
Rosaspata	Vinocanchon	-0,002500	0,007923	0,947
	Casccaparo	-0,032000	0,007923	0,002
Vinocanchon	Rosaspata	0,002500	0,007923	0,947
	Casccaparo	-0,029500	0,007923	0,002

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

La tabla N°30 se muestra la prueba estadística paramétrica aplicando del test de comparaciones múltiples HSD de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ que reveló diferencias estadísticamente significativas entre los mercados evaluados:

- Casccaparo vs. Rosaspata: diferencia significativa de 0,032 °C ($p = 0,001$).
- Casccaparo vs. Vinocanchón: diferencia significativa de 0,0295 °C ($p = 0,002$).
- Vinocanchón vs. Rosaspata: no se encontró diferencia significativa ($p = 0,947$).

Estos resultados confirman que el punto de congelación de la leche vendida en el mercado Casccaparo es significativamente más alto (menos negativo) que, en los otros dos mercados, lo cual refuerza la sospecha de adulteración con agua. Por el contrario, no se hallaron diferencias significativas entre los mercados Rosaspata y Vinocanchón, lo que sugiere que ambos ofrecen leche de mejor calidad crioscópica y sin alteración aparente. El análisis del punto crioscópico respalda de manera concluyente los hallazgos previos obtenidos a través de los parámetros de agua, densidad y SNG. La leche expendida en el mercado Casccaparo muestra señales consistentes de adulteración, mientras que los mercados de Rosaspata y Vinocanchón cumplen con los estándares establecidos, consolidándose como puntos de expendio con mejores prácticas de manejo del producto.

4.5.6. Comparación del contenido de proteínas

Tabla N° 31: Comparación de medias del contenido de proteínas en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$)

Mercado	Entre mercados	Diferencia de medias	Desviación estándar	Significancia
Casccaparo	Vinocanchon	-0,215833	0,015943	0,000
	Rosaspata	-0,158333	0,015943	0,000
Rosaspata	Vinocanchon	-0,057500*	0,015943	0,003
	Casccaparo	0,158333*	0,015943	0,000
Vinocanchon	Rosaspata	0,057500*	0,015943	0,003
	Casccaparo	0,215833*	0,015943	0,000

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

La tabla N° 31 se muestra la prueba estadística paramétrica aplicando del test de comparaciones múltiples HSD de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ para determinar si existen diferencias significativas en el contenido de proteínas entre los mercados evaluados (Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón).

El análisis de comparaciones múltiples mediante el HSD de Tukey evidenció que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el contenido de proteínas entre todos los mercados evaluados. En particular:

El mercado Vinocanchón mostró un contenido de proteína significativamente más alto que los mercados Rosaspata y Casccaparo. El mercado de Rosaspata también presentó niveles significativamente mayores que el mercado Casccaparo.

Estos hallazgos respaldan que la variación en los niveles de proteína no se debe al azar, sino que reflejan diferencias reales en la calidad de la leche comercializada en cada mercado.

Las causas de estas diferencias pueden incluir condiciones de manejo del ganado, calidad de alimentación, genética bovina o posible adulteración del producto. El caso del mercado Casccaparo, con la media más baja, debería ser motivo de especial atención por parte de los organismos de control sanitario y comercialización de alimentos.

4.5.7. Comparación del contenido de lactosa

Tabla N° 32: Comparación de medias del contenido de lactosa en leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchon según la prueba HSD de Tukey ($\alpha = 0.05$)

Mercado	Entre mercados	Diferencia de medias	Desviación estándar	Significancia
Casccaparo	Vinocanchon	-0,46083*	0,10490	0,000
	Rosaspata	-0,30583*	0,10490	0,017
Rosaspata	Vinocanchon	-0,15500	0,10490	0,314
	Casccaparo	0,30583*	0,10490	0,017
Vinocanchon	Rosaspata	0,15500	0,10490	0,314
	Casccaparo	0,46083*	0,10490	0,000

Fuente: Elaboración en base a los datos obtenidos y procesados estadísticamente en el software SPSS.

La tabla N°32 muestra la prueba estadística paramétrica aplicando del test de comparaciones múltiples HSD de Tukey con un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$ para determinar si existen diferencias significativas en el contenido de proteínas entre los mercados evaluados (Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón).

- Vinocanchón vs. Casccaparo: diferencia significativa de 0,461% ($p = 0,000$).
- Rosaspata vs. Casccaparo: diferencia significativa de 0,306% ($p = 0,017$).
- Vinocanchón vs. Rosaspata: no significativa ($p = 0,314$).

Estos resultados confirman que el contenido de lactosa en la leche de Casccaparo es significativamente menor al de los otros dos mercados, lo cual es consistente con la sospecha de adulteración planteada en los análisis de agua, proteínas y crioscopía.

El contenido de lactosa demuestra una diferencia significativa entre mercados, posicionando al mercado de Vinocanchon y Rosaspata como puntos de expendio con leche de mayor calidad nutricional, mientras que Casccaparo se mantiene como el mercado con los valores más críticos.

CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN GENERAL

Se determinó la presencia de aflatoxinas M_1 observándose que el mercado de Casccaparo supera los límites establecidos por el Codex Alimentarius a diferencia de los mercados de Rosaspata y Vinocanchon cuyas concentraciones se mantienen dentro de lo permitido por dicha normativa. Asimismo, en la evaluación de los parámetros fisicoquímicos respecto a los valores establecidos por MINAGRI, se concluye que el mercado Casccaparo incumple con la mayoría de los estándares normativos a diferencia de los mercados de Rosaspata y Vinocanchon, que si los cumplen.

CONCLUSIONES ESPECÍFICAS

1. Las muestras de leche fresca que se expenden en los mercados evaluados, proceden principalmente de la provincia de Anta, seguida de la provincia de Calca, Cusco y finalmente de la provincia de Urubamba.
2. Se determinó la presencia de aflatoxinas M_1 en todas las muestras de leche fresca; siendo la leche expendida en el mercado Casccaparo con mayor concentración de aflatoxinas M_1 a diferencia del mercado Rosaspata y Vinocanchón.
3. La comparación con los valores normativos establecidos por el Codex Alimentarius demuestra que la leche expendida en el mercado Casccaparo muestra una contaminación por aflatoxinas M_1 en dos puestos que superan el límite permisible. Mientras que Rosaspata y Vinocanchon expenden una leche dentro del límite establecido por el Codex Alimentarius.
4. El mercado Casccaparo no cumple con la mayoría de los parámetros fisicoquímicos establecidos por el MINAGRI, evidenciando adulteración por dilución, el mercado de Rosaspata cumple parcialmente con valores aceptables. Y el mercado Vinocanchón cumple con todos los parámetros fisicoquímicos, mostrando la mejor calidad fisicoquímica de la leche fresca.

5. Se compararon los resultados de la calidad fisicoquímica de la leche que se expende en los mercados evaluados, encontrando que la leche expendida en el mercado Casccaparo presentó los valores más bajos en todos los parámetros indicando menor calidad mientras que la leche expendida en los mercados de Rosaspata y Vinocanchón mostraron parámetros adecuados y similares confirmando que la calidad de la leche varía según el punto de venta.

RECOMENDACIONES

1. A las autoridades municipales

- ❖ Reforzar los controles sanitarios y normativos en los diferentes centros de abasto donde se expende leche fresca, especialmente el Mercado Casccaparo que muestra signos evidentes de adulteración, deficiencia nutricional y presencia de aflatoxinas M, lo cual representa un riesgo para la salud pública.
- ❖ Capacitación y monitoreo frecuente a los comerciantes y productores sobre buenas prácticas agrícolas y ganaderas para reducir la contaminación, ya que la contaminación con aflatoxinas M1 refleja la presencia previa de aflatoxina B1 en los alimentos del ganado.
- ❖ Realizar campañas de sensibilización del consumidor sobre los diversos riesgos de salud que producen las aflatoxinas.

2. A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

- ❖ Realizar investigaciones similares usando métodos diferentes como cromatografía de capa fina, cromatografía de alta resolución, técnica de radioinmunoensayo y de esta manera comparar los resultados con el método estudiado.

3. A la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica

- ❖ Fomentar proyectos investigativos que permitan realizar capacitaciones y foros informativos en la Universidad y en los diversos municipios, con el fin de generar espacios teóricos y prácticos que permitan generar conocimientos en inocuidad alimentaria.

4. A los consumidores

- ❖ Priorizar la compra de productos lácteos, como la leche fresca de fuentes confiables, mantener una buena higiene en el almacenamiento y desecharlos si muestren signos de deterioro.

BIBLIOGRAFÍA

1. Smith W N, Fletcher J A, Hill P J. Modelado de la contribución de la leche a la nutrición global. *Fronteras en nutrición*. 2022; 13(8). Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/nutrition/articles/10.3389/fnut.2021.716100/full>
2. Corassin H, Borowsky A, Ali S, Rosim R, Fernandez de Oliveira CA. Presencia de aflatoxina M 1 en leche y productos lácteos comercializados en São Paulo, Brasil: una actualización. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute*. 2022; 3(4). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19850097/>
3. Gürbay U, Sabuncuoğlu A, Girgin G. Exposición de recién nacidos a las aflatoxinas M1 y B1 de la leche materna en Ankara, Turquía. *ELSEVIER*. 2020; 48(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19850097/>
4. Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC). Algunas medicinas herbales tradicionales, algunas micotoxinas, naftaleno y estireno. En Organización Mundial de la Salud. *Monografías sobre la evaluación de riesgos carcinogénicos para los seres humanos*. Francia; 2002. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326619/>
5. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). Reglamento de leche y productos lácteos. MINAGRI, Lima. Disponible en: <https://spij.minjus.gob.pe/Graficos/Peru/2013/Mayo/04/RM-0142-2013-AG.pdf>
6. Ferraro G, Martino V, Bandoni A, Nadinic J. *Fitoingredientes y otros productos naturales*. Primera ed. Buenos Aires: Universitaria de Buenos Aires; 2012. Disponible en: <https://spij.minjus.gob.pe/Graficos/Peru/2013/Mayo/04/RM-0142-2013-AG.pdf>
7. ELIKA – Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Aflatoxinas. Vitoria Gasteiz: ELIKA; 2018 [citado 10 abril 2024]. Disponible en: seguridadalimentaria.elika.eus/wp-content/uploads/2018/01/19.Aflatoxinas.pdf

8. Polo, Ariano, Marchese, Velotto, Costantini, Severino L. Aflatoxinas B1 y M1: Propiedades biológicas y su participación en la formación del cáncer. Toxinas. 2018; 10(214). Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6024316/>
9. Pérez Lizaure M, Moza Pastrana M, Moscada Jimenez A, Milke Garcia MdP. El libro blanco de la leche. Primera ed. México: CANILEC; 2011. Disponible en: https://www.uv.mx/personal/pcervantes/files/2012/05/libro_blanco_de_la_leche.pdf
10. Elzupir A. Determinación de aflatoxina M1 en leche de vaca lechera en el estado de Jartum, Sudán. Control de Alimentos. 2010;21(6):945–946. doi: 10.1016/j.foodcont.2009.11.013
11. Panel de la EFSA sobre Contaminantes en la Cadena Alimentaria (CONTAM). Evaluación del riesgo de aflatoxinas en alimentos. Revista de la EFSA. 2020; 18(3). Disponible en: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6040>
12. Zavala Pope M. Análisis del Sector Lácteo Peruano. Informativo. Lima: Ministerio de Agricultura, Dirección General de Promoción Agraria. Disponible en: https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/07FA140372063F0905257980005B4D54/%24FILE/analisis_sector_lacteo_peruano.pdf
13. Carreño Venegas A, Hurtado Guerra JJ, Navas Navas MC. Exposición a aflatoxina: un problema de salud pública. Scielo. 2014; 27(1). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S01210793201400010005
14. Bogantes Ledezma P, Bogantes Ledezma D, Bogantes Ledezma S. Aflatoxinas. Scielo. 2004; 46(4). Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022004000400004
15. Hasan A, Islam F, Chandra N, Raihanu R. La presencia de aflatoxina M1 en la leche y los productos lácteos en Bangladesh. Toxins. 2021; 13(440). Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8309891/>

16. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Chemical agents and related occupations. 2012; 136(1). Disponible en: <https://publications.iarc.who.int/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans>
17. Hernandez Sampieri R, Fernandez-Collado C, Baptista Lucio P. Metodología de la Investigación. Sexta ed. Rocha Martinez ML, editor. México D.F: McGraw-Hill Interamericana; 2014.
18. Uguña Rosas M. Determinación del metabolito tóxico de origen fúngico en leche cruda, pasteurizada y ultra pasteurizada consumidas en la ciudad de Cuenca: Aflatoxina AFM1 mediante la técnica de ELISA. Tesis doctoral. Cuenca: Universidad de Cuenca, Centro de Estudios Ambientales. Disponible en: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/items/c8eaf5f4-9881-46e1-a047-0351826375d3>
19. Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). Manual de métodos de análisis para la evaluación de la calidad de la leche cruda de vaca. Lima: MINAGRI, Dirección General de Ganadería. Disponible en: https://www.digesa.minsa.gob.pe/NormasLegales/Normas/DS_7_2017-MINAGRI.pdf
20. Pickova D, Ostry V, Jakub T, Malir F. Aflatoxinas: historia, hitos significativos, datos recientes sobre su toxicidad y formas de mitigación. toxins. 2021; 13(6). Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8227755/>
21. Wild C, Miller D, Groopman J. Control de las micotoxinas en los países de ingresos bajos y medios. Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC). 2015. Disponible en: https://publications.iarc.who.int/_publications/media/download/4301/207d156b2cf76c6886c05306b76ad20322d660cc.pdf

22. Codex Alimentarius. Norma general para los contaminantes y las toxinas presentes en los alimentos y piensos. Roma: FAO/OMS; 2024. p. 45.
23. Pitt J, Wild C. Micotoxinas: Métodos de detección, gestión, salud pública y comercio agrícola. CABI Publishing. 2004.
24. Rahimzadeh Barzoki H, Faraji H, Beirami S, Zahra Keramati F, Ahmad Nayik G, Izadi Yazdanaabadi Z, et al. Estudio estacional de la contaminación por aflatoxina M1 en la leche de vaca en el mercado lácteo minorista de Gorgan, Irán. Artículo científico. Gorgan: Universidad de Ciencias Médicas de Golestán, Gorgan, Ingeniería de Salud Ambiental. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/dairy4040039>
25. Tarazona Manrique E, Andrade Becerra J, Vargas Abella C. Frecuencia de la contaminación de leche cruda de vaca por aflatoxina M1 en tanques de enfriamiento en Boyacá, Colombia. Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 2022; 23(2). Disponible en: <https://revistacta.agrosavia.co/index.php/revista/article/view/2058>
26. Arrúa A, Arrúa PD, Ulke MG, et.al. Presencia de Aflatoxinas M1 en fórmulas lácteas infantiles comercializadas en el área metropolitana Asunción, Paraguay. Scielo. 2021; 48(1). Disponible en: <https://www.revistaspp.org/index.php/pediatrica/article/view/621>
27. Puran M, Hooshyar H, Reza M, Mojtaba L. Prevalencia de aflatoxinas M1 (AFM1) en productos lácteos convencionales e industriales (yogurt, queso, Kashk. Salud Ambiental. 2021; 37(1). Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33984875/>
28. Sajid M, Akash H, Kanwal R, Kanwal I. Prevalencia de contaminación de aflatoxina M1 en la leche: un análisis retrospectivo de estudios realizados en Pakistán.
29. Puga Torres B, Salazar, Cachiguango M, Cisneros G, Gómez Bravo C. Determinación de aflatoxina M1 en leche cruda de diferentes provincias del Ecuador. Toxins. 2020; 12(8). Disponible en: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7472276/?utm_source=chatgpt.com#sec5-toxins-12-00498

30. Tarannoum N, Nigad Nipa M, Parveen S. Determinación de aflatoxina M1 por ELISA en leche cruda y proceda en Bangladesh. Toxicology Reports. 2020; 7(1). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750020304066>

31. Landeros P, López Y, Gonzalez D, et.al. Niveles de aflatoxinas M1 en leche cruda y pasteurizada comercializada en la zona Metropolitana de Guadalajara, México. Scielo. 2018; 34(1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2012000100006

32. Salazar Rodriguez AI. Niveles de aflatoxinas en alimentos y leche cruda en establos de crianza intensiva de la Costa del Perú. Tesis doctoral. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=341397>

33. Otero Chafalote M. Determinación de aflatoxina M1 en leche fresca de vaca procedente de establos de crianza intensiva del distrito de Lurín, Región Lima. Tesis. Lima: Universidad Científica del Sur, Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/USUR_d4f1f521e36a1380c27ed71c63b3196d/Cite

34. Mendoza Huaracha J. Determinación de aspergillus spp. y aflatoxinas en alimentos destinados al consumo de bovinos (Bos Taurus) y aflatoxina M1 en leche provenientes de la asociación fongal. Tesis pre grado. Moquegua: Universidad Nacional de Moquegua. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNAM_786e30fc5151f9f8232e17776c332bc5

35. Arce Gonzales E, Fernández-Herrera F, Vásquez Requena A, Sessarego Dávila JA. Evaluación de la calidad de leche en una asociación de pequeños ganaderos en la sierra norte de Lima - Perú. Peruvian Agricultural Research. 2022; 4(2): p. 71-76. Disponible en:

<https://revistas.unjfsc.edu.pe/index.php/PeruvianAgriculturalResearch/article/view/793>

36. Brousett-Minaya M, Torres Jiménez A, Chambi Rodríguez A, Mamani Villalba B, Gutiérrez Samata H. Calidad fisicoquímica, microbiológica y toxicológica de leche cruda en las cuencas. Revista de Investigación Universitaria. 2017; 4(2). Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172015000300003&script=sci_abstract
37. Condori Nina. Análisis fisicoquímico y microbiológico de la leche de vacuno acopiada en planta procesadora de lácteos "Tupac Amaru", distrito de Tupac Amaru. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Agrarias. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/6667?locale-attribute=en>
38. Romero Pumainca R. Cuantificación de aflatoxinas totales en harina de maíz que se expende en tres mercados de la ciudad del Cusco. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Departamento de Biología. Disponible en: <https://revistas.unsaac.edu.pe/index.php/cantu/article/view/757>
39. Huillca Cutire R. Determinación de calidad fisico-química de la leche cruda en época de lluvia en el centro poblado de Urinsaya - Layo. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias Agrarias. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/5440>
40. Panel de la EFSA sobre Contaminantes en la Cadena Alimentaria (CONTAM). Evaluación del riesgo de aflatoxinas en alimentos. EFSA. 2020; 18(3). Disponible en: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2020.6040>
41. Sanfer Salud Animal. La aflatoxina M1 y su riesgo en la salud humana. [Online].; 2024. Acceso 29 de Julio de 2025. Disponible en: <https://sanfersaludanimal.com/biblioteca/aditivos-nutricionales/la-aflatoxina-m1-y-su-riesgo-en-la-salud-humana>.

42. Sherris. Naturaleza de los Hongos. En Ryan, Ray G, editores. Microbiología Médica. México: McGRAW-HILL; 2005. p. 527-532. Disponible en: <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2169§ionid=162985092>
43. Ruiz Quiroz R. Las micotoxinas y salud. Revista de la Sociedad Química del Perú. 2016;82(4). pp.387-388. ISSN 1810-634X. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2016000400001
44. Fouché T, Claassens S, Maboeta M. Aflatoxinas en el ecosistema del suelo: una descripción general de su aparición, destino, efectos y perspectivas futuras. Springer Link. 2020.
45. Asociación de Fabricantes de Harinas y Sémolas de España. Recomendaciones para la prevención, el control y la vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y semolas. Madrid: Gobierno de España. Disponible en: https://www.wpsa-aeca.es/articulo.php?id_articulo=4142
46. Londoño E, Martínez M. Aflatoxinas en alimentos y exposición dietaria como factor de riesgo para el carcinoma hepatocelular. Biosalud. 2017; 16(1). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502017000100007
47. Zumbado Salazar CA, Ulloa Fallas, Rojas Soto. Aflatoxinas B1 y su relación con el cáncer hepático. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. 2014. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2014/rmc144d.pdf>
48. Bogantes Ledezma P, Bogantes Ledezma D, Bogantes Ledezma S. Aflatoxinas. Acta Medica Costarricense. Costa Rica. 2004; 46(4). Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S000160022004000400004&script=sci_abstract&tlng=es

49. Moral A. Aflatoxinas B1 y M1: problemática y métodos de análisis para su determinación en piensos y leche. Universidad de Jaén. 2017. Disponible en: <https://crea.ujaen.es/items/30ae8352-e3a5-4601-b316-038f6a08f6ee>
50. Martinez Miranda MM, Vargas del Rio LM, Gomez Quintero VM. Aflatoxinas: Incidencia, impactos en la salud, control y prevención. Scielo. 2013; 12(2). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502013000200008
51. Moral M, Moral V, Gómez B. Las aflatoxinas, un grave problema para la salud humana y animal que se inicia siendo un problema de Sanidad Vegetal. PHYTOMA España. 2016;(280). Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6984218>
52. Martinez Miranda M, Vargas del Rio L, Gómez Quintero V. Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención. biosalud [Internet]. 2013; 12(3). Disponible en: <https://revistasoj.s.ualdas.edu.co/index.php/biosalud/article/view/4698>
53. ELIKA – Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. Aflatoxinas. Vitoria Gasteiz: ELIKA; 2018 [citado 23 setiembre 2023]. Disponible en: <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/aflatoxinas/?print=pdf>
54. Martínez Miranda MM. Estructura química de las aflatoxinas B1, B2, G1, G2 y M1. ResearchGate; 2023 [citado 26 may 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Estructura-quimica-de-las-aflatoxinas-B1-B2-G1-G2-y-M1_fig1_317503564
55. Pérez G. Determinación de aflatoxinas M1 en queso y leches cruda, ultra pasteurizada y orgánica que se comercializan en la Ciudad de México. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Disponible en: <https://repositorio.xoc.uam.mx/jspui/bitstream/123456789/2045/1/103861.pdf>

56. Urrego Novoa J, Díaz G. Aflatoxinas: Mecanismos de Toxicidad en la Etiología de Cáncer Hepático Celular. SciELO. 2006; 54(2). Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/5763/576363925006.pdf>
57. Lijuan X, Min C, Yibin Y. Desarrollo de métodos para la determinación de Aflatoxinas. Food Science and Nutrition. 2015. Disponible en: <https://www.storkapp.me/pubpaper/25840003>
58. Rozhin S, Zahra N. Aflatoxin M1 in milk and traditional dairy products from west part of Iran. Food Control. 2015; 39(10). Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713515302619>
59. Wacoo A, Wendi D, Peter V, Hawumba J. Métodos para la detección de aflatoxinas en cultivos alimentarios agrícolas. Hindawi Publishing Corporation. 2014; 14. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2014/706291>
60. Saldaña Cabrales M. Avances en Metodologías Para la Detección de Aflatoxinas en Granos en Almacenamiento. Universidad de Santander, 2023. Disponible en: <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/1ea513c3-00b5-455c-8096-771dcfe0c71b>
61. Sharma A, Pillai S, Hajare S. Técnicas inmunológicas de detección y análisis. Enciclopedia de microbiología de alimentos. 2021; 2(1).
62. Tekins K, Semih E. Aflatoxin M1 levels in UHT milk and kashar cheese consumed in Turkey. Elsevier. Food and Chemical Toxicology. 2008. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18700163/>
63. Medina B. JC, Castillo E. Determinación de Micotoxinas por medio de Ensayos Inmunoquímicos. Food and Agriculture Organization. 2018; 14(1). Disponible en: <https://www.fao.org/4/ab482s/AB482S15.htm>

64. Molecular Devices. [Online].; 2024. Acceso [9 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://es.moleculardevices.com/applications/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa>.
65. Bernal Angarita SE. Perfil de Riesgo de Aflatoxina M1 en leche Bovina Comercializada en Colombia. Tesis. Bogotá: Universidad de la Salle, Ingeniería de Alimentos. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/server/api/core/bitstreams/18f142ca-15ad-4c5b-9a58-75fda774bc4f/content>
66. Zavala Pope JM. Aspectos Nutricionales y Tecnológicos de la leche. Primera ed. DdC, editor. Lima: Ministerio de Agricultura; 2005. Disponible en: https://www2.congreso.gob.pe/sicr/cendocbib/con3_uibd.nsf/7AE7E7AB111562710525797D00789424/%24FILE/Aspectosnutricionalesytecnol%C3%B3gicosdelaleche.pdf
67. Fernández Fernández E, Martínez Hernández JA, Martínez Suárez Veá. Documento de consenso: Importancia nutricional y metabólica de la leche. Nutrición Hospitalaria. 2015; 1(31). Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112015000100009
68. Roca Ruiz AMLpdll. Puleva. [Online].; 2023. Acceso [1 de Agosto de 2023]. Disponible en: <https://www.lechepuleva.es/la-leche/proteinas-de-la-leche>.
69. Azán Pinta M, Rodas Heredia. Evaluación del grado desnaturalización de la proteína, calcio y fósforo de la leche durante el calentamiento utilizando un numero de combinaciones de tiempo/temperatura y su influencia en la calidad y rendimiento del queso fresco elaborado. Tesis. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo, Facultad de Ingeniería. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/3037>

70. Parra Cueva, Royder. Tecnología de productos lácteos y derivados. Informe de prácticas profesionales. Rioja: Instituto de Educación Superior Tecnológico Público - Rioja, Industrias Alimentarias. Disponible en: <https://idoc.pub/documents/practicas-pre-profesionales-lacteos-del-mayo-eirl-soritor-x4e6z69d83n3>
71. Microbiología alimentaria. Importancia del alimento, composición y valor nutritivo. Leche y lácteos. 2017. Acceso [3 de agosto de 2024]. Disponible en: <https://lechelacteos.blogspot.com/2017/12/importancia-del-alimento-composicion-y.html>.
72. Miranda Vallejo. Influencia de diferentes niveles de fracción proteica del calostro del bovino sobre la calidad tecnológica y vida de anaquel del queso funcional. Tesis magistral. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Instituto de Posgrado y Educación Continua de la ESPOCH. Disponible en: <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/3790>
73. Cabanillas Rios J, Gutierrez Piña K, Pezo Vasquez L, Salazar Perez M. Elaboración de queso con ácido cítrico. Monografía. Pucallpa: Universidad Nacional de Ucayali, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/408757601/ELABORACION-DEL-QUESO-CON-ACIDO-CITRICO-docx>
74. Acosta Carbajal L, Galindo Huamán A. Leche y Derivados. En Observatorio de Commodities - Leche y derivados. Lima: Biblioteca Nacional del Perú; 2023. p. 9-10. Disponible en: <https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/5264468/Commodities%20%20de%20Leche%20y%20Derivados%3A%20ene-mar%202023.pdf?v=1697059568>
75. Otto K, Santini A, Oancea I. Datos recientes de encuestas sobre aflatoxinas en la leche y y los productos lácteos: Una revisión. Sociedad de Tecnología Láctea. 2017.

76. Ruiz J, Gutierrez R, Orantes M. Contaminación por micotoxinas de la leche y derivados lácteos. Universidad Autónoma de Chiapas. 2017; 12(1). Disponible en: https://dgip.unach.mx/images/pdf-REVISTA-QUEHACERCIENTIFICO/2017-ener-jun/12._Contaminacion_por_micotoxinas.pdf
77. Altamirano J. Aflatoxinas AFM1 en Leche de Consumo: Aspectos Toxicológicos y Metodológicos de Evaluación Pericial. Universidad Nacional de Córdoba. 2019. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/16345/1/19%20LZ%20TG-3893-Samayoa.pdf>
78. Farre R, Martin F, Ana B. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación al efecto sobre la población española de la derogación de la normativa nacional sobre límites máximos permitidos de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. Revista del Comité Científico N° 14. 2011. Disponible en: https://www.aesan.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/AFLATOXINAS_ALIMENTOS.pdf
79. Page & Pedersen International, Ltd. LactiCheck. [Online]. Acceso 12 de junio de 2025. Disponible en: https://pagepedersen.com/system/files/userfiles/files/products_showcase_files/lc-02-final-spanish_copy-web.pdf.
80. FAO, OMS. Codex Alimentarius. [Online]; 2024. Acceso [5 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/es/#:~:text=El%20Codex%20Alimentarius%20es%20una,en%20el%20comercio%20de%20alimentos>.
81. MINAGRI. Decreto supremo que aprueba el reglamento de la leche y productos lácteos. Lima: República del Perú. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/indecopi/normas-legales/3463258-decreto-supremo-n-007-2017-minagri>

82. Gimeno A. Aflatoxina M1 en la Leche. Riesgos para la Salud Pública, Prevención y Control. Adiveter - nutriNews. 2004;(49). Disponible en: https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo1790.pdf
83. Handbooks of Cancer prevetion. Manuales de la IARC de prevencion del cancer. IARC Handbooks. 2018; 16(3). Disponible en: <https://publications.iarc.fr/publications/media/download/5506/a295116186a57356183ca0a867a0da347ee0bb8f.pdf>
84. Ornelas Aguirre J, Morales Fimbres A. Aflatoxinas y su Asociación con el Desarrollo del Carcinoma Hepatocelular. Scielo. 2015; 20(1). Disponible en: <https://scispace.com/pdf/aflatoxinas-y-su-asociacion-con-el-desarrollo-de-carcinoma-27ltnjdb67.pdf>
85. Mazaheri , Shavali Gilani P, Shariatifar N. Eficacia de diversos métodos para reducir los niveles de aflatoxina M1 en la leche: una revisión sistemática. ELSEVIER. 2024; 23. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590157524006254?via%3Dihub>
86. Gonzales Parra S. Rosaspata: Una mirada al mercado cusqueño a través de la fotografía y el paisaje sonoro. Revista Peruana de Fotografía e Investigación Visual. 2020; 3(1). Disponible en: <https://revistas.upc.edu.pe/index.php/fot/article/view/1322>
87. Quispe Vega I. Costos operativos y la rentabilidad en la asociación de ganaderos del mercado Vinocanchón del distrito de San Jerónimo, Cusco-2019. Tesis. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/7468>
88. Latin Networks SAC. DePeru.com. [Online]; 2024. Acceso 18 de Enero de 2025. Disponible en: https://www.deperu.com/mercados/mercado-ccasccaparo_cusco.

89. Nuñez Poblete CA. Determinación de Aflatoxina M1 en Lecherías de La Región Metropolitana y de Valparaíso de Chile. Tesis. Santiago de Chile: Universidad de Chile, Ciencias clínicas Pecuarias. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/168623/Determinacion-de-la-aflatoxina.pdf>
90. Santillan Mendoza R, Rodriguez Alvarado G, Fernandez Pavia S, Vazquez Marrufo G, Benitez Malvido J. Micotoxinas: que son y como afectan a la salud pública. Revista Digital Universitaria. 2017; 18(6). Disponible en: <https://www.revista.unam.mx/vol.18/num6/art46/index.html>
91. AGQ Labs. Aflatoxina M1 en productos lácteos. AGQ Labs Mexico. [Online]; 2021. Acceso [20 de Juniode 2024]. Disponible en: <https://agqlabs.mx/2021/04/05/aflatoxina-m1-productos-lacteos/>.
92. Perez Lizaur M, Maza Pastrana M, Legorreta Cao P. Producción de leche, generalidades de la leche y los productos lácteos. El Libro Blanco de la leche y los productos lácteos. México: CANILEC; 2015. p. 10. Disponible en: https://www.uv.mx/personal/pcervantes/files/2012/05/libro_blanco_de_la_leche.pdf
93. Pruebas Agroindustria y Alimentos. Pruebas para detección Aflatoxinas en alimentos: Kits ELISA [Internet]. Mellitec. [Online].; 2024. Acceso 02 de Julio de 2024. Disponible en: <https://www.mellitec.com/pruebas-agroindustria-y-alimentos/pruebas-para-deteccion-aflatoxinas-en-alimentos-kits-elisa/>.
94. Díaz Camargo. Manual de análisis químico e instrumental - Fundamentos de análisis químico. Manual. La Paz: Instituto Universitario de La Paz, Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/739609302/13-Maanual-Fundamentos-Analisis-Tomo-i>

95. Comisión del Codex Alimentarius. Codex Alimentarius. Segunda ed. Roma; 2005.
96. Diccionario Panhispánico del Español Jurídico. [Online] Acceso 21 de Setiembre de 2024. Disponible en: <https://dpej.rae.es/lema/mercado-de-abastos>.
97. Uribe Esquivel, García Sáenz M, Chavez Tapia N. Carcinoma Hepatocelular. Revista de Gastroenterología de México. 2010; 75(2). Disponible en: <https://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-carcinoma-hepatocelular-articulo-X0375090610873905>
98. Tamayo y Tamayo M. El proceso de la investigación científica. 5th ed. México: Limusa; 2012.
99. Caballero Hernandez, Yuleisi Tatiana; et al. Técnicas de Análisis Físicoquímico. 2nd ed. UNIPAZ, editor. Barrancabermeja: UNIPAZ; 2018. Disponible en: <https://unipaz.edu.co/omp/index.php/editorial/catalog/book/50>
100. REAGEN. Manual del kit de prueba ELISA de aflatoxina M1. Manual. San Diego: REAGEN INC, Medical and Drug.
101. Ministerio de Salud. Procedimiento para la Recepción de Muestras de Alimentos y Bebidas de Consumo Humano en el Laboratorio de Control Ambiental de la DIGESA. Lima: Ministerio de Salud, DIGESA. Disponible en: https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/391084/Procedimiento_para_la_recepci%C3%B3n_de_muestras_de_alimentos_y_bebidas_de_consumo_humano_en_el_laboratorio_de_control_ambiental_de_la_Direcci%C3%B3n_General_de_Salud_Ambiental_del_Minsa_D.S._N%C2%BA_032-MINSADIGESA-V.0120191017-26355-kg8y45.pdf?v=1571312176
102. Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). Boletín de indicadores de la producción pecuaria, abril 2024. Lima: INEI.

ANEXOS

ANEXO N° 1: FORMATO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El presente trabajo de investigación titulada “Determinación de aflatoxinas M1 por el Kit de ELISA y análisis fisicoquímico en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2024”, lo cual es conducida por los bachilleres en Farmacia y Bioquímica con la finalidad de determinar los niveles de aflatoxinas tipo M₁ y análisis fisicoquímico en leche fresca que se expenden en dichos mercados. Así mismo permitir conocer científicamente las condiciones en las que se encuentra dicho producto lácteo y posteriormente sea motivo para que las autoridades puedan proponer, tomar acciones y aprobar normativas tanto a nivel nacional y local para asegurar la calidad total de leche fresca de consumo humano en nuestra ciudad.

En este contexto, deseo solicitarle su participación en este estudio de investigación que consiste en responder un cuestionario de preguntas abiertas y alternativas múltiples. Para su conocimiento, se mantendrá la confidencialidad absoluta de sus datos consignados en el cuestionario respectivo, así como usted podrá decidir en cualquier momento su retiro del estudio. En caso de aceptar participar, se le solicita dar su consentimiento.

Yo

después de leer la explicación del estudio acerca de la determinación de los niveles de aflatoxinas M1 y análisis fisicoquímico en leche fresca valorando los riesgos, beneficios y derechos de participar en este estudio, autorizo el uso de la información para los propósitos de la investigación.

.....

Firma del participante

ANEXO N° 2: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS DE LAS COMERCIANTES QUE EXPENDEN LECHE EN LOS MERCADOS DE CASCCAPARO, ROSASPATA Y VINOCANCHON

CUESTIONARIO

Datos generales

Sexo

☐ Masculino

☐ Femenino

Edad

☐ 20-25

☐ 26-31

☐ 32-37

☐ 38-41

☐ Mas de 42 años

Sitio de expendio

☐ Mercado Casccaparo

☐ Mercado Rosaspata

☐ Mercado Vinocanchon

Procedencia de la leche

✓ ¿De qué lugar en específico compra la leche fresca?

.....

✓ ¿Usted, en qué tipo de recipiente adquiere la leche fresca?

a) Recipiente de plástico

b) Recipiente de aluminio o acero inoxidable

c) Bolsa de plástico

✓ A que temperatura traslada la leche asta al mercado de abastos

a) 20-25°C

b) 15-19°C

c) No se usa ningún material de medición de temperatura

ANEXO N° 3: MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problemas	Objetivos	Hipótesis
PROBLEMA PRINCIPAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL
Determinación de los niveles de aflatoxinas M1 y realizar el análisis fisicoquímico en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2025.	Determinar los niveles de aflatoxinas M1 y realizar el análisis fisicoquímico en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2025.	Los niveles de aflatoxinas M1 superan los límites establecidos por el Codex Alimentarius y no cumplen con las especificaciones fisicoquímicas establecidas por el Minagri que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón de la ciudad de Cusco, 2025.
PROBLEMA ESPECÍFICO	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICAS
- Identificación de la procedencia de la leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. - Determinación de la presencia de aflatoxina M1 en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. - Comparación de los resultados obtenidos en leche fresca con el nivel máximo permisible de aflatoxinas totales establecido por el Codex Alimentarius que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. - Realización del análisis fisicoquímico de la leche fresca: densidad, materia grasa láctea, acidez y sólidos totales establecido por el Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI. - Comparación mediante el análisis estadístico los valores de los parámetros fisicoquímicos de leche fresca para determinar diferencias significativas entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón.	- Identificar la procedencia de la leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. - Determinar la presencia de aflatoxina M1 en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. - Comparar los resultados obtenidos en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón con el nivel máximo permisible de aflatoxinas M1 establecido por el Codex Alimentarius. - Realizar el análisis fisicoquímico de la leche fresca: densidad, materia grasa láctea, acidez y sólidos totales establecido por el Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI. - Comparar mediante el análisis estadístico los valores de los parámetros fisicoquímicos de leche fresca para determinar diferencias significativas entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón	- Conocer la procedencia de la leche fresca que se expende en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. - Existe presencia de aflatoxina M1 en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. - Los niveles de aflatoxinas M1 en leche fresca que se expenden en los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón. superan el límite permisible establecido por el Codex Alimentarius. - No se cumplen con las especificaciones fisicoquímicas de la leche fresca: densidad, materia grasa láctea, acidez y sólidos totales establecidos por el Decreto Supremo N° 007-2017-MINAGRI. - Existe diferencia significativa entre los valores de los parámetros fisicoquímicos de leche fresca entre los mercados de Casccaparo, Rosaspata y Vinocanchón

ANEXO N° 4: ARCHIVO FOTOGRÁFICO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS DE LECHE

Fotografía N°1 y 2: Puestos de los mercados en los que se recolectaron las muestras de leche fresca



Fotografía N°3: Almacenamiento de las muestras de leche en un cooler a una temperatura de 20-25°C con un termómetro digital específico para alimentos.



ANEXO N° 5: ARCHIVO FOTOGRÁFICO DEL ANÁLISIS FISICOQUÍMICO EN EL EQUIPO LACTICHECK

Fotografía N°4: Separación y enumeración de las muestras por mercado en envases de vidrio estériles.



Fotografía N°5: Medición de las muestras de leche en envases adecuados para la medición en el equipo de LactiCheck.



Fotografía N°6: Análisis y obtención de los valores de los parámetros fisicoquímicos mediante el equipo LactiCheck.



Fotografía N°7: Lavado de los envases en cada pasada de la leche en el equipo de LactiCheck para el análisis fisicoquímico



Fotografía N°8: Programación del lavado del equipo LactiCheck con agua destilada para su uso posterior en otra muestra de leche.



Fotografía N°9: Secado del equipo LactiCheck con un soplete especial y adecuado para el equipo.



Fotografía N°10: Finalización del uso del equipo LactiCheck lavando cuatro veces con agua destilada hasta su limpieza total.



ANEXO N° 6: ARCHIVO FOTOGRÁFICO DE LA DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 EN LECHE FRESCA

Fotografia N°11: Adicion de 1mL de muestra de leche fresca con 0.5 mL de metanol al 20% agitados en un multivortice.



Fotografia N°12: Centrifugacion de las muestras de leche.



Fotografia N°13: Preparacion de los estandares a utilizar ordenados de acuerdo a su concentracion



Fotografia N°14: Preparacion de los reactivos a utilizar en el analisis.



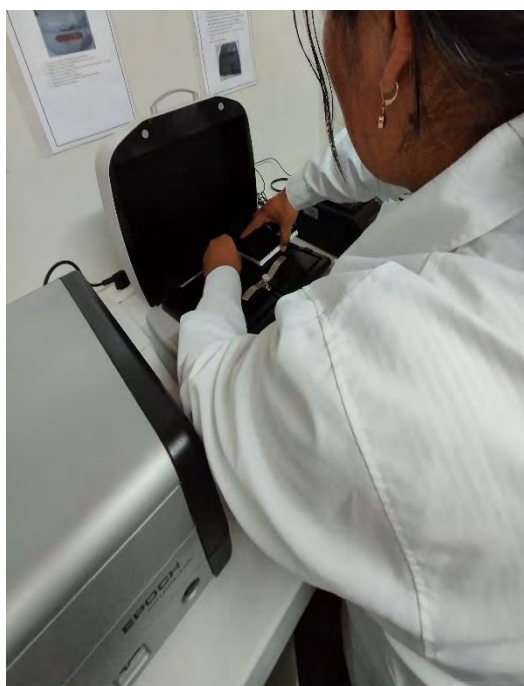
Fotografia N°15: Medicion de la temperatura con un termometro al empaque que contiene los pocillos de la aflatoxina M1.



Fotografia N°16: Etiquetado de las columnas que contienen la aflatoxina M1



Fotografia N°17: Incubacion de las gradillas con las muestras de leche en los pocillos.



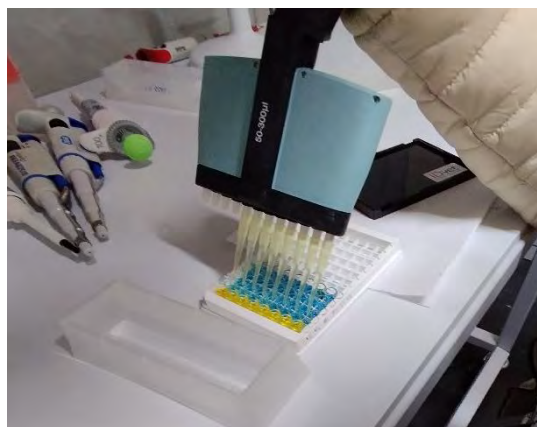
Fotografia N°18: Adicion de los reactivos correspondientes según el manual de Kit de ELISA.



Fotografia N°19: Pocillos despues de la segunda incubacion presentando un color azulado.



Fotografia N°20: Adicion del tampon de parada.



Fotografia N°21: Pocillos con la reaccion enzimatica listas para su lectura.



Fotografia N°22: Lectura de los resultados en el lector de microplacas.



Fotografia N°23: Laboratorio de Sanidad en la facultad de Agronomia y Zootecnia



ANEXO N° 7: SOFTWARE RIDASOFT Win. NET UTILIZADO PARA PROCESAR LOS DATOS OBTENIDOS PARA DETERMINAR LOS NIVELES DE AFLATOXINAS

	1	2	3	4	5	6	7		9	10	11	12
A	1981	1981	P1	P2	P3	P4	BLK	Std1	BLK	BLK	BLK	BLK
B	1982	1982	P1	P2	P3	P4	BLK	Std2	BLK	BLK	BLK	BLK
C	1983	1983	P1	P2	P3	P4	BLK	Std3	BLK	BLK	BLK	BLK
D	1984	1984	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	Std4	BLK	BLK	BLK	BLK
E	1985	1985	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	Std5	BLK	BLK	BLK	BLK
F	1986	1986	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	Std6	BLK	BLK	BLK	BLK
G	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	Auto	BLK	BLK	BLK	BLK
H	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK	BLK

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	217.450E	216.550E	145.670E	152.430E	133.270E	135.080E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
B	216.470E	216.290E	145.510E	152.290E	133.450E	134.840E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
C	199.130E	197.710E	145.970E	152.470E	133.630E	134.790E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
D	186.580E	186.220E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
E	172.320E	172.020E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
F	100.120E	99.820E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
G	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
H	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Well is already used

Standards

Amount

6

Id

Std2

Replicates

Auto

2

Concentration

0.010

Serial Dilution

0

<

2

>

OK

Help

Cancel

Properties

Name

Aflatoxin M1

Dimension

(ng/L/ug/kg)

Calculation

Logit/Log

Samples

Amount

12

Id

P1

Replicates

Auto

3

Dilution Factor

Auto

1.500

<

1

>

ANEXO N° 8: SOFTWARE SPSS VERSION 25 UTILIZADO PARA PROCESAR LOS DATOS OBTENIDOS PARA LOS PARAMETROS FISICOQUÍMICOS

Resultado de leche.spv [Documento4] - IBM SPSS Statistics Editor de datos

Archivo Editar Ver Datos Transformar Analizar Gráficos Utilidades Ampliaciones Ventana Ayuda

Visible: 14 de 14 variables

	Numero	Mercado	Procedencia	Muestra	Repetición	Grasa	SNG	Densidadgml	Agua	PuntoCong.°C
1	1	Vinocanchon	Ccallampata	1	1	4,06	8,48	1,0271	1,830	-.546
2	2	Vinocanchon	Ccallampata	1	2	4,05	8,46	1,0275	1,850	-.545
3	3	Vinocanchon	Ccallampata	1	3	4,06	8,48	1,0272	1,810	-.548
4	4	Vinocanchon	Kayra	2	1	3,99	8,72	1,0297	,000	-.574
5	5	Vinocanchon	Kayra	2	2	2,95	8,70	1,0295	,000	-.573
6	6	Vinocanchon	Kayra	2	3	2,93	8,77	1,0299	,000	-.578
7	7	Vinocanchon	Anahuarque	3	1	3,36	8,31	1,0277	1,670	-.547
8	8	Vinocanchon	Anahuarque	3	2	3,36	8,31	1,0272	1,600	-.543
9	9	Vinocanchon	Anahuarque	3	3	3,34	8,34	1,0279	1,610	-.545
10	10	Vinocanchon	Anta	4	1	3,39	8,32	1,0277	1,560	-.547
11	11	Vinocanchon	Anta	4	2	3,35	8,30	1,0271	1,520	-.543
12	12	Vinocanchon	Anta	4	3	3,39	8,32	1,0277	1,560	-.547
13	13	Rosaspata	Anta	1	1	4,85	7,56	1,0211	1,950	-.552
14	14	Rosaspata	Anta	1	2	4,83	7,58	1,0214	1,930	-.550
15	15	Rosaspata	Anta	1	3	4,85	7,56	1,0211	1,950	-.553
16	16	Rosaspata	Amaru	2	1	3,63	8,42	1,0280	,000	-.565
17	17	Rosaspata	Amaru	2	2	3,61	8,48	1,0283	,000	-.563
18	18	Rosaspata	Amaru	2	3	3,61	8,49	1,0281	,000	-.563
19	19	Rosaspata	Calca	3	1	3,50	8,29	1,0274	1,940	-.551
20	20	Rosaspata	Calca	3	2	3,49	8,32	1,0278	1,930	-.550
21	21	Rosaspata	Calca	3	3	3,50	8,29	1,0274	1,940	-.551

Vista de datos Vista de variables

IBM SPSS Statistics Processor está listo Unicode: ON

Resultados de leche.spv [Documento4] - IBM SPSS Statistics Visor

Archivo Editar Ver Datos Transformar Insertar Formato Analizar Gráficos Utilidades Ampliaciones Ventana Ayuda

/CELLS=COUNT MEAN MIN MAX STDDEV.

Medias

Resumen de procesamiento de casos

	Incluido		Casos Excluido		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
SNG (%) * Mercado	36	100,0%	0	0,0%	36	100,0%

Informe

SNG (%)						
Mercado	N	Media	Mínimo	Máximo	Desv. Desviación	
Casccaparo	12	7,7708	7,40	8,31	,33552	
Rosaspata	12	8,1833	7,56	8,49	,37886	
Vinocanchon	12	8,4592	8,30	8,77	,17743	
Total	36	8,1378	7,40	8,77	,41554	

ONEWAY SNG BY Mercado_cod
/MISSING ANALYSIS
/POSTHOC=Tukey ALPHA(0.05).

IBM SPSS Statistics Processor está listo Unicode: ON

ANEXO N° 9: SOLICITUD DE ACCESO Y USO DE EQUIPOS DEL LABORATORIO DE SANIDAD ANIMAL



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Ciencias Agrarias
Laboratorio de Sanidad Animal "M.V.Z. ATILIO PACHECO PACHECO"

N° LSA.....

FECHA: ____/____/____

Formato: Solicitud de acceso y uso de equipos

Información general del solicitante				
Solicitante: Katherine Ashly Quinones Gomez		Código: 151156		
E-mail:		Teléfono: 976 039059		
Facultad:		E. P.:		
Departamento/Unidad:		Asesor: Mg. Anahi Karina Cardona Rivas		
Vínculo:	☐ Docente	☐ Doctorando	☐ Maestrando	☐ Pregrado ☐ Otros: _____

Información del proyecto y del análisis				
Título del proyecto: Determinación de los niveles de aflatoxinas B ₁ por kit de ELISA y análisis físico-químico en leche fresca que se exportan en los mercados de Cusco, Arequipa y Puno				
Resolución de proyecto:		No. de Contrato:		
Tipo de proyecto:	☒ Tesis	☐ Financiamiento UNSAAC	☐ Financiamiento Externo	☐ Otros:
Material de análisis (muestras):				
Número de muestras:	Periodo solicitado:			
Equipo(s) solicitado(s):	☐ Cámara de flujo laminar	☒ Lector de microplacas ELISA	☐ Incubadora de CO ₂	☐ Ecógrafo digital portátil
	☐ termociclador - PCR	☒ Incubadora	☐ baño maría	☐ Agitador metálico del analizador de leche
	☒ Centrifuga	☒ Lavador de microplacas ELISA	☐ Destilador de agua	☐ Purificador de agua
	☒ Vortex	☐ Analizador de sangre	☒ Analizador de leche-lacti-check	☐
	☐ Fluorómetro	☐ Cromatógrafo líquido de alta performance (HPLC)	☐ Contador de colonias	☐
	☐ Espectrofotómetro	☐ Mini centrifuga	☐ Microscopio biológico	☐
	☐ Congeladora vertical -25°C	☐ Autoclave	☐ Balanza de precisión	☐
	☒ Refrigeradora	☐ Congelador vertical de -96°C	☐ Microtomo	☐
Observaciones:				

Centro Agronómico K'ayra, Planta lechera - UNSAAC

E-mail: edgar.valdez@unsaac.edu.pe

<http://www.vrin.unsaac.edu.pe/investigacion/>

ANEXO N° 10: CERTIFICADO DE CONFORMIDAD DEL KIT DE ELISA



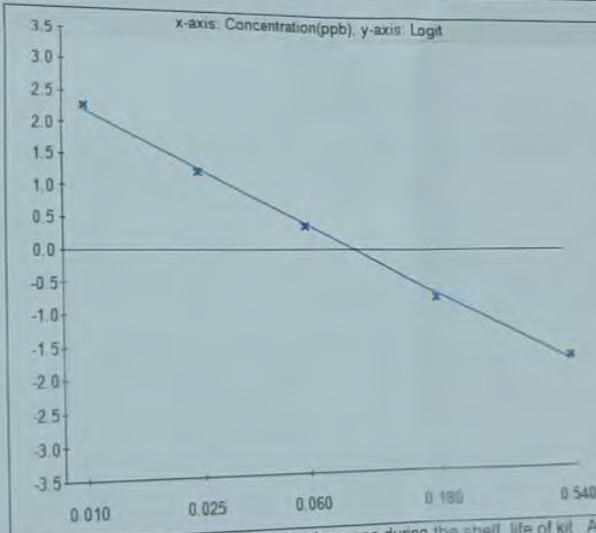
Certificate of Conformity

KIT: **Aflatoxin M1 ELISA Kit RNM98001-1**

Release Date: Feb 13th 2025
 Expiration Date: Feb 12th 2026
 Temperature: 25°C

REAGEN INC certifies that this lot has passed Quality control assays and conforms to product release specifications.

Standards	Rep. #1	Rep. #2	Rep. #3	Avg.	Std. Dev.	%RSD	%Ba
Negative Control	2.112	2.105	2.206	2.141	0.056	2.634	100%
0.01 ppb Calibrator	1.963	1.890	1.971	1.941	0.045	2.299	90.7%
0.025 ppb Calibrator	1.662	1.637	1.665	1.655	0.015	0.929	77.3%
0.06 ppb Calibrator	1.255	1.261	1.274	1.263	0.010	0.769	59.0%
0.18 ppb Calibrator	0.671	0.675	0.692	0.679	0.011	1.641	31.7%
0.54ppb Calibrator	0.328	0.324	0.319	0.324	0.005	1.393	15.1%



Logit/Log

Standards
Conc. (ppb) / A(Mean)

0.010 1.941
(Coeff. of Var. 0.0%)

0.025 1.655
(Coeff. of Var. 0.0%)

0.060 1.263
(Coeff. of Var. 0.0%)

0.180 0.679
(Coeff. of Var. 0.0%)

0.540 0.324
(Coeff. of Var. 0.0%)

x-axis (zero point) 0.1
slope -2.31
Corr Coeff. 0.9980
50% inhibition 0.089

Note: The absorbance of the calibrators may decrease during the shelf life of kit. Actual values may vary, this data is for example purposes only.

QA Manager Alexis Release Date Feb.13th 2025

