



Universidad Internacional de La Rioja
Escuela Superior de Ingeniería y Tecnología

Máster Universitario en Gestión de la Seguridad Alimentaria
**Seguridad alimentaria en la revalorización
del bagazo de cerveza como ingrediente
en alimentación acuícola en la empresa
Akuipentsua**

TFE presentado por:	Aintzane García Diez
Especialidad del TFE:	Tecnología de los Alimentos
Director/a:	José Ignacio López Sánchez
Fecha:	17 de julio de 2023

Resumen

El objetivo de este trabajo es analizar si se garantiza la calidad y seguridad alimentaria durante la fabricación de piensos acuícolas en la empresa Akuipentsua, con la revalorización e introducción del bagazo de la cerveza como nuevo ingrediente. Para ello, es necesario implementar un programa de prerrequisitos y realizar un nuevo Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control para identificar los posibles riesgos y peligros específicos que pueden surgir durante el proceso de producción de estos nuevos piensos, así como establecer planes de muestreo como elemento de control, para verificar que los niveles de contaminantes y residuos presentes sean inferiores a los niveles que suscitan preocupación. Tras el estudio, se ha visto que la incorporación de esta nueva materia prima en los piensos, debido al aumento de costes y escasez de la harina de pescado, trae aparejado el riesgo de introducir micotoxinas a lo largo de la cadena alimentaria. Sin embargo, tras los planes de muestreo y los análisis de determinación de micotoxinas y empleando la información de diversas publicaciones científicas, podría estimarse que el riesgo del consumo de pescados procedentes de la acuicultura contaminados con micotoxinas como consecuencia de introducir el bagazo de cerveza en el pienso acuícola es muy bajo o casi inexistente.

Palabras clave:

Seguridad alimentaria, bagazo cervecero, pienso acuícola, APPCC, micotoxinas.

Abstract

The aim of this paper is to analyze whether quality and food safety are guaranteed during the manufacture of aquaculture feed in the Akuipentsua company, with the revaluation and introduction of beer bagasse as a new ingredient. For this, it is necessary to implement a prerequisite program and carry out a new Hazard Analysis and Critical Control Points to identify the possible risks and specific hazards that may arise during the production process of these new feeds, as well as establish sampling plans such as control element, to verify that the levels of contaminants and residues present are below the levels that give rise to concern. After the study, it has been seen that the incorporation of this new raw material in feed, due to the increase in costs and scarcity of fishmeal, brings with it the risk of introducing mycotoxins throughout the food chain. However, after sampling plans and mycotoxin determination analyzes and using information from various scientific publications, it could be estimated that the risk of consuming mycotoxin-contaminated fish from aquaculture as a consequence of introducing beer bagasse into the aquaculture feed is very low or almost non-existent.

Keywords:

Food safety, beer bagasse, aquaculture feed, HACCP, mycotoxins

Índice de contenidos

1. Justificación	8
2. Introducción	10
3. Objetivos	14
3.1. Objetivo general.....	14
3.2. Objetivos específicos	14
4. Marco Teórico	15
5. Descripción de la empresa	18
5.1. Proceso productivo	19
5.2. Instalaciones y /o equipos de trabajo.....	23
5.3. Descripción de los puestos de trabajo.....	26
6. Metodología	28
7. Resultados y discusión	30
7.1. Análisis de peligros y puntos críticos de control	30
7.1.1 Identificación y análisis de peligros.....	30
7.1.2 Puntos de control críticos (PCC).....	37
7.1.3 Límites críticos para los PCC.....	40
7.1.4 Sistema de vigilancia para controlar los puntos críticos.....	40
7.1.5 Determinación de las medidas o acciones correctoras	41
7.1.6 Procesos de verificación del plan de APPCC	48
7.1.7 Gestión de registros	48
7.2. Métodos de muestreo y análisis de micotoxinas	49
7.2.1 Planes de muestreo y preparación de muestras.....	49
7.2.2 Métodos de análisis para determinación de micotoxinas	50

7.3. Propuesta de aplicación de un método para el control de micotoxinas mediante el empleo de Inteligencia Artificial.	53
7.4. Evaluación del riesgo del consumo de pescados procedentes de la acuicultura contaminados con micotoxinas	54
7.4.1 Identificación del peligro	56
7.4.2 Caracterización del peligro	57
7.4.3 Evaluación de la exposición	59
7.4.4 Caracterización del riesgo	60
7.5. Discusión	62
8. Conclusiones.....	65
9. Referencias bibliográficas	67
10. Anexos	78
Anexo A. Listado de abreviaturas	78

Índice de figuras

Figura 1. Imagen aérea de la empresa Akuipentsua.	19
Figura 2. Diagrama de flujo de la empresa Akuipentsua	21
Figura 3. Imagen de un reactor discontinuo de la empresa italiana Elettronica Veneta.....	24
Figura 4. Imagen de una centrifuga de filtros de la empresa española Riera Nadeu.	25
Figura 5. Imagen de una cámara de secado flash de la empresa española Riera Nadeu.	26
Figura 6. Árbol de decisiones del Codex Alimentarius.	39
Figura 7. Esquema de muestreo en el silo del bagazo revalorizado	50
Figura 8. Estimación del nivel de micotoxinas en μg por kg de alimento acuícola basada en datos recopilados de la literatura.....	52
Figura 9. Etapas de la evaluación de riesgos de ingesta de micotoxinas con el pescado de acuicultura	54

Índice de tablas

Tabla 1. <i>Efectos sobre la salud ocasionados por las micotoxinas</i>	12
Tabla 1. <i>Efectos sobre la salud ocasionados por las micotoxinas (continuación)</i>	13
Tabla 2. <i>Niveles de riesgo</i>	32
Tabla 3. <i>Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados.</i>	33
Tabla 3. <i>Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación I).</i>	34
Tabla 3. <i>Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación II).</i>	35
Tabla 3. <i>Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación III).</i>	36
Tabla 3. <i>Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación IV).</i>	37
Tabla 4. <i>Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua</i>	42
Tabla 4. <i>Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación I)</i>	43
Tabla 4. <i>Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación II)</i>	44
Tabla 4. <i>Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación III)</i>	45
Tabla 4. <i>Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación IV)</i>	46
Tabla 4. <i>Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación V)</i>	47
Tabla 5. <i>Información necesaria en la identificación del peligro</i>	56
Tabla 6. <i>Información necesaria en la caracterización del peligro</i>	57
Tabla 7. <i>Valores de micotoxinas encontrados en piensos compuestos acuícolas</i>	59
Tabla 8. <i>Información necesaria en la evaluación de la exposición</i>	60
Tabla 9. <i>Formas de expresar el riesgo en la evaluación</i>	61
Tabla 10. <i>Ingesta diaria tolerable para las micotoxinas según el panel CONTAM</i>	62

1. Justificación

Este trabajo de fin de máster se enfoca en conocer en profundidad la gestión de la calidad y seguridad alimentaria en la revalorización del bagazo de cerveza como ingrediente en piensos acuícolas y su vinculación con la presencia de micotoxinas en el pescado procedente de acuicultura que consumimos en la actualidad.

En las últimas décadas, la demanda cada vez mayor de productos derivados de la acuicultura para consumo humano en detrimento de la pesca de captura (FAO, 2018), ha provocado un incremento de la reclamación de piensos para proveer a dicha producción acuícola. Este hecho, implica a su vez que deba mejorarse la alimentación acuícola, elemento clave de su viabilidad, desde las perspectivas de sostenibilidad, nutrición, eficiencia, calidad y seguridad, regulatorias y reducirse desde la perspectiva financiera ya que el coste del pienso acuícola supone entre el 40-60% de los costes totales de producción (García et al., 2010; Peters et al., 2004). En 2021 según la publicación de APROMAR del 2022, se utilizaron en España 139.526 toneladas, un 48,6 % más que el año anterior con 93.881 toneladas.

Los piensos para peces se componen principalmente de harina de pescado, la cual aporta aminoácidos y ácidos grasos esenciales, vitaminas y minerales. Asimismo, es la principal fuente proteica de dichos piensos ya que también se caracteriza por su alta digestibilidad y palatabilidad (García et al., 2010; Peters et al., 2004).

Estas harinas de pescado se obtienen a partir de pescados de bajo valor comercial que habitan en los caladeros que hoy en día están llegando a su tope máximo de aprovechamiento. Esta restricción de materias primas junto con el aumento de los precios de mercado y la crisis que supuso la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EEB), está acelerando la búsqueda de recursos alternativos de proteínas y lípidos para la alimentación acuícola, que rebajarían los costes de producción y ayudarían a impulsar una mejora en la sostenibilidad de las zonas de captura (García et al., 2010; Peters et al., 2004). Entre estas nuevas fuentes, sobre todo de origen vegetal, se encuentra el bagazo de cerveza, que además de poder emplearse como ingrediente de productos nutracéuticos (Kanauchi, et al., 2001; Ainsworth, et al., 2007; Ktenioudaki, et al., 2012; Farçaş, et al., 2014) se está afianzando cada vez más como alternativa para formar parte de los mencionados alimentos acuícolas.

El sector cervecero ocupa una posición económica estratégica con una producción anual de cerveza en Europa de alrededor de 396 millones de hectolitros. En este contexto, las grandes empresas cerveceras, generan 40 toneladas de subproductos por día que deben eliminar (Thomas y Rahman, 2006) e incluso las pequeñas cervecerías deben tener una gestión de residuos cuidadosa para garantizar su viabilidad económica y ambiental. Dado que la mayor parte de los residuos orgánicos, como el bagazo de cerveza o “Brewer’s spent grain” (BSG), se han clasificado como alimentos de alta calidad por su valor nutricional y tecnológico (Mussatto et al., 2006; Thomas y Rahman, 2006; Mussatto, 2009; Levic et al., 2010; Robertson et al., 2010; Zhou et al., 2018), las principales empresas cerveceras están buscando formas adecuadas de minimizar las pérdidas y optimizar la producción mediante el aumento de los rendimientos (Jurado y Sorensen, 2012).

El inconveniente de emplear materias primas de origen vegetal es el incremento del riesgo potencial de la presencia de micotoxinas en los piensos (Martins et al., 2008). El desperdicio de alimentos junto con la pérdida de productos de consumo alimentario debido a las micotoxinas alcanza anualmente los 1000 millones de toneladas (Bhat et al., 2010), y es uno de los principales problemas mundiales. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), a nivel mundial se pierde o desperdicia un tercio de los alimentos producidos para el consumo humano (Gustavsson, et al., 2012), generando una disminución en la disponibilidad de alimentos para la población, pérdida de recursos utilizados en su generación, aumento de producción y costes finales, aumento de emisiones de CO₂ y de gases de efecto invernadero, despilfarro de agua y aumento de la presión sobre las tierras cultivables, entre otros (FAO, 2014).

2. Introducción

La cerveza es una de las bebidas más ampliamente consumidas a nivel mundial, con una producción planetaria estimada de 39 millones de toneladas/año (Lynch, et al., 2016). En el proceso de elaboración de esta bebida se parte de lúpulo, agua, levadura y cebada malteada. Estas materias primas tras varios procesos como la molturación, cocción, maceración y fermentación dan lugar al producto final que es la cerveza y también a un desperdicio no soluble, conocido como bagazo cervecero.

Este subproducto representa el 85% de los residuos y supone a su vez el 31% del peso original de malta utilizado durante la elaboración (Nigam, 2017). En la actualidad, este subproducto es destinado para alimentación humana y ganadera (Faccenda et al., 2017), crustáceos (Muzinic et al., 2004) y algunas especies de peces (Campos et al., 2018; Jayant et al., 2018) por ser una materia prima rica en fibra, particularmente la insoluble (Buffington, 2014) y elevado contenido proteico (Fillaudeau, et al., 2006), glúcidos simples (xilosa, glucosa y arabinosa), minerales y aminoácidos esenciales (Mussatto, 2009; Aliyu y Bala, 2011). También contiene hemicelulosa, lignina, lípidos, minerales y vitaminas (Mussatto et al., 2006). Es una buena fuente de ácidos grasos insaturados (Thavasiappan et al., 2016) y tiene beneficios para la salud debido a su contenido en compuestos biológicos activos como polifenoles, flavonoides y β -glucanos (Farcas et al., 2017). Aun así, la composición química del bagazo puede variar según la variedad de grano de cebada, el momento de la cosecha y las condiciones de malteado y maceración durante el proceso de elaboración (Robertson et al., 2010).

Todas estas características nutricionales y su disponibilidad, lo hacen ser un posible ingrediente alternativo, sostenible y económico frente a la harina de pescado en los alimentos acuícolas, los cuales, están formulados para contener todos los nutrientes esenciales que los peces necesitan para mantenerse saludables (San Martin et al., 2020).

Existe una extensa información científica y práctica desarrollada durante estos últimos años, sobre todo por los fabricantes de piensos, que apoya el gran potencial de los subproductos generados en la industria cervecera como fuente de proteína para su uso en acuicultura ya que se producen en grandes cantidades en Europa y bien regulados pueden representar una fuente alternativa abundante y potencial de proteínas, a precios asequibles y perfiles nutricionales saludables para el crecimiento de los peces, para reducir el uso de proteínas

vegetales o subproductos de pescado/animales (trimmings) y aumentar la sostenibilidad de ambos sectores, la industria cervecera y la acuicultura.

La valorización de estos residuos permite transformar ingredientes funcionales importantes para la industria alimentaria desde el punto de vista crematístico y nutricional, así como, disminuir los gastos que tienen todas las empresas asociados a la gestión ambiental de esos residuos. Esta estrategia se alinea con los recientes enfoques de economía circular, que promueven la recuperación de materiales para reintegrarlos en nuevos procesos de producción y cerrar el ciclo de consumo (World Economic Forum, 2017). Asimismo, guarda sinergia con las políticas expresadas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación de lograr “pérdidas y desperdicios cero, hambre cero” (FAO, 2015).

El principal inconveniente de emplear los subproductos generados en la industria cervecera como fuente de proteína para su uso en acuicultura, es aumentar la probabilidad de la presencia de micotoxinas en las dietas de acuicultura, debido al crecimiento inadvertido de moho durante el almacenamiento de bagazo de cerveza, leguminosas y/o cereales utilizados en la producción de piensos acuícolas. Esto plantea un riesgo potencial para la salud pública al comercializar carne de pescado que podría contener trazas de micotoxinas en su tejido muscular (Cano, 2020).

Las micotoxinas son compuestos tóxicos producidos de forma natural (no antropogénicos) en el metabolismo secundario, por hongos filamentosos, principalmente *Fusarium spp.*, *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.* (AESAN, 2022) que tienen efectos cancerígenos, mutagénicos, teratogénicos y tremorgénicos, y pueden causar daños potenciales en el sistema nervioso central, hígado y riñones (Khosravi et al., 2008). Se producen bajo unas condiciones óptimas de temperatura que oscilan entre los 20-25 °C, requieren de un pH entre 4 y 8 y una humedad relativa de 80 a 90 % (Serrano, 2015).

Como ya se ha comentado previamente, existe un enorme crecimiento en este sector, pero pese a ello, se evidencia la falta de información acerca de la presencia de micotoxinas en peces cultivados en acuicultura. En los escasos estudios realizados sobre la presencia de micotoxinas en la producción de piensos acuícolas y en las materias primas utilizadas para la formulación de estos alimentos para acuicultura se han encontrado cinco tipos de micotoxinas: aflatoxinas,

ocratoxinas, zearalenona, tricotecenos y fumonisinas (Gimeno, 2011), siendo estas tres últimas las principales micotoxinas producidas por el género *Fusarium*.

Tabla 1. Efectos sobre la salud ocasionados por las micotoxinas

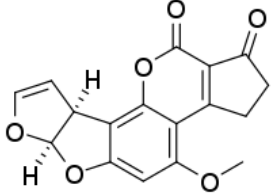
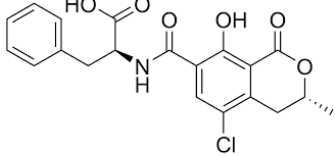
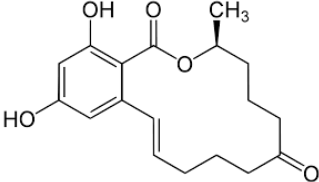
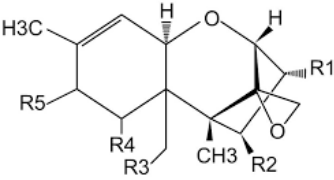
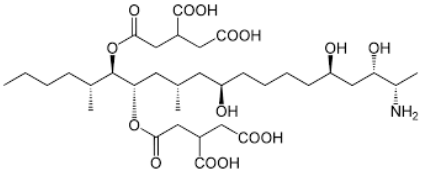
MICOTOXINA	EFECTO SOBRE LA SALUD
<p data-bbox="240 589 427 618">Aflatoxinas B1</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="703 589 1433 678">▪ El hígado es el órgano principal afectado por estas sustancias. <li data-bbox="703 707 1433 857">▪ Estas sustancias tienen un fuerte efecto hepatotóxico, pudiendo causar tanto efectos agudos como enfermedades crónicas <li data-bbox="703 887 1433 976">▪ Intenso efecto carcinógeno específico para el hígado. <li data-bbox="703 1005 1433 1095">▪ Pueden actuar como mutágenos y afectan al sistema inmune <li data-bbox="703 1124 1433 1153">▪ Potente genotóxico.
<p data-bbox="240 1211 395 1240">Ocratoxinas</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="703 1211 1107 1240">▪ El riñón es su órgano diana. <li data-bbox="703 1270 911 1299">▪ Nefrotóxica. <li data-bbox="703 1328 1433 1417">▪ Teratógena y efectos sobre la reproducción en algunas especies. <li data-bbox="703 1447 1177 1476">▪ Efectos sobre el sistema inmune. <li data-bbox="703 1505 1246 1534">▪ Genotóxica (mecanismo desconocido)
<p data-bbox="240 1599 405 1628">Zearalenona</p> 	<ul style="list-style-type: none"> <li data-bbox="703 1599 1433 1749">▪ Efectos que emulan la acción estrogénica (hiperestrogénica en animales con efectos a nivel reproductivo). <li data-bbox="703 1778 1235 1807">▪ Genotoxicidad ambigua en humanos. <li data-bbox="703 1836 1433 1926">▪ No presentan capacidad carcinogénica para el ser humano.

Tabla 1. Efectos sobre la salud ocasionados por las micotoxinas (continuación)

MICOTOXINA	EFECTO SOBRE LA SALUD
<p>Tricotecenos</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Afectan principalmente al sistema inmunitario. ▪ No son carcinógenos para el ser humano. ▪ Causantes del síndrome ATA (Aleuquia Tóxica Alimentaria) que se produce tras el consumo de cereales altamente contaminados
<p>Fumonisinás</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Inducen citotoxicidad al perturbar la síntesis de lípidos en las neuronas. ▪ Actualmente, insuficiente información para su vinculación con algunos tipos de cáncer de esófago en humanos. ▪ Pudieran ser tóxicas para el ADN.

Fuente: Elaboración propia a partir de información del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Existen alimentos que pueden implicar un riesgo para la salud de quienes los consumen, y cuya ingesta puede originar alertas alimentarias, que, a nivel nacional, la gestión se realiza mediante el Sistema Coordinado de Intercambio de Información Rápida (SCIRI), el cual está bajo la supervisión de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN). A nivel europeo, se cuenta con el Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos (RASFF) para llevar a cabo dicha gestión. Esta carencia también se traslada a la falta de alertas alimentarias notificadas en los últimos tres años por la aparición de micotoxinas en el pescado (AECOSAN, 2021) lo que en parte ha podido ayudar al importante incremento del consumo de pescado de acuicultura.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Con la realización del presente trabajo se pretende garantizar la seguridad alimentaria en el proceso de revalorización del bagazo de cerveza como ingrediente en alimentación acuícola en la empresa Akuipentsua.

3.2. Objetivos específicos

En cuanto a los objetivos específicos que se plantean, estos son:

- 1.- Divulgar el problema de la sustitución de harinas de pescado en las dietas para acuicultura.
- 2.- Describir la empresa y el proceso productivo.
- 3.- Analizar las etapas del proceso de revalorización del bagazo de cerveza.
- 4.- Elaborar el análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) y definir los principales puntos críticos de control (PCC) tomando en cuenta los peligros asociados más importantes de tipo químico, físico y biológico.
- 5.- Confeccionar un plan de muestreo y de preparación de las muestras, así como un método de análisis para la determinación de micotoxinas en los piensos acuícolas de acuerdo con la legislación vigente.
- 6.- Plantear una evaluación del riesgo alimentario similar a la que realizaría el Comité Científico de la AESAN para autorizar la comercialización de un nuevo pienso acuícola.

4. Marco Teórico

La Orden Ministerial APM 189/2018, de 20 de febrero regula la utilización del bagazo de cerveza para alimentación animal, comprendiendo que dicho bagazo es un subproducto procedente de la industria agroalimentaria y puede destinarse a la alimentación animal y a la fabricación de piensos. Se considera como pienso cualquier sustancia o producto, incluyendo aditivos, que se destinen a la alimentación de los animales por vía oral, sin importar si ha sido transformado total o parcialmente (Reglamento (CE) 178/2002). Asimismo, el Reglamento (UE) 68/2013 recoge el bagazo de cerveza dentro del catálogo de materias primas autorizadas para elaborar los piensos; catálogo al que se hace referencia en el artículo 24 del Reglamento (CE) 767/2009 el cual establece las normas para la comercialización y la utilización de los piensos para animales destinados a la producción de alimentos.

A su vez, el proyecto de Ley de Prevención de las Pérdidas y el Desperdicio Alimentario impulsado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación fue aprobado en junio de 2022, por el Consejo de Ministros. Dicha Ley, es la primera regulación sobre esta problemática global a nivel estatal, pero sigue sin entrar en vigor actualmente lo que imposibilita que España se convierta en el tercer país de la Unión Europea que legisla el desperdicio tras Francia e Italia.

Por su parte, la acuicultura está sometida a una exigente legislación en materia de seguridad alimentaria que se aplica desde la primera fase de cultivo hasta que el pescado llega a las distintas mesas de los consumidores. Las empresas de piensos acuícolas deben actuar de conformidad con el Real Decreto 2257/1994, de 25 de noviembre, por el que se aprueba los métodos oficiales de análisis de piensos o alimentos para animales y sus primeras materias y con el Reglamento (CE) nº 183/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de enero de 2005, por el que se fijan requisitos en materia de higiene de los piensos armonizados. A su vez, estas empresas deben disponer de una adecuada implantación en el desarrollo de sus procesos productivos, ya sean estos de elaboración como de almacenamiento o transporte de piensos y de un sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control para garantizar un nivel más elevado de protección de la salud humana y animal y del medio ambiente.

Las prácticas correctas de higiene y la aplicación de los principios del APPCC se recogen en los artículos 7 a 9 del Reglamento (CE) nº 852/2004, el cual recoge a su vez en el artículo 6,

apartado 2, la obligación que tienen las empresas de piensos acuícolas de estar registradas ante la autoridad competente. Dicho registro tiene como propósito, permitir que las autoridades competentes en los Estados miembros sepan dónde están situados los establecimientos y cuáles son sus actividades, a fin de que la autoridad nacional competente pueda efectuar los controles oficiales cuando se considere necesario.

Además, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) publica anualmente el “Código Sanitario para los Animales Acuáticos” con el fin de garantizar el comercio internacional seguro de animales acuáticos y sus productos, así como mejorar la salud y bienestar de los animales acuáticos en todo el mundo estableciendo una serie de estándares. En el capítulo 4.9 de este código acuático, relativo al control de los agentes patógenos en los piensos para animales acuáticos, se establecen los principios del análisis del riesgo (de acuerdo con el capítulo 2.1.) que deben aplicarse para determinar los riesgos (físicos, químicos y biológicos) asociados a la producción y el uso de piensos en acuicultura.

Del mismo modo, dado que existen interacciones entre las empresas alimentarias de elaboración de piensos acuícolas y las empresas especializadas en la explotación, venta y comercialización de productos derivados de la acuicultura, así como conexiones entre la sanidad animal, el bienestar de los animales y las consideraciones de salud pública hay que tener en cuenta el Reglamento (CE) nº 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

Durante un largo período, la Unión Europea ha mantenido un compromiso sólido de promover la calidad higiénica y sanitaria en todas las etapas de la cadena alimentaria. Para cumplir con este propósito, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha elaborado diversas regulaciones que abarcan todos los ámbitos vinculados a la alimentación, tanto para seres humanos como para animales.

En la Directiva 2002/32/EC se definen las sustancias indeseables como toda sustancia o producto, excluyendo los agentes patógenos, que se encuentre en el alimento destinado a los animales y represente un riesgo para la salud humana o animal, así como para el medio ambiente. Esta directiva se ha transpuesto en el Real Decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre sustancias indeseables en la alimentación animal. Mediante la regulación de sustancias no deseadas en los productos alimentarios para animales y el establecimiento de límites máximos

permisibles para estas sustancias, se busca salvaguardar la salud humana, la salud animal y el medio ambiente. Dentro de las sustancias no deseadas contempladas por estas normativas se incluyen las micotoxinas, metales pesados, dioxinas, plaguicidas y policlorobifenilos (PCBs), entre otras (Tolosa, 2017).

La normativa europea referente a los contaminantes se basa en los principios fundamentales establecidos en el Reglamento (CE) nº 315/93 del Parlamento Europeo y del Consejo. Este reglamento establece los procedimientos comunitarios relacionados con los contaminantes presentes en los alimentos, prohibiendo de manera absoluta la comercialización de alimentos que contengan cantidades inaceptables de contaminantes. Además, ciertas micotoxinas tienen propensión a almacenarse en diversos órganos de los animales, exhibiendo capacidad de acumulación en distintas partes del cuerpo, lo que supone un riesgo si estos compuestos se introducen en la cadena alimentaria mediante la ingestión de alimentos de origen animal que están contaminados con ellos (pescado de acuicultura). Como resultado de esta situación, la Comisión Europea ha implementado una normativa estandarizada a nivel europeo con el objetivo principal de salvaguardar la salud de los consumidores y prevenir posibles distorsiones en el mercado interno debido a la existencia de diferentes legislaciones nacionales relacionadas con este tema.

Por último, debe tenerse en cuenta también, las medidas legislativas sobre el control en el análisis y la toma de muestra que hay que realizar para regular los niveles máximos permitidos de toxinas en estos piensos. En concreto, el Reglamento 401/2006 y sus modificaciones regula las técnicas de muestreo y análisis utilizadas en la supervisión oficial del contenido de micotoxinas y el Reglamento 2023/915 de 25 de abril, fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios y regula los niveles máximos permitidos de las toxinas. Las directrices referentes a la presencia de micotoxinas en el alimento para animales se encuentran establecidas en la Directiva 2003/100/EC y en la Recomendación 2006/576/EC.

5. Descripción de la empresa

La red de distribución y producción del sector de los piensos para acuicultura en nuestro país es muy reacia a comunicar cuales son las formulaciones de las materias primas que componen los piensos, así como cuál es el proceso en si por el que estos alimentos se elaboran. Es por ello por lo que para realizar el presente TFM, se ha acudido sobre todo a comunicaciones personales y entrevistas por Meet con productores de pienso nacionales y personal de investigación del centro tecnológico de Ciencia y Tecnología Marina y Alimentaria, los cuales me han autorizado para que utilice la información que me han facilitado, pero declinando aparecer en el texto de este trabajo. En parte debido a que los productores de piensos para acuicultura en este país son muy pocos, y la mayor parte lo ha hecho por salvaguardar sus datos empresariales, por lo que me he comprometido a mantener la confidencialidad y emplear un nombre ficticio y otra localización para la empresa en España en la que se realiza la revalorización del bagazo de cerveza para emplearlo como materia prima del pienso acuícola.

Akuipentsua es una empresa multinacional con presencia en 19 países de los cinco continentes que proporciona soluciones nutricionales innovadoras y sostenibles y que fabrica y suministra anualmente una cantidad superior a 2 millones de toneladas de alimentos para la industria acuícola, los cuales se caracterizan por su alta calidad. Sus oficinas centrales se localizan en Noruega, pero en España, sus instalaciones se localizan en Pamplona. En la sede española trabajan un total de 148 empleados de los cuales el 98,5 % son fijos y únicamente el 1,5% son eventuales.

Figura 1. Imagen aérea de la empresa Akuipentsua.



Fuente: Akuipentsua, 2020.

5.1. Proceso productivo

El proceso productivo de Akuipentsua, recogido en la Figura 2, empieza por la recepción de materia prima: harina de pescado, hidrolizado de pescado líquido, lecitina de soja al 60% líquida, premezcla de vitaminas y minerales y bagazo de cerveza.

El ingrediente principal del pienso es la harina de pescado junto con el bagazo de cerveza ya que son los productos orgánicos, compuestos principalmente por proteínas que aportan un alto valor energético, por lo que para conocer su calidad nutricional y sanitaria y ser evaluados y aprobados, se toman muestras para analizar los siguientes parámetros (Cuéllar, 2021):

- **Parámetros nutricionales:**
 - Proteínas: se requiere un rango de 55 a 65% para asegurar la calidad y el valor nutricional óptimo del producto.
 - Grasa: se recomienda que no supere el 13%. Niveles más elevados puede contribuir al deterioro de estos ingredientes.
 - Humedad: debe oscilar entre el 5% y el 15%. Una humedad excesiva influye en la vida útil y la calidad sanitaria, ya que las bacterias y hongos se replican mejor en presencia de agua. A su vez, niveles inferiores a este valor pueden causar el calentamiento y la combustión de estos ingredientes.
 - Cenizas: se recomienda que sea inferior al 20%.

- **Parámetros sanitarios:**

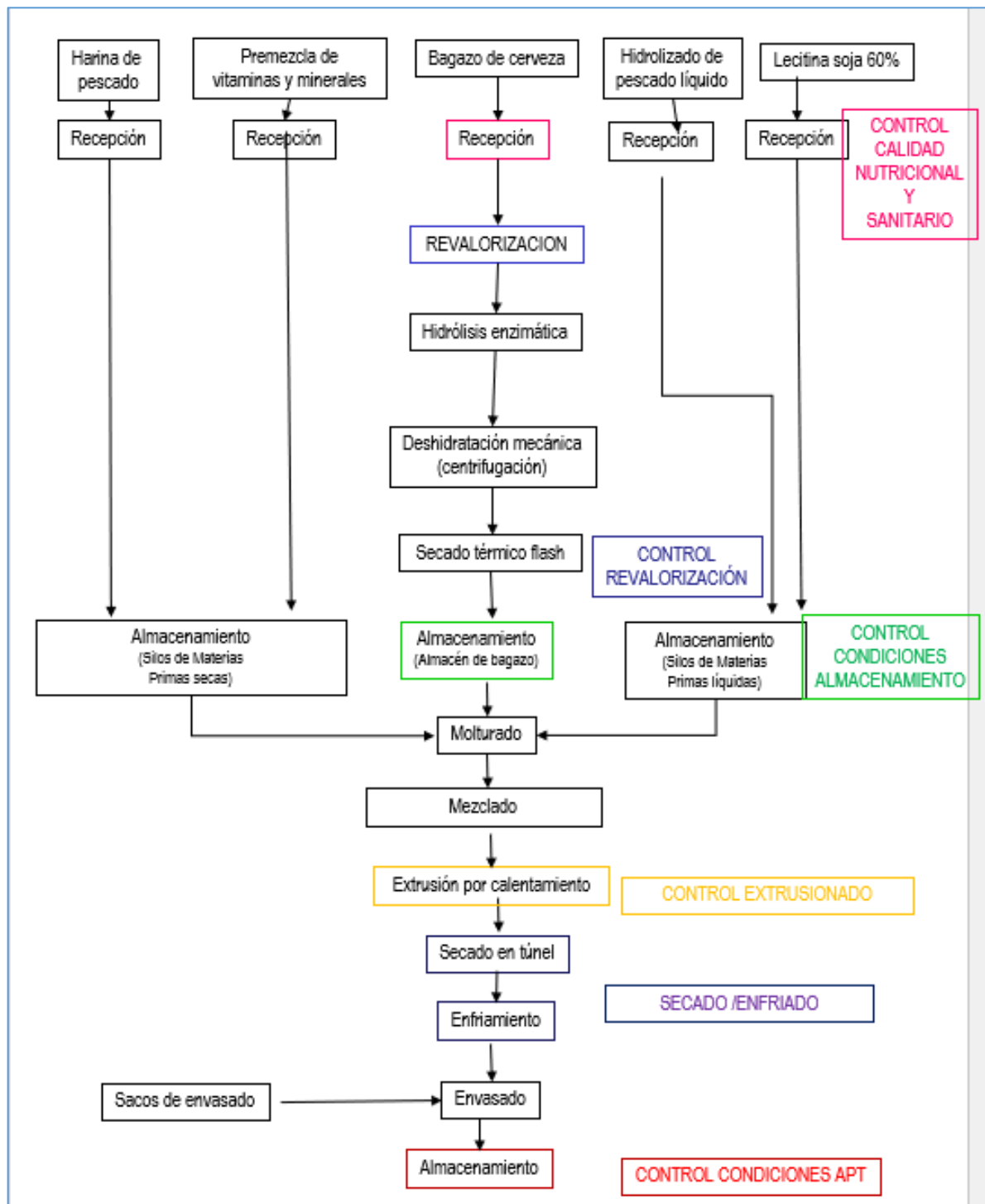
- pH: se recomienda que no sea inferior a 5-6, ya que los entornos ácidos pueden propiciar el crecimiento de hongos y la producción de toxinas.
- Cloruro de sodio: se debe limitar a un máximo del 3%. La sal se utiliza para preservar la materia prima en casos donde no hay una cadena de almacenamiento adecuada.
- Nitrógeno Básico Volátil Total (NBVT): debe ser inferior a 125mg/100g. Estos ingredientes deben mantenerse a temperaturas bajas para evitar el deterioro de compuestos nitrogenados que podrían aumentar este parámetro.
- Fibras: se recomienda que sea inferior al 1%, ya que esto indica la digestibilidad del producto.
- Rancidez: se debe mantener por debajo de 13meq/Kg. Evidencia los fallos de hermeticidad en los envases en los que vienen cuando hay entrada de oxígeno en éstos.
- Histamina: menor de 20mg/10g. Si se producen alteraciones en la calidad higiénico-sanitaria de estos ingredientes durante la conservación, crecen bacterias que forman esta amina que es tóxica.
- Análisis microbiológico de las bacterias *Salmonella* y *E.coli*.

Además, en el caso del bagazo de cerveza también se analizan:

- Micotoxinas y pesticidas: mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) o inmunoensayo enzimático (ELISA) para las micotoxinas o mediante análisis cromatográficos para los pesticidas, para evitar sobrepasar los límites reglamentarios y garantizar la inocuidad del producto.
- Humedad y actividad del agua (A_w): importante controlar estos parámetros ya que las especies fúngicas toxicogénicas de los géneros *Aspergillus* y *Fusarium*, sobre todo, producen micotoxinas con humedades del 85-95% y pueden crecer a partir de valores de A_w de 0,70 (RSA-CONICET, 2021) A pesar de que la producción de micotoxinas es prácticamente inexistente o extremadamente baja en niveles de actividad de agua inferiores a 0,85 (Gimeno, 2011).

En el caso de la lecitina de soja líquida lo que se controla es el porcentaje de fosfolípidos que no debe ser superior al 2% y en la premezcla de vitaminas y minerales se controla la posible presencia de inhibidores (antibióticos).

Figura 2. Diagrama de flujo de la empresa Akuipentsua



Fuente: Elaboración propia.

En el caso del bagazo de cerveza, este debe sufrir un proceso de tratamiento y estabilización para aumentar la digestibilidad y la asimilación de los nutrientes que provienen de esta materia prima por parte de los peces y disminuir el alto porcentaje de humedad con el que llega. A grandes rasgos, la revalorización comienza con una hidrólisis enzimática de la fibra y de las proteínas para romper los enlaces peptídicos (Hou et al, 2017). Estos hidrolizados al tener un alto contenido en humedad, son biodegradables debido a la actividad microbiana (Tang et al, 2004), por lo que son estabilizados mediante un proceso de secado de bajo consumo energético para garantizar la rentabilidad del desarrollo de los subproductos cerveceros (San Martín et al, 2020).

El proceso de secado se desarrolla en dos fases, en la primera se realiza una deshidratación mecánica empleando una centrifugadora de filtros, para reducir la humedad por debajo del 60 % y en la segunda fase tiene lugar un secado térmico “flash” para reducir el contenido de humedad por debajo del 10%.

La práctica más extendida consiste en emplear silos como método de almacenamiento de las distintas materias primas, diferenciándose según su diversidad de formas y capacidades. Es crucial que estén herméticamente sellados con el fin de prevenir la contaminación cruzada ocasionada por la entrada de roedores, aves o materiales de composición distinta a la del producto almacenado. Las paredes deben ser lisas para evitar la adherencia de ingredientes y asegurar que permanezcan en el interior del silo durante el vaciado (Alario, 2018). Las condiciones de temperatura, humedad y ventilación, que pueden variar conforme al tipo de materia prima, son muy importantes para conservar en buen estado dichas materias primas. Estos silos cuentan con sistemas de pesaje automatizados que permiten la medición precisa de la cantidad de material presente en su interior, brindando un control sobre la capacidad de almacenamiento y evitando problemas como la sobrecarga o la falta de material en los silos (Alario, 2018).

Tras el almacenamiento en los distintos silos, las materias primas que todavía siguen teniendo diferentes formatos y granulometrías deben ser molidas utilizando molinos de martillos con el fin de lograr el tamaño de partícula apropiado para su posterior homogeneización y extrusión.

Con el tamaño adecuado los materiales son conducidos hasta el mezclador con rotores de palas donde permanecen mezclándose durante 30 minutos para obtener una mezcla consistente y homogénea.

A continuación, según sea la composición del futuro pienso, la mezcla ira a cada una de las 4 líneas de producción, en las que pasaran por cuatro etapas: la primera es una extrusión realizada con elevados niveles de humedad, temperatura y presión y durante tiempos cortos para reducir el deterioro de los nutrientes y potenciar la digestibilidad de almidones y proteínas. La mezcla llega y primero es pre-acondicionada con el propósito de prevenir la dispersión de los pellets más allá del extrusor. Después es calentada a una temperatura de 130°C, pasa por un tornillo sin fin que va comprimiendo y cocinando esta mezcla y llega hasta una boquilla que establecerá el tamaño (grosor y longitud) del producto. El producto alimenticio que sale del extrusor aún retiene un nivel de humedad adicional, originado por la incorporación de agua durante las etapas de pre-acondicionamiento y extrusión, por lo que la segunda etapa es un secado en un túnel que aporta aire caliente (a una temperatura de 80°C a 90°C) y seco permitiendo la liberación de la humedad,; la tercera es el enfriado en un enfriador vertical que reduce la temperatura del producto hasta unos 60°C, a través del flujo de aire en sentido opuesto a temperatura ambiente y por último llega al envasado, que dependiendo del producto y la presentación final, se envasa en sacos de 25 kg, 35 kg o 40 kg.

5.2. Instalaciones y /o equipos de trabajo

En el proceso de revalorización, tal y como se ha mencionado previamente, se emplean distintos equipos:

- Un reactor discontinuo con control de agitación, pH, temperatura y tiempo del proceso para realizar la hidrólisis enzimática de la fibra y las proteínas del bagazo de cerveza.

Figura 3. Imagen de un reactor discontinuo de la empresa italiana Elettronica Veneta.



Fuente: Elettronica Veneta, S.f.

- La centrifugadora de filtros se basa en el principio de la gravedad y la fuerza centrífuga. El BSG se pone en rotación alrededor de un eje fijo y aplica una fuerza perpendicular a este eje de giro (hacia fuera). La fuerza centrífuga hace que las partículas más densas se desplacen hacia el exterior en dirección radial y las partículas menos densas hacia el centro. Por lo tanto, las partículas sólidas quedan atrapadas en una malla de separación que puede tener un tamaño de poro diferente debido a la fuerza centrífuga y el líquido sale por la parte superior del separador.

Figura 4. Imagen de una centrifuga de filtros de la empresa española Riera Nadeu.



Fuente: Riera Nadeu, S.f.

- La cámara de secado flash realiza un secado instantáneo, autorregulado y continuo de las partículas sólidas que aún tienen humedad tras salir del equipo anterior. En esta cámara se combina el efecto de la turbulencia con el movimiento a alta velocidad de dichas partículas sólidas húmedas que terminan rompiéndose para aumentar significativamente la superficie de las partículas para secarse tras, un mínimo calentamiento durante fracciones de segundo (Sagar y Suresh Kumar, 2009).

Figura 5. *Imagen de una cámara de secado flash de la empresa española Riera Nadeu.*



Fuente: Riera Nadeu, S.f.

5.3. Descripción de los puestos de trabajo

En el proceso de revalorización del bagazo de cerveza hay tres áreas con puestos de trabajo claves:

- Departamento de investigación-desarrollo e innovación: los puestos de trabajo de esta área se relacionan con la investigación y la búsqueda de soluciones innovadoras y sostenibles que puedan ser implementadas en la industria acuícola, ya sea en forma de productos, metodologías o mejoras en la fabricación.
- Departamento de calidad: los puestos de trabajo de esta área se centran en analizar determinados parámetros que describen la calidad de la materia prima, evaluar la calidad del producto final y controlar las fases del proceso productivo desde el punto de vista de calidad para tomar acciones de mejora o modificación y llegar así a los estándares de calidad esperados.

- Departamento de producción: los puestos de trabajo de esta área se encargan de fabricar los distintos piensos para acuicultura buscando siempre la máxima eficiencia, en especial en todo lo relacionado con el consumo de materia prima, medir los tiempos de ejecución, cumplir las normas de seguridad e higiene alimentaria y de prevención de riesgos laborales. También, debe establecer un sistema de inspecciones periódicas para supervisar el buen estado de los equipos y el mantenimiento de las 4 líneas de producción existente en Akuipentsua.

6. Metodología

El pescado proveniente de la acuicultura tiene una imagen de alimento saludable por lo que para poder añadir valor a la calidad de estos alimentos y evitar la presencia de micotoxinas es importante realizar una correcta supervisión de la seguridad alimentaria de los alimentos para acuicultura garantizando la seguridad y la calidad de estos.

Akuipentsua tiene implantado un sistema de garantía de la inocuidad de los piensos por lo que cualquier modificación en el proceso de producción solo puede llevarse a cabo después de realizar una evaluación de riesgos actualizada, con el fin de identificar posibles riesgos adicionales y ajustar las medidas de control en consecuencia.

Por tal motivo, para incluir el bagazo de cerveza como nuevo ingrediente en el pienso acuícola y evitar y abordar los potenciales peligros sanitarios relacionados con la presencia de micotoxinas es necesario en primer lugar, implementar un programa de prerrequisitos para controlar a nivel básico los posibles riesgos potenciales asociados al proceso de producción de estos nuevos piensos para la acuicultura y detectar y actuar rápidamente frente a cualquier irregularidad. Estos prerrequisitos son la formación de los trabajadores, las buenas prácticas de los manipuladores, el programa de limpieza y desinfección (L&D), el programa de mantenimiento de las instalaciones y maquinaria, la trazabilidad, el control de plagas, la gestión de los residuos, la homologación de proveedores, el abastecimiento de agua y plan de alérgenos.

En segundo lugar, el enfoque del Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control consiste en una metodología para identificar los posibles riesgos y peligros específicos que pueden surgir durante el proceso de producción, así como implementar las medidas de control correspondientes. Además, permite evaluar la efectividad de estas medidas y realizar un seguimiento constante de su eficacia. Los peligros relacionados con la seguridad alimentaria en los piensos acuícolas pueden ser de naturaleza biológica, química o física. Cada peligro se encuentra vinculado a fuentes y vías específicas de contaminación y exposición pudiéndose introducir en los piensos a través de las materias primas que los componen o por la transferencia o polución de éstos durante su manipulación, almacenamiento y transporte.

La existencia de un peligro también puede ser el resultado de la acción humana, tanto de forma involuntaria como intencional (FAO, 2014). La implementación del Sistema APPCC debe

realizarse en concordancia con las directrices establecidas por el Codex Alimentarius y la 22ª Conferencia Regional de la FAO para Europa sobre inocuidad y calidad de alimentos con respecto a los piensos.

Además, dado que como ya se ha comentado anteriormente, todos los piensos acuícolas deben alcanzar un nivel mínimo de seguridad alimentaria, es esencial que se establezcan planes de muestreos como elemento de control, para verificar que los niveles de contaminantes y residuos presentes sean lo bastante bajos como para que su concentración en el pescado procedente de acuicultura, que será destinado al consumo humano, resulte constantemente inferior a los niveles que suscitan preocupación. Para ello, se aplicarán los niveles máximos microbiológicos para piensos, así como los límites máximos para residuos extraños establecidos en el Codex.

7. Resultados y discusión

7.1. Análisis de peligros y puntos críticos de control

Akuipentsua para cumplir con la obligación que se establece en el Reglamento (CE) Nº 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de septiembre de 2003, debe fijar los estándares de higiene de los piensos además de establecer, aplicar y mantener los procedimientos escritos permanentes basados en los principios del Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico.

El APPCC es una técnica de aseguramiento de inocuidad de los alimentos que, aunque inicialmente surgió con los programas espaciales de NASA en la década de 1970, se utiliza en la actualidad para garantizar la salubridad de los alimentos. Este sistema se fundamenta en siete principios que permiten identificar y evaluar los peligros (biológicos, químicos o físicos que puedan generar efectos perjudiciales para la salud), emplear y respaldar científicamente las medidas de control (puntos críticos de control), dar seguimiento a los PCCs, llevar a cabo acciones correctivas ante cualquier desviación y contar con un registro completo de toda la documentación del sistema. Los atributos del plan APPCC no incluyen la evaluación del riesgo en salud pública y por ende no debe ser confundido con el proceso de análisis de riesgos que se incluye posteriormente en el apartado 7.3.

Con la introducción del bagazo de cerveza como nuevo ingrediente en el pienso acuícola se introduce el peligro de contaminación por presencia de micotoxinas en esta materia prima, así como a lo largo de la cadena alimentaria por lo que Akuipentsua debe integrar en su sistema de autocontrol general nuevas medidas de prevención y control. Es por ello por lo que los siete principios del APPCC han sido actualizados tal y como se comenta a continuación, teniendo en cuenta la guía elaborada por AFOEX en el 2019.

7.1.1 Identificación y análisis de peligros

El término “peligro” designa un agente biológico, químico o físico presente en un alimento o ingrediente de un alimento para la alimentación de los peces de acuicultura que puede tener un efecto adverso en la salud de las personas o en la sanidad de los propios peces.

La representación gráfica del proceso productivo evidenciada en la Figura 2, se ha utilizado para identificar los peligros, con la introducción del bagazo de cerveza, en cada etapa del proceso, considerando las condiciones específicas de cada fase y los distintos peligros potenciales. De esta manera se ha considerado que la presencia de micotoxinas debe ser contemplado como un peligro químico de origen biológico:

- Peligros físicos: cuerpo extraño u objeto ajeno que pueden venir con las materias primas (vidrio, madera, piedras y elementos metálicos).
- Peligros químicos: pesticidas, lubricantes, dioxinas, metales pesados, residuos de medicamentos veterinarios y micotoxinas producidas por hongos.
- Peligros biológicos: presencia de organismos vivos o plagas (insectos, roedores, artrópodos, etc.) y bacterias patógenas (*Salmonella* y *E.coli*).

Aparte del efecto negativo directo de este peligro en la salud de los pescados de acuicultura, existe el riesgo de que las micotoxinas del nuevo pienso acuícola se transmitan a lo largo de la cadena alimentaria hasta los consumidores. Por ello, se han definido varias acciones preventivas o de control, que se implementarán mediante la revisión y ajuste del programa de prerrequisitos o mediante la incorporación de nuevas medidas de control que serán documentadas en el manual del sistema de gestión de seguridad de los piensos acuícolas de Akuipentsua.

Además, se ha revisado y actualizado la evaluación de los riesgos teniendo en cuenta este peligro que se acaba de mencionar. La estimación de la magnitud del impacto de la contaminación por micotoxinas, específicamente en lo que concierne a la salud humana y la probabilidad de que dicho efecto se materialice, se realiza de la siguiente manera (Alario, 2018):

a) Gravedad: la evaluación de esta se determina considerando el escenario más desfavorable en términos de impacto en la salud humana. Por lo tanto, la presencia de microorganismos patógenos o sus toxinas se asocia siempre con consecuencias de alta gravedad. Por lo tanto, la gravedad se subdivide en:

- Baja: ocasiona pequeñas enfermedades y/o lesiones.
- Media: ocasiona enfermedades y/o lesiones de mayor envergadura, tanto de forma inmediata como a largo plazo

- Alta: tanto de forma inmediata como a largo plazo, provoca enfermedades y/o lesiones que pueden ser mortales.

b) Probabilidad: se fundamenta en la probabilidad de que se materialice un peligro, es decir, la probabilidad de que el consumidor final se vea expuesto a un riesgo identificado. Por lo tanto, la presencia de microorganismos patógenos o sus toxinas se mantendrá invariablemente relacionada con niveles moderados o altos de probabilidad. Esta probabilidad se determina según:

- Muy baja: el peligro aún no se ha materializado, pero existe la posibilidad de que ocurra.
- Baja: El peligro es factible una vez en cinco años.
- Media: el peligro tiene la probabilidad de acontecer una vez al año.
- Alta: el peligro tiene viabilidad para que se dé frecuentemente en un mismo año.

La determinación concluyente del nivel de riesgo asociado con la presencia de micotoxinas para la salud del consumidor final es significativa tal y como se refleja en la Tabla 2. Para la valoración por tanto del nivel de este riesgo se puede emplear la siguiente fórmula:

$$\text{Valoración del nivel de riesgo} = \text{Gravedad} * \text{Probabilidad}$$

Tabla 2. Niveles de riesgo

VALORACIÓN DEL NIVEL DE RIESGO			
Gravedad / Probabilidad	BAJA (1)	MEDIA (2)	ALTA (3)
MUY BAJA (1)	1 Trivial	2 Tolerable	3 Moderado
BAJA (2)	2 Tolerable	4 Moderado	6 Importante
MEDIA (3)	3 Moderado	6 Importante	9 Intolerable
ALTA (4)	4 Moderado	8 Intolerable	12 Intolerable

Fuente: Elaboración propia a partir de las guías y documentos de ayuda de la Fundación General de la Universidad de Salamanca.

En la Tabla 3 se reflejan los niveles de riesgo no solo de la contaminación con micotoxinas sino de los diferentes peligros identificados al introducir el bagazo de cerveza como materia prima:

Tabla 3. Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados.

VALORACIÓN DEL NIVEL DE RIESGO				
ETAPA	PELIGRO	GRAVEDAD	PROBABILIDAD	NIVEL DE RIESGO
RECEPCIÓN DE MATERIAS PRIMAS	Presencia de plagas	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Presencia de bacterias patógenas	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Presencia de metales pesados	MEDIA	ALTA	Intolerable
	Presencia de micotoxinas	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Presencia de contaminantes físicos	BAJA	MEDIA	Moderado
	Presencia de pesticidas	BAJA	MEDIA	Moderado
	Presencia de dioxinas	BAJA	MEDIA	Moderado

Tabla 3. Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación I).

VALORACIÓN DEL NIVEL DE RIESGO				
ETAPA	PELIGRO	GRAVEDAD	PROBABILIDAD	NIVEL DE RIESGO
REVALORIZACION DEL BAGAZO DE CERVEZA	Contaminación bacterias patógenas	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Presencia de micotoxinas	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Contaminación física	BAJA	BAJA	Tolerable
	Contaminación química	BAJA	BAJA	Tolerable
ALMACENAMIENTO DE MATERIAS PRIMAS	Contaminación por error humano	BAJA	MEDIA	Moderado
	Presencia de hongos filamentosos en el interior de los silos	MEDIA	ALTA	Intolerable
	Propagación de hongos en los silos	BAJA	MEDIA	Moderado
	Enranciamiento de grasas	BAJA	BAJA	Tolerable
	Etiquetado erróneo de las materias primas	BAJA	MEDIA	Moderado

Tabla 3. Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación II).

VALORACIÓN DEL NIVEL DE RIESGO				
ETAPA	PELIGRO	GRAVEDAD	PROBABILIDAD	NIVEL DE RIESGO
MOLTURACIÓN	Contaminación por acción humana	BAJA	BAJA	Tolerable
	Uso de martillos inadecuados	MUY BAJA	BAJA	Trivial
	Dosificación incorrecta de materias primas	MEDIA	MEDIA	Importante
	Contaminación cruzada con residuos de medicamentos veterinarios	MEDIA	MEDIA	Importante
MEZCLADO	Mal funcionamiento de la báscula	BAJA	MEDIA	Moderado
	Contaminación por hongos /bacterias patógenas	BAJA	BAJA	Tolerable
	Contaminación física	BAJA	BAJA	Tolerable
	Contaminación química	BAJA	BAJA	Tolerable

Tabla 3. Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación III).

VALORACIÓN DEL NIVEL DE RIESGO				
ETAPA	PELIGRO	GRAVEDAD	PROBABILIDAD	NIVEL DE RIESGO
EXTRUSIONADO	Contaminación por bacterias patógenas	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Presencia de micotoxinas	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Contaminación física	BAJA	BAJA	Tolerable
	Contaminación química	BAJA	BAJA	Tolerable
	Contaminación cruzada con residuos de medicamentos veterinarios	MEDIA	MEDIA	Importante
SECADO Y ENFRIAMIENTO	Contaminación por bacterias patógenas	MEDIA	MEDIA	Importante
	Micotoxinas	MEDIA	MEDIA	Importante
	Contaminación física	BAJA	BAJA	Tolerable
	Desgranulación por exceso de Tª y/o humedad	BAJA	BAJA	Tolerable

Tabla 3. Valoración del nivel de riesgo de los peligros identificados (continuación IV).

VALORACIÓN DEL NIVEL DE RIESGO				
ETAPA	PELIGRO	GRAVEDAD	PROBABILIDAD	NIVEL DE RIESGO
ENVASADO	Contaminación cruzada por manejo incorrecto de medicamentos	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Contaminación química	ALTA	MEDIA	Intolerable
	Etiquetado inexacto	ALTA	MEDIA	Intolerable
ALMACENAMIENTO	Desarrollo de hongos por inadecuado almacenamiento	MEDIA	MEDIA	Importante
	Error en el etiquetado	BAJA	BAJA	Tolerable
	Contaminación física	MEDIA	MEDIA	Importante

Fuente: Elaboración propia.

7.1.2 Puntos de control críticos (PCC)

Dado que el peligro por presencia de micotoxinas es significativo, a su vez se ha evaluado si el proceso en cuestión es fundamental e indispensable para la seguridad del producto final. La

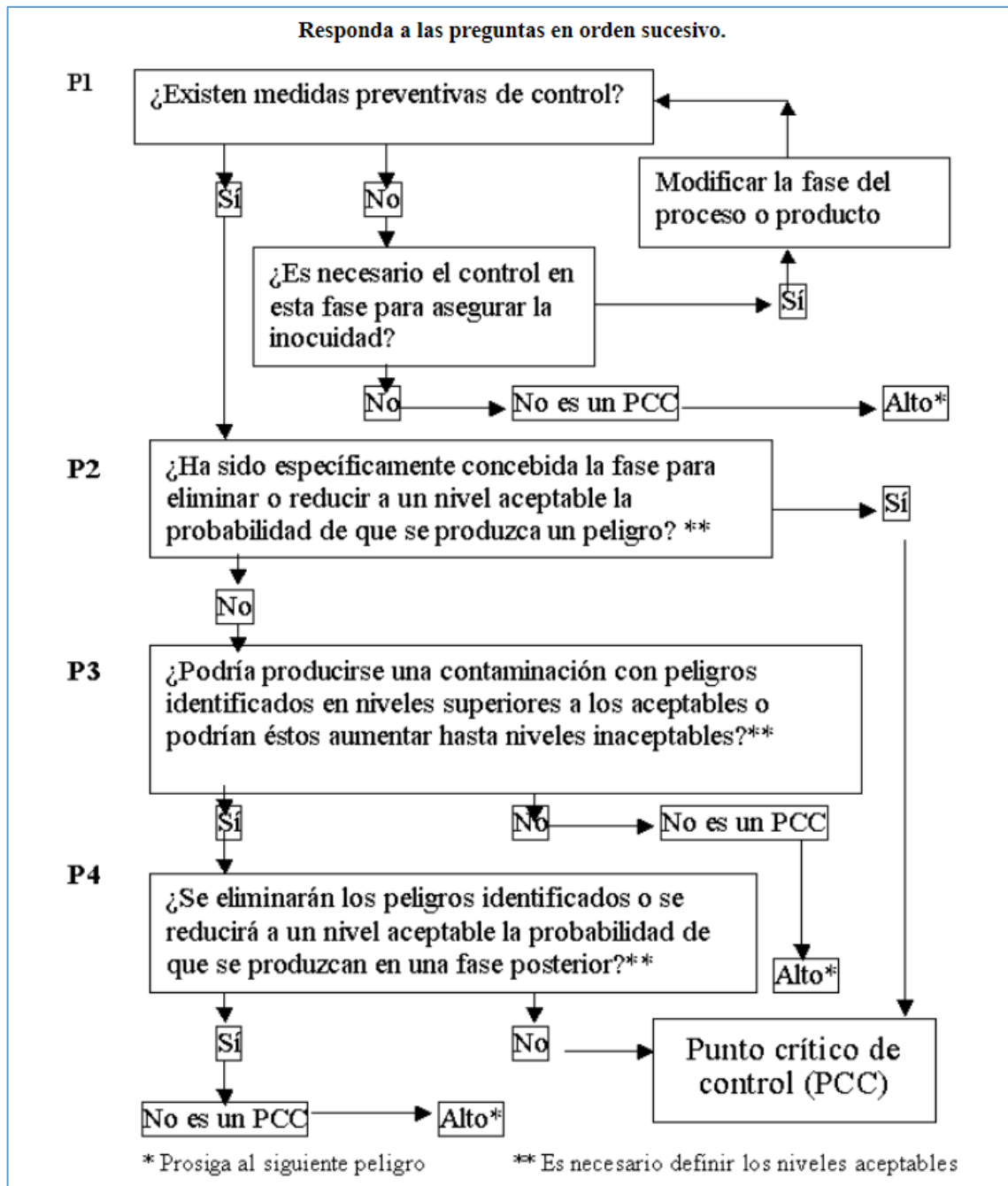
metodología propuesta por la guía facilitada por la Fundación General de la Universidad de Salamanca (S.f.) toma en consideración:

- «a) La necesidad de una medida de control específica.
- b) La posibilidad de vigilar y/o controlar el proceso.
- c) La validez de la medida de control para eliminar el riesgo o reducirlo a un nivel aceptable.
- d) La presencia de una etapa posterior que elimine el riesgo o lo reduzca a un nivel aceptable».

En el caso de que un peligro significativo requiera un control específico y no exista una etapa posterior en el proceso que pueda mitigarlo o eliminarlo, será considerado un punto crítico de control (PCC). Si no es un PCC, es suficiente con realizar un monitoreo menos exigente o una adecuada implementación del programa de requisitos previos.

Para determinar si dicho peligro en el proceso es un PCC se puede seguir el método del árbol de decisiones reflejado en la Figura 6, el cual a través de cuatro preguntas y mediante un enfoque racional, es posible determinar si una etapa o fase del proceso cumple o no los criterios de ser considerada un PCC, pero Akuipentsua, no ha empleado este método, sino que en función del nivel de riesgo que ha obtenido, comentando en el paso anterior, ha establecido los PCC y tomado o no medidas.

Figura 6. *Árbol de decisiones del Codex Alimentarius.*



Fuente: FAO, 2003.

Akuipentsua, por tanto, en los casos en los que el nivel de riesgo es trivial, ha considerado que no son requeridas medidas de control. Cuando se presenta un nivel de riesgo tolerable y moderado se deben implementar acciones sistemática o recurrentes. Por último, si el nivel de riesgo es importante o intolerable y no existen etapas posteriores que eliminen el peligro,

estamos antes un PCC, y por tanto son esenciales medidas de control específicamente diseñadas. En la Tabla 4 se recogen los PCC vinculados a la presencia de micotoxinas.

7.1.3 Límites críticos para los PCC

Un límite crítico establece el valor cuantificable de lo que es considerado aceptable y lo que no es considerado aceptable. Para cada PCC identificado, se han fijado los límites críticos teniendo en cuenta que éstos deben cumplir con todos los requerimientos legislativos y con los requisitos internos que ha establecido la central de Akuipentsua en Noruega.

En base a ello, en la Tabla 4 se recogen los límites establecidos para regular y prevenir la posible contaminación del pienso con micotoxinas. Estos límites críticos se fundamentan en parámetros como la humedad, la actividad de agua y la temperatura, los cuales aseguran un proceso de producción seguro.

7.1.4 Sistema de vigilancia para controlar los puntos críticos

Un sistema de vigilancia comprende una serie organizada de mediciones y observaciones, con el propósito de verificar si un PCC está o no bajo control. Los protocolos de monitoreo establecidos en Akuipentsua, como se muestra en la Tabla 4, tienen la capacidad de identificar de manera rápida cualquier pérdida de control de un PCC debido a desviaciones de sus límites críticos. En caso de que esto ocurra, se tomarán medidas inmediatas para corregir la situación lo más rápido posible, evitando así que un pienso acuícola potencialmente no inocuo pueda ser liberado. Un seguimiento adecuado propuesto por la guía facilitada por la Fundación General de la Universidad de Salamanca (S.f.) recoge los siguientes ítems:

- «> Elaborar un método de seguimiento (documentado)
- > Establecer la frecuencia de la vigilancia (deberá ser continua, de manera que permita mantener a cada PCC bajo control permanente)
- > Determinar el responsable que se encargará de llevar a cabo esta vigilancia (deberá tener formación específica y la autoridad suficiente para decidir y llevar a la práctica las acciones correctoras cuando sea necesario)

- Registrar las mediciones, observaciones y resultados de la vigilancia».

Los análisis de micotoxinas no pueden ser considerados como métodos de monitoreo del PCC, ya que los plazos requeridos para obtener los resultados son prolongados. En este caso, se utilizan kits rápidos ELISA (métodos semicuantitativos) puesto que tienen el potencial de ser apropiados para tales propósitos y pueden ser empleados de forma puntual como técnicas de detección preliminar o para disipar dudas o sospechas relacionadas con la aceptación o rechazo de un lote.

7.1.5 Determinación de las medidas o acciones correctoras

Las acciones correctoras son los procedimientos o cambios que deben introducirse, cuando se detectan desviaciones fuera de los límites críticos, para volver a los valores o rangos estipulados. Para controlar las desviaciones hay que:

- Identificar las desviaciones.
- Aislar el producto afectado y proceder a su evaluación.
- Elaborar un procedimiento para adoptar medidas correctoras.
- Registrar las desviaciones y las medidas correctoras.

Akuipentsua, tal y como queda de manifiesto en la Tabla 4, ha establecido una serie de medidas correctivas y procedimientos a seguir cuando los sistemas de monitoreo detectan una desviación o pérdida de control que podría resultar en la superación de los límites legales de contenido de micotoxinas en los productos, ya sea en materias primas o productos finales. A su vez, resulta pertinente añadir que Akuipentsua realiza una revisión del sistema una vez el PCC está nuevamente bajo control y establece distintas acciones para localizar, inmovilizar y retirar los productos no conformes a la normativa, cumpliendo así con lo establecido en el artículo 19 del Reglamento 178/2002.

Tabla 4. Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua

GESTIÓN DEL SISTEMA APPCC								
RECEPCIÓN DE MATERIAS PRIMAS								
PC C	PELIGRO	MEDIDA DE CONTROL	LÍMITE CRÍTICO	VIGILANCIA			MEDIDA CORRECTORA	REGISTRO
				MÉTODO	FREC	RPBLE		
4	Presencia de micotoxinas	Determinación presencia de aflatoxinas totales	20 ppb	Tiras rápidas cualitativas	1 análisis cada 200 Tn	Dpto Calidad	Rechazo del bagazo y reevaluación proveedor	Registro análisis laboratorio
		Humedad del bagazo	<75%	Secado y cálculo diferencia Pi y Pf				

Tabla 4. Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación I)

RECEPCIÓN DE MATERIAS PRIMAS								
PC C	PELIGRO	MEDIDA DE CONTROL	LÍMITE CRÍTICO	MÉTODO	FREC	RPBLE	MEDIDA CORRECTORA	REGISTRO
4	Presencia de micotoxinas	Actividad del agua del bagazo	< 0,70	Medidor Aqualab CX-2				
		Temperatura	<15°C	Sonda temperatura				
		pH	6	pH metro				
REVALORIZACIÓN DEL BAGAZO DE CERVEZA								
6	Presencia de micotoxinas	Humedad del bagazo	<10%	Secado y cálculo diferencia Pi y Pf	1 análisis en cada proceso de revalorizac.	Dpto Calidad	Aumento tiempo secado térmico "flash"	Registro revalorización

Tabla 4. Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación II)

REVALORIZACIÓN DEL BAGAZO DE CERVEZA								
PC C	PELIGRO	MEDIDA DE CONTROL	LÍMITE CRÍTICO	MÉTODO	FREC	RPBLE	MEDIDA CORRECTORA	REGISTRO
6	Presencia de micotoxinas	Aw del bagazo	< 0,85	Medidor Aqualab CX-2				
		Temperatura	<15°C	Sonda Tª				
		pH	6	pH metro				
		Comprobación ausencia de micotoxinas	222 µg/kg 1 µg/kg	ELISA para fumonisinas HPLC para aflatoxinas				

Tabla 4. Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación III)

ALMACENAMIENTO								
PC C	PELIGRO	MEDIDA DE CONTROL	LÍMITE CRÍTICO	MÉTODO	FREC	RPBLE	MEDIDA CORRECTORA	REGISTRO
10	Presencia de hongos filamentosos en el interior de los silos	Adición de fungicida en el silo del bagazo	Ausencia de fungicida	Control del fungicida (técnica de preservación en el almacén, fecha de caducidad)	Control mensual de stock. Control de lo incorporado en cada almacenamiento	Dpto Producción Dpto Calidad	Comprobación y ajuste de dosificación	Registro aprovisionamiento fungicidas Registro dosificación fungicida

Tabla 4. Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación IV)

EXTRUSIONADO								
PC C	PELIGRO	MEDIDA DE CONTROL	LÍMITE CRÍTICO	MÉTODO	FREC	RPBLE	MEDIDA CORRECTORA	REGISTRO
14	Presencia de micotoxinas	Seguimiento de la humedad en pellets extrusionados	Humedad máxima 10%	Secado y cálculo diferencia Pi y Pf	1 análisis cada 500 Tn	Dpto Calidad	Regranulación del pienso Aumento T ^a extrusionado	Registros de granulación
SECADO Y ENFRIAMIENTO								
17	Presencia de micotoxinas	Secado y enfriamiento adecuado Plan de limpieza de los equipos	Diferencia de T ^a <10°C Hongos 1000UFC/g	Sonda de T ^a Test rápido control de calidad	1 análisis cada 500 Tn	Dpto Calidad Dpto Producción	Aumento T ^a secado Mayor tiempo de enfriamiento	Registro de análisis de producto terminado

Tabla 4. Gestión del sistema APPCC de Akuipentsua (continuación V)

ALMACENAMIENTO FINAL								
PC C	PELIGRO	MEDIDA DE CONTROL	LÍMITE CRÍTICO	MÉTODO	FREC	RPBLE	MEDIDA CORRECTORA	REGISTRO
21	Desarrollo de hongos por inadecuado almacenamiento	L&D y monitoreo de la humedad	Hongos 1000UFC/g	Test rápido control de calidad	Mensual	Dpto Producción	Tratamiento antiplagas Recolocación de los sacos	Registro producto no conforme Registro de sustancias no deseables Registros de control de L&D/mantenimient Registro de contaminación cruzada

Fuente: Elaboración propia.

7.1.6 Procesos de verificación del plan de APPCC

Para determinar si el sistema de APPCC funciona eficazmente, Akuipentsua utiliza métodos, procedimientos y ensayos de comprobación y verificación, con una frecuencia suficiente para confirmar que el sistema de APPCC está funcionando eficazmente (Tabla 4). El objetivo de esta verificación es:

- Confirmar que los PCC están controlados.
- Corroborar que los límites críticos se basan en buenos principios científicos y que satisfacen los requisitos reglamentarios.
- Revisar las desviaciones y las acciones correctoras de los procedimientos y sus registros.
- Comprobar la precisión del equipo de vigilancia de los PCC.

Como parte del proceso de verificación, Akuipentsua lleva a cabo análisis de los contenidos de micotoxinas, los cuales serán comentados en el apartado 7.2, junto con auditorías del plan APPCC y de su documentación, revisiones de las desviaciones y acciones correctoras, y sondeos de productos puestos a la venta.

7.1.7 Gestión de registros

Todos los documentos, datos y registros generados como resultado de la evaluación de los riesgos relacionados con la presencia de micotoxinas en los piensos acuícolas, las medidas preventivas implementadas, los procedimientos operativos establecidos, los registros de las actividades de monitoreo de los PCC, los protocolos de muestreo, las descripciones de las acciones correctivas, etc., se integrarán de forma ordenada y eficaz dentro del sistema documentado del plan APPCC de Akuipentsua, evidenciando la idoneidad de este.

En general, este sistema como recoge la guía facilitada por la Fundación General de la Universidad de Salamanca (S.f.) reúne dos tipos de documentos:

«> Documentos de apoyo: son todos aquellos documentos y formularios producidos durante la preparación del plan:

- Descripción y uso esperado del producto
- Diagrama/s de flujo

- Análisis de peligros y determinación de las medidas preventivas
- Identificación de PCC y sus límites críticos
- Desviaciones previsibles y sus medidas correctoras
- Posibilidad de ajustes del proceso
- Actividades y procedimientos de comprobación planificados
- Documentos de aplicación: son aquellos registros generados durante la aplicación del plan:
 - Registros de vigilancia de cada PCC
 - Registros de desviaciones y medidas correctoras
 - Registro de verificaciones/validaciones
 - Documentos de métodos y procedimientos aplicados
 - Registros de los programas de formación del personal».

7.2. Métodos de muestreo y análisis de micotoxinas

Todas las micotoxinas tienden a presentarse de una forma muy heterogénea en las materias primas donde pueden estar presentes (AFHSE, 2015). Esta heterogeneidad se debe a las diferencias en el clima y la presencia de diferentes especies y cepas de hongos que muestran variabilidad en sus capacidades de producción de micotoxinas (Levic et al., 2013), por ello, Akuipentsua tras la revalorización del bagazo tiene elaborado un protocolo con el fin de obtener muestras de forma que la recolectada para el análisis sea representativa del lote y se manipula correctamente para que la humedad no supere el 20%. Además, los métodos de análisis que se emplean son muy sensibles y fiables ya que las micotoxinas son altamente tóxicas incluso en concentraciones mínimas.

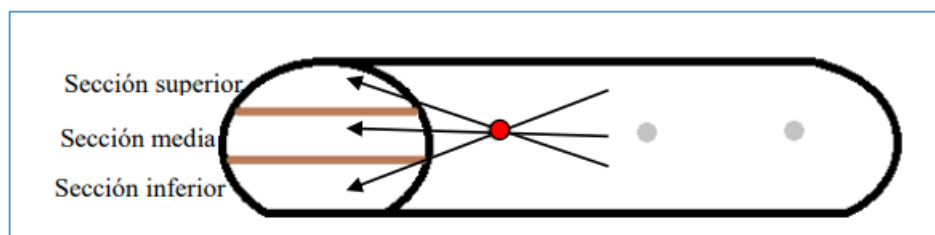
7.2.1 Planes de muestreo y preparación de muestras

Los controles oficiales de micotoxinas se realizan siguiendo las directrices de las disposiciones generales del Reglamento (CE) nº 882/2004 y la toma de muestras para controlar el contenido de micotoxinas en los productos alimenticios (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación,

2021), así como la frecuencia de muestreo según el Reglamento 401/2006 sobre Métodos de análisis.

En Akuipentsua la toma de muestra se basa en los criterios reflejados en la norma EN ISO 24333:2009 y en la norma del Codex Alimentarius CODEX STAN 193-1995, de manera que se introduce un cilindro calador en el interior del silo donde se ha almacenado el bagazo revalorizado, cogiendo muestra a tres alturas distintas y a ambos lados (Figura 7) hasta obtener una muestra homogénea de 1 kilo aproximadamente que se introduce en una bolsa de papel la cual se almacena refrigerada durante el tiempo que dura la determinación de la humedad, la actividad hídrica, la temperatura y el pH. Luego se almacenan a -20°C para su posterior determinación de micotoxinas.

Figura 7. Esquema de muestreo en el silo del bagazo revalorizado



Fuente: Elaboración propia.

7.2.2 Métodos de análisis para determinación de micotoxinas

La detección de micotoxinas en los piensos continúa siendo un desafío debido a diversos factores, tales como la variabilidad de las diferentes muestras de alimentos, las diversas estructuras químicas de las micotoxinas y los niveles de detección extremadamente bajos requeridos (Tolosa, 2017). Los progresos en la detección de micotoxinas se fundamentan en el surgimiento de métodos más ágiles que permiten la identificación simultánea de múltiples analitos. Estos métodos son ambientalmente respetuosos, económicamente viables y adecuados para lograr los objetivos planteados en la determinación de micotoxinas en alimentos, piensos, tejidos y fluidos biológicos (De Saeger et al., 2016).

La normativa europea no prescribe un método de análisis específico para la cuantificación de micotoxinas, lo cual permite la utilización de cualquier método que cumpla con criterios

generales, asegurando de esta manera niveles comparables de eficacia (Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, 2016).

La mayoría de los métodos de análisis se componen de las etapas de muestreo, comentadas en el punto anterior. Pereira et al. (2014) indica «la homogenización, la extracción seguida de un paso de purificación de la muestra para reducir o eliminar componentes de la matriz no deseados, y finalmente, las etapas de separación y detección, realizadas por lo general mediante una técnica cromatográfica en combinación con varios detectores, aunque también son realizados mediante métodos basados en reacciones antígeno-anticuerpo».

Akuipentsua utiliza un método de análisis que cumple con criterios de exactitud, precisión, repetitividad y reproducibilidad, selectividad y sensibilidad entre otras características para determinar el contenido en micotoxinas.

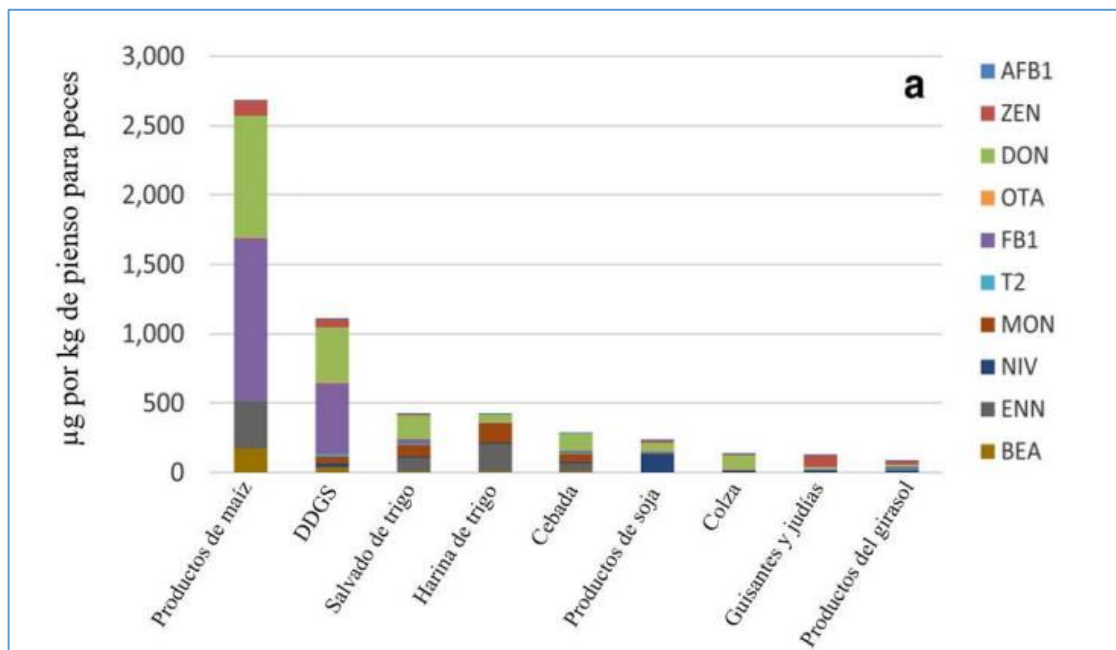
Según el tipo de micotoxina, el análisis de determinación realizado varía (Mionetto, 2017):

- ❖ Las fumonisinas se determinan mediante inmunoensayo enzimático competitivo (ELISA competitivo) utilizando el kit comercial Ridascreen[®] Fast Fumonins que tiene un límite de detección de 222 µg/kg. Del contenido de muestra almacenado en la bolsa de papel tras el análisis de los parámetros físicos, se toman 25 gramos y se mezclan con 125 ml de metanol al 70%. Se licuan a alta velocidad durante 2 minutos y se filtran con el filtro nº 1 de Whatman[®]. Este filtrado se diluye con agua destilada en una proporción 1:14 y se siembre en pocillos de tiras para ELISA 50 µl de cada uno de los extractos diluidos y 50 µl de cada uno de los estándares de concentraciones de fumonisinas de 0 µg/kg, 222 µg/kg, 666 µg/kg, 2000 µg/kg y 6000 µg/kg. A continuación, se añade a cada pocillo 50 µl del conjugado enzima-fumonisina y 50 µl del anticuerpo anti-fumonisina y se incuba a Tª ambientes 10 minutos. Transcurrido el tiempo, se descarta el contenido de los pocillos y se realizan 3 lavados con agua destilada y se añade a cada pocillo 100 µl de sustrato/cromógeno y se incuba a Tª ambiente 5 minutos, pero en condiciones de oscuridad. Para detener la reacción, tras estos 5 minutos se añaden 100 µl de H₂SO₄ 1 N a cada pocillo y se mide la absorbancia a 450nm con un espectrofotómetro de placas.
- ❖ Las aflatoxinas se determinan mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) cuyo límite de detección es de 1 µg/kg, partiendo también de 25 gramos del contenido de la muestra inicial. Esta cantidad junto con 100ml de acetonitrilo: agua

(84:16 v/v) se introduce en una licuadora de alta velocidad 3 minutos y la mezcla se filtra, en este caso, con el filtro nº 4 de Whatman[®]. Se toma una alícuota de 5 ml y se pasa a través de una columna de limpieza MycoSep[®] 224 para obtener un extracto purificado del que se toman 2 ml que se secan y se resuspenden en 400 µl de agua: metanol: acetonitrilo (4:1:1 v/v). a Su vez, de esta suspensión se toman 200 µl y se mezclan con 700 µl de ácido trifluoroacético: ácido acético: agua (20:10:70 v/v) y se analiza por HPLC de fase reversa.

Los bajos niveles de detección exigidos para poder detectar la presencia de micotoxinas se evidenció con la revisión que realizó Pietsch en el 2020. Examinó y revisó 116 investigaciones científicas que recopilaban informes sobre la contaminación de alimentos y piensos por micotoxinas en diversas regiones de Europa y comprobó que el contenido de micotoxinas provenientes de piensos para peces que contenían entre sus materias primas cebada se encontraba por debajo del límite de 500 µg/kg de alimento acuícola (Figura 8).

Figura 8. Estimación del nivel de micotoxinas en µg por kg de alimento acuícola basada en datos recopilados de la literatura.



Fuente: Pietsch, 2020.

7.3. Propuesta de aplicación de un método para el control de micotoxinas mediante el empleo de Inteligencia Artificial.

La Inteligencia Artificial (IA, o AI en inglés) es la capacidad que tiene un dispositivo para realizar tareas que generalmente requieren inteligencia humana. La biología predictiva es una de las principales aplicaciones de la inteligencia artificial y del Big Data en seguridad alimentaria, mediante la cual se puede utilizar un conjunto de datos para establecer modelos de crecimiento microbiano en matrices alimentarias, en función de diferentes parámetros como son el pH, la humedad y la temperatura. Estos modelos pueden ayudar a las empresas a diagnosticar problemas en la cadena de producción, como deficiencias de calidad o contaminación por determinados contaminantes.

El aprendizaje automático es otra de las aplicaciones de la inteligencia artificial que permite que los sistemas informáticos aprendan directamente de ejemplos, datos y experiencia (Mandalian et al., 2022). En este sentido, ya se han realizado varios estudios para predecir la presencia de una o más micotoxinas en cereales como el trigo o el maíz, utilizando el aprendizaje automático a partir de datos meteorológicos, datos de fenología de cultivos y, en algunos casos, también datos agronómicos. En estos estudios se ha demostrado que las variables climáticas, como la humedad relativa, la temperatura y las precipitaciones, afectan a la presencia de micotoxinas del género *Fusarium* en el trigo (Wang et al., 2022) o la aparición de aflatoxinas y fumonisinas en el maíz (Camardo et al., 2021).

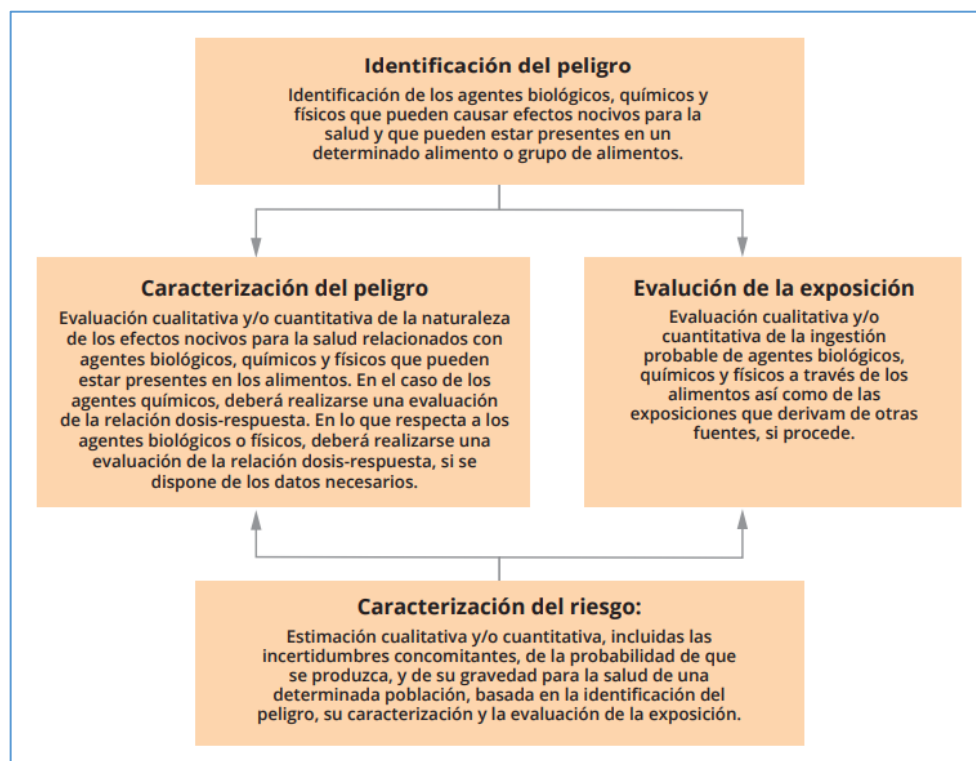
Como se ha visto en el apartado anterior, los métodos de análisis rápidos disponibles para detectar la presencia de micotoxinas en el bagazo de cerveza actualmente son engorrosos e implican pasos manuales complejos que pueden dar lugar a un riesgo de error humano, por lo que se está trabajando en métodos que combinan el ensayo inmunológico con sofisticados softwares de inteligencia artificial. De esta manera, se seleccionan células individuales de micotoxinas y se les asigna un marcador fluorescente para hacerlas pasar por un tubo capilar para su recuento mediante técnicas de citometría de flujo establecidas. La inteligencia artificial por tanto se está definiendo como una alternativa para mejorar el rendimiento de los piensos y evitar que las micotoxinas puedan transmitirse a lo largo de la cadena alimentaria, al poder ser analizadas y controladas desde el inicio de la cadena.

7.4. Evaluación del riesgo del consumo de pescados procedentes de la acuicultura contaminados con micotoxinas

La política de seguridad alimentaria de Akuipentsua basada en el análisis de riesgo exige la realización de una evaluación de riesgos, además de la gestión y comunicación de estos, para demostrar la seguridad alimentaria del nuevo pienso acuícola y por tanto poderlo comercializar.

En 1995, la OMS y la FAO proporcionaron como definición de la evaluación de riesgos «la evaluación científica de los efectos perjudiciales, conocidos o potenciales, resultantes de la exposición humana a los riesgos derivados de los alimentos». Según la definición establecida por la Comisión del Codex Alimentarius, la valoración de riesgos solicitada por Akuipentsua al Comité Científico de la AESAN debe constar de cuatro etapas (Figura 9) que son la identificación del peligro, la caracterización del peligro, la evaluación a la exposición y la caracterización del riesgo.

Figura 9. *Etapas de la evaluación de riesgos de ingesta de micotoxinas con el pescado de acuicultura*



Fuente: Organización Panamericana de la Salud, 2021.

El informe de evaluación del riesgo alimentario que el Comité Científico de la AESAN debe emitir para autorizar la comercialización de un nuevo pienso acuícola requiere de una serie de datos tal y como se evidencia en la infografía disponible en la web de AESAN:

- Datos de composición de los alimentos. - Al combinar información sobre la composición de los alimentos y los datos de consumo, y al comparar las cantidades de nutrientes ingeridos con las recomendaciones nutricionales de referencia, es posible realizar estimaciones sobre la presencia de desnutrición en la población. Los datos de composición de alimentos se pueden obtener de tablas de composición como las que figuran en la base de datos española BEDCA o las de la red europea EURO-FIR.
- Datos de consumo de los alimentos. – La AESAN cuenta con la base de datos ENALIA, mientras que, a nivel de la Unión Europea, la EFSA recopila la información de las encuestas nacionales.
- Datos de presencia de contaminantes u otras sustancias indeseables en los alimentos. - Al comparar la exposición a sustancias contaminantes con los valores de referencia toxicológicos, o al evaluar la presencia de microorganismos patógenos, se puede estimar el riesgo asociado a diferentes alimentos. Los datos sobre la presencia de contaminantes y la identificación de microorganismos pueden obtenerse tanto de programas de control oficial de alimentos como de las propias empresas del sector alimentario.

El informe de evaluación del riesgo del consumo de pescados procedentes de la acuicultura contaminados con micotoxinas como consecuencia de introducir el bagazo de cerveza en el pienso acuícola no está disponible ni en la página web de la AESAN ni en la Revista de su Comité Científico por lo que a continuación se muestra un ejemplo de la evaluación que dicho Comité podría haber realizado, empleando la información de diversas publicaciones científicas.

7.4.1 Identificación del peligro

En esta etapa se deben describir las características de las micotoxinas que pueden estar presentes en el pescado procedente de acuicultura teniendo en cuenta lo reflejado en la Tabla 5.

Tabla 5. *Información necesaria en la identificación del peligro*

INFORMACIÓN QUE SE DEBE INCLUIR EN LA IDENTIFICACIÓN DEL PELIGRO
<ul style="list-style-type: none">▪ Características del microorganismo: esto incluye aspectos relacionados con la fisiología, propiedades fenotípicas y genéticas del patógeno, así como los serotipos circulantes, las condiciones de supervivencia, crecimiento y "muerte" del mismo.
<ul style="list-style-type: none">▪ Situación actual del patógeno en el país: se considera la existencia de programas de control y vigilancia que aborden específicamente este patógeno.
<ul style="list-style-type: none">▪ Estudios de prevalencia del patógeno en el alimento: se toman en cuenta investigaciones realizadas a nivel nacional o internacional para determinar la frecuencia de presencia del patógeno en los alimentos.
<ul style="list-style-type: none">▪ Impacto del patógeno en la salud pública: se evalúa el efecto del patógeno en la salud pública a nivel local, regional e internacional, teniendo en cuenta los casos de enfermedades transmitidas por los alimentos y el agua (ETA), así como los brotes que se han registrado

Fuente: Elaboración propia a partir de la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos llevada a cabo por la OPS.

Se hace necesario tener un análisis amplio de determinación analítica de micotoxinas en pescados provenientes de la acuicultura adquiridos en distintos establecimientos del territorio nacional durante un determinado tiempo, pero en su ausencia se puede hacer uso de la información encontrada en la literatura científica.

7.4.2 Caracterización del peligro

En esta etapa hay que describir la naturaleza, la gravedad y la duración de los impactos negativos en la salud (enfermedad o condición) resultantes de la ingesta de las micotoxinas contenidas en el pescado de acuicultura teniendo en cuenta la información que se recoge en la Tabla 6.

Tabla 6. Información necesaria en la caracterización del peligro

INFORMACIÓN QUE SE DEBE INCLUIR EN LA CARACTERIZACIÓN DEL PELIGRO
<ul style="list-style-type: none">▪ Factores influyentes en la capacidad de causar la enfermedad en el huésped (mecanismos de infectividad, patogenicidad, virulencia).
<ul style="list-style-type: none">▪ Características de la enfermedad (período de incubación, síntomas).
<ul style="list-style-type: none">▪ Gravedad de la enfermedad (morbilidad, mortalidad, secuelas y síndromes, años de vida ajustados por discapacidad (DALY)).
<ul style="list-style-type: none">▪ Respuestas del agente a factores ambientales que pueden afectar la capacidad de causar infección y enfermedad (alteraciones de temperatura, humedad, pH).
<ul style="list-style-type: none">▪ Grupos susceptibles a infección (grupos específicos, segmentos de la población, población en general).
<ul style="list-style-type: none">▪ Factores como edad, genética, estado inmunológico y nutricional que pueden influir en la susceptibilidad a la infección (edad, embarazo, condiciones de salud y nutrición, uso de medicamentos, infecciones concurrentes, exposiciones previas).
<ul style="list-style-type: none">▪ Mecanismos de infección y vías de entrada

Fuente: Elaboración propia a partir de la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos llevada a cabo por la OPS.

Es imprescindible para caracterizar el peligro conocer la ingesta anual de pescado por persona en kilogramos, los niveles de micotoxinas presentes en la carne de pescado, los límites legales establecidos en España para las micotoxinas en la carne de pescado y el nivel mínimo de micotoxina que se ha observado que causa daños en una población expuesta (LOAEL).

El dato del consumo de pescado por habitante en España varía según la fuente consultada. Según el informe del 2021 de EUMOFA este consumo anualmente es de 46 kg por español, pero el informe oficial del 2021 del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación estima que este consumo es de 12 kg/persona/año. Esta diferencia, también se da con la cantidad recomendada de consumo anual por persona según las pautas de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición que es de 23 kilogramos (3-4 raciones por semana; 1 ración = 150 gramos). Empleando el dato aportado por la AESAN y tomando como referencia el porcentaje de consumo de pescado proveniente de la acuicultura publicado en el último informe de APROMAR, podemos estimar que el promedio de consumo anual de pescado de acuicultura que potencialmente puede estar contaminado con toxinas fúngicas es de 4,6 kilogramos por persona al año.

Para determinar la cantidad de micotoxinas presentes en la carne del pescado de acuicultura, se ha recurrido a los escasos estudios realizados, sobre todo en los últimos años. En estos estudios se refleja que las cosechas de cebada, y por ende los piensos cuya composición contiene este cereal están cada vez más contaminados. Se pensaba que la aflatoxina era la micotoxina mayoritaria presente en los piensos para peces (Barbosa et al., 2019)) pero los resultados de la encuesta mundial anual sobre micotoxinas publicada por Biomin en 2020 mostró que las micotoxinas de *Fusarium* eran las más prevalentes: el deoxinivalenol (DON) aparecía en el 65% de las muestras, la fumonisina (FUM) en el 64% y la zearalenona (ZEN) en el 48% de las muestras. Además, por lo general, la probabilidad de coexistencia de micotoxinas en los piensos es alta, lo que provoca efectos sinérgicos o aditivos de las micotoxinas, pero dichos efectos están escasamente estudiados.

Con respecto a los límites máximos legales establecidos en España para la presencia de micotoxinas en la carne de pescado procedente de las granjas acuícolas, hay que indicar que aunque en el Reglamento (CE) 2023/915 se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios, no se establecen los niveles máximos de micotoxinas en carne de pescado destinada al consumo humano, por lo que para poder

realizar la evaluación del riesgo, se han utilizado los datos sobre concentración media y máxima de micotoxinas por kilogramo de pienso publicados en el 2018 por Gonçaves y colaboradores que se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Valores de micotoxinas encontrados en piensos compuestos acuícolas

MICOTOXINA	CANTIDAD PROMEDIO (µg/kg)	CANTIDAD MÁXIMA (µg/kg)
Aflatoxina	0,5	221
Zearalenona	118	306
Deoxinivalenol	165	413
Fumonisina	3400	7534
Ocratoxina	1,5	5

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos publicados en el 2018 por Gonçaves y colaboradores.

Por último, hay que comentar que tampoco hay prácticamente estudios donde se analicen los niveles de micotoxinas a partir de los cuales comienzan a aparecer efectos tóxicos. El-Sayed y Khalil en el 2009 publicaron que la presencia de 18 mg/kg de la aflatoxina B1 en el pienso de las lubinas durante períodos prolongados facilitó la detección de residuos de esta toxina en los músculos del pescado con valores cercanos a los 5 µg/kg (con un factor de transformación aproximado de $2,5 \times 10^{-4}$). Además, se observaron síntomas evidentes de enfermedad en los animales sometidos al ensayo. Pocos años después, Tolosa et al., (2014) publicaron que este valor ascendía a 30 µg/kg cuando se trataba de micotoxinas emergentes *de Fusarium*.

7.4.3 Evaluación de la exposición

En esta etapa se realiza un análisis cualitativo y/o cuantitativo de la ingesta probable de las micotoxinas contenidas en el pescado de acuicultura con el objetivo de evaluar la probabilidad y la intensidad (cantidad ingerida) de la exposición al peligro en el momento de consumo. Para

ello, hay que recabar información para dar respuesta a las preguntas que se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Información necesaria en la evaluación de la exposición

INFORMACIÓN QUE SE DEBE INCLUIR EN LA EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Cuál sería la cantidad estimada (en unidades formadoras de colonias) que cada persona de la población probablemente ingeriría?
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Cuántas porciones estarán potencialmente contaminadas?
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Cuál es el impacto de las medidas de control en la prevalencia y/o concentración del patógeno?
<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Cuál medida resulta más efectiva en reducir la exposición?

Fuente: Elaboración propia a partir de la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos llevada a cabo por la OPS.

Teniendo en cuenta lo mencionado en el punto anterior, no existe información suficiente para realizar una evaluación del riesgo debido a micotoxinas ingeridas por consumo en España de carne de pescado de acuicultura. A su vez, hay que tener en cuenta que no solo podemos ingerir estas sustancias tóxicas a través de este alimento, sino que también podemos sufrir una contaminación por micotoxinas a través de la ingesta de cereales, leche, zumos, etc

7.4.4 Caracterización del riesgo

En esta etapa se puede estimar el riesgo individual por ejemplo mediante la posibilidad de padecer una enfermedad después de consumir una sola porción, o el riesgo para una población si tenemos en cuenta por ejemplo la incidencia anual de casos de enfermedad. La Tabla 9 muestra las diferentes formas de estimar el riesgo.

Tabla 9. Formas de expresar el riesgo en la evaluación

FORMAS DE CARACTERIZAR EL RIESGO		
TIPO DE ESTIMACIÓN	RIESGO	UNIDADES
Individual	Probabilidad de enfermar por el consumo de una porción contaminada	0-1
Individual	DALY/caso	Años
Poblacional	Número total de casos de infección, hospitalización, muerte por año o 100.000 habitantes	Nº casos
Poblacional	DALY total	Años
Poblacional	Número de casos reportados al sistema oficial de salud	Nº casos

Fuente: Elaboración propia a partir de la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos llevada a cabo por la OPS.

Con todas las limitaciones ya comentadas, para realizar una caracterización del riesgo, se podrían emplear los datos de valores de ingesta diaria tolerables (TDI) y los datos de la mayor concentración o cantidad de una sustancia en la que no se producen efectos adversos detectables en una población expuesta (NOAEL). La evidencia toxicológica de las micotoxinas y de sus formas derivadas es muy limitada. El Panel CONTAM de EFSA ha establecido diversos valores de TDI para algunas de estas toxinas sobre todo en cereales y en productos a base de cereales (Tabla 10). La transferencia de micotoxinas desde los piensos que hayan empleado fuentes vegetales de proteínas a la carne del pescado es extremadamente pequeña por lo que se puede concluir que no se superan las estimaciones de la cantidad de micotoxinas ingeridas diariamente a través del consumo de pescado procedente de granjas acuícolas y por ende que el riesgo estimado es muy bajo o prácticamente inexistente.

Tabla 10. *Ingesta diaria tolerable para las micotoxinas según el panel CONTAM*

MICOTOXINA	INGESTA DIARIA TOLERABLE (µg/pc/día)
Fumonisinias B1, B2, B3 y B4 solas o en combinación.	1
DON	1
Ocratoxina A	1,7 x 10 ⁴
Zearalenona y sus formas modificadas	0,25
Patulina	0,4

Fuente: Elaboración propia a partir de los datos publicados por ELIKA (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria).

7.5. Discusión

Los peces de acuicultura requieren alrededor de 35% de proteína para satisfacer totalmente sus requerimientos nutricionales por lo que, para cumplir con este requisito, el principal ingrediente que compone el pienso es la harina de pescado debido a su alto valor nutricional y palatabilidad. Sin embargo, las fluctuaciones en el suministro, precio y calidad de esta harina están generando que se identifiquen, desarrollen y utilicen otras fuentes de proteínas vegetales alternativas para elaborar los piensos empleados en la acuicultura. Se pretende que estos nuevos ingredientes además de ser sostenibles aporten el mayor porcentaje de proteínas posibles, para facilitar la formación de los tejidos musculares de los peces, esenciales para su buen crecimiento y desarrollo.

En este contexto, se han realizado varias investigaciones que parten de una idea de economía circular y de revalorización de los residuos procedentes de la producción cervecera para emplearlos como fuentes de proteínas vegetales alternativas para elaborar los piensos empleados en la acuicultura en el marco del proyecto europeo Life Brewery. En concreto, la empresa Akuipentsua se ha prestado a analizar si se garantiza la seguridad alimentaria si se revaloriza e introduce el bagazo de la cerveza como ingrediente para piensos de acuicultura.

En el presente trabajo se ha reflejado las etapas realizadas por esta empresa para cumplir con el Reglamento (CE) Nº 1831/2003 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 22 de octubre de 2003, fijando los requisitos en materia de higiene de los piensos y actualizando e implantando los procedimientos escritos basados en los principios del Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico, debido a la introducción de un nuevo peligro de contaminación por presencia de micotoxinas en esta materia prima, así como a lo largo de la cadena alimentaria.

Los piensos en los que se emplea como materia prima el bagazo de cerveza, debido a sus características inherentes, proporcionan un entorno propicio para el desarrollo de hongos, especialmente cuando las condiciones de temperatura y humedad son favorables (Labuda et al., 2003). Por ello, Akuipentsua ha tenido que establecer un adecuado proceso de revalorización del bagazo de cerveza para el empleo de este como materia prima del futuro pienso acuícola y estrictos controles para verificar que estos nuevos piensos destinados a la alimentación animal son sanos, saludables, con calidad comercial y seguros, no representando un peligro ni para la salud de los propios peces ni para la salud humana ni para el medio ambiente. Además, ha actualizado el prerrequisito de trazabilidad para asegurar que se puede seguir la pista de cualquiera de sus productos alimenticios, piensos o ingrediente de sus piensos en cualquier punto de la cadena alimentaria.

Como parte del análisis de la introducción del bagazo como nuevo ingrediente en la composición de los piensos fabricados por Akuipentsua, además de detectar los riesgos emergentes y adaptar las medidas de mitigación, se procedió a establecer un plan de muestreo y preparación de las muestras, a realizar un el procedimiento analítico para la determinación de micotoxinas y para poder finalmente evaluar los resultados y emitir un informe positivo sobre la viabilidad del nuevo pienso acuícola.

Asimismo, ante la ausencia de un informe de evaluación del riesgo del consumo de pescados procedentes de la acuicultura contaminados con micotoxinas como consecuencia de introducir el bagazo de cerveza en el pienso acuícola, se ha tratado de realizar dicha evaluación, empleando la información de diversas publicaciones científicas y se ha visto que el nivel de riesgo podría estimarse muy bajo o casi inexistente.

Por último, es importante reflejar la dificultad principal que se ha encontrado que no ha sido otra que la falta de información sobre la existencia de micotoxinas en los piensos utilizados en la industria acuícola y la transmisión de estas toxinas a lo largo de la cadena alimentaria

Seguridad alimentaria en la revalorización del bagazo de cerveza como ingrediente en alimentación acuícola en la empresa Akuipentsua comenzando por los peces alimentados con piensos contaminados y terminando por la falta de información y de alertas alimentarias por éstas en los consumidores finales.

8. Conclusiones

Las diferentes fuentes de información consultadas y el análisis del sistema de garantía de la inocuidad de los piensos que tiene implantado Akuipentsua confirman que:

Primera. – En Akuipentsua se ha realizado un exhaustivo reanálisis para detectar posibles nuevos riesgos y adaptar las medidas de control correspondientes garantizando la seguridad alimentaria tanto en el proceso de revalorización del bagazo de cerveza como en la introducción de este nuevo ingrediente en la fabricación de piensos para alimentación acuícola.

Segunda. – La optimización en la formulación de piensos para acuicultura y el reemplazo de la harina de pescado en estos por el bagazo de cerveza además de disminuir costes de producción en Akuipentsua ayuda a mejorar la sostenibilidad de los caladeros y mantiene la inocuidad de los piensos acuícolas garantizando la seguridad y la calidad de estos.

Tercera. – Las prácticas correctas de higiene y la aplicación de los principios del APPCC en Akuipentsua, elimina prácticamente el riesgo de introducir micotoxinas en las alimentaciones para acuicultura y por tanto obstaculiza la bioacumulación de micotoxinas a lo largo de la cadena alimentaria hasta los consumidores, previniendo la aparición de problemas de salud en el ser humano.

Cuarta. – La información que se debe incluir para caracterizar los peligros se ha mostrado de forma escueta debido a las características del presente TFM, limitado en tiempo y espacio, pero se hace necesario ampliar y desarrollar más en detalle su contenido.

Quinta. – Con la introducción de la Inteligencia Artificial se podrá conseguir evitar que las micotoxinas puedan transmitirse a lo largo de la cadena alimentaria, al poder ser analizadas y controladas desde el inicio de la cadena.

Sexta. – Sería recomendable realizar más proyectos de investigación con los que lograr una única técnica de análisis rápida y precisa para todas las micotoxinas de estos piensos ya que existe una gran heterogeneidad en las diferentes formulaciones de piensos de acuicultura y en las estructuras químicas de las micotoxinas y se exigen niveles de detección muy bajos.

Séptima. – Se destaca la escasa presencia de información científica sobre la detección de micotoxinas en los piensos utilizados en la acuicultura y la posterior transferencia de estas

toxinas a los peces que se alimentan con dichos piensos contaminados, la cual podría completar el Plan Nacional de Investigación de Residuos.

Octava. – A su vez, se considera imprescindible, la realización y publicación de un informe de evaluación del riesgo de consumo de pescados procedentes de la acuicultura contaminados con micotoxinas, como continuación al Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición sobre los efectos del cambio climático sobre la presencia de micotoxinas en los alimentos.

Décima. – Por último, se pone de manifiesto que existe una necesidad real de seguir estudiando y empleando nuevos componentes que constituyan los piensos para peces y de esta manera, lograr la total sustitución de la harina de pescado, generando piensos más rentables y respetuosos con el medio ambiente.

9. Referencias bibliográficas

- Ainsworth, Ibanoglu, S., Plunkett, A., Ibanoglu, E. y Stojceska, V. (2007). Effect of brewers spent grain addition and screw speed on the selected physical and nutritional properties of an extruded snack. *J. Food Eng.*, 81, 702–709.
- AFHSE- Asociación de fabricantes de harinas y sémolas de España. (2015). *Recomendaciones para la prevención, el control y la vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas*.
https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/publicaciones/textomicotoxinas18122015_completorev_nipo_tcm30-57870.pdf
- AFOEX- Asociación Nacional de Empresas para el Fomento de las Oleaginosas, su Extracción y su Refino. (2019, junio 20). *Guía APPCC para la producción de materia prima destinada a alimentación animal*. <https://afoex.es/media/attachments/2019/06/20/guia-appcc.pdf>
- Alario, A. (2018). *Implantación de un Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en una fábrica de piensos compuestos*. [Trabajo fin de grado, Universidad de Valladolid]. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/30896/TFG-I-877.pdf;jsessionid=5083A6D4F85A6CF73BEB9BA7901E3799?sequence=1>
- Aliyu, S., Bala, M. (2011). Brewer's spent grain: A review of its potentials and applications. *Afr. J. Biotechnol.*, 10, 324–331.
- Barbosa, T., Preryra, C., Soleiro, C., Días, E., Oliveria, A., Keller, K. (2013). Mycobiota and mycotoxins present in finished fish feeds from farms in the Rio de Janeiro State, Brazil. *International Aquatic Research*, 5, 3.
- Bendre, S., Shinde, K., Kale, N., Gilda, S. (2022). Artificial intelligence in food industry: A current panorama. *Asian Journal of Pharmacy and Technology*, 12(3), 242-250.
<http://dx.doi.org/10.52711/2231-5713.2022.00040>
- Bhat, R., Rai, R. V. & Karim, A. A. (2010). Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 57-81.
- Buffington, J., (2014). The economic potential of brewer's spent grain (BSG) as a biomass feedstock. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 4, 308–318.

- Camardo Leggieri, M., Mazzoni, M., Battilani, P. (2021). Machine learning for predicting mycotoxin occurrence in maize. *Frontiers in microbiology*, 12, 661132. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.661132>
- Campos, I., Matos, E., Aragão, C., Pintado, M., and Valente, L. M. P. (2018). Apparent digestibility coefficients of processed agro-food by-products in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, 24, 1274–1286.
- Cano, L. (2020). *Presencia actual de micotoxinas en la acuicultura mediterránea*. [Trabajo fin de grado, Universitat de Lleida]. <https://repositori.udl.cat/server/api/core/bitstreams/a15bab60-a641-4367-8845-56816bc9cfdb/content>
- Codex Alimentarius. (2007). *Principles and guidelines for the conduct of microbial risk management (MRM)*. (CAC/GL 63). http://www.fao.org/input/download/standards/10741/CXG_063e.pdf
- Cuellar, J.A. (2021). *Procesos en la fabricación de la harina de pescado*. Veterinaria digital. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/procesos-en-la-fabricacion-de-la-harina-de-pescado/>
- De Saeger, S., Audenaert, K., Croubels, S. (2016, mayo). *Informe sobre desafíos y Perspectivas (MYTOX)* [presentación en simposio]. V Simposio Internacional sobre Micotoxinas y Mohos Toxigénicos, Ghent, Bélgica.
- Den Hartog, J. (2016). *Inocuidad de los Piensos en la Acuicultura*. International Aquafeed. <https://aquafeed.co/entrada/inocuidad-de-los-pensos-en-la-acuicultura-20016/>
- Directiva 2003/100/CE de la Comisión, de 31 de octubre de 2003, por la que se modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre sustancias indeseables en la alimentación animal. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 285, de 1 de noviembre de 2003, 33 a 37. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:285:0033:0037:ES:PDF>
- El-Sayed, Y.S., Khalil, R.H., Saad, T.T. (2009). Acute toxicity of ochratoxin-A in marine water-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Chemosphere*, 75, 878-882

- Estévez, A., Padrell, L., Iñarra, B., Orive, M., San Martín, D. (2021). Brewery by-products (yeast and spent grain) as protein sources in gilthead seabream (*Sparus aurata*) feeds. *Aquaculture*, 543, ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736921>.
- Faccenda, A., Zamboni, M. A., Castagnara, D. D., Avila, A. S., Fernandes, T., Eckstein, E. I., et al. (2017). Use of dried brewers' grains instead of soybean meal to feed lactating cows. *Rev. Bras. Zootecnia*, 46, 39–46.
- FAO e IFIP. (2014). *Buenas prácticas para la industria de piensos – Implementación del Código de Prácticas Sobre Buena Alimentación Animal. Manual FAO de producción y sanidad animal*. No 9. Roma. https://images.engormix.com/externalFiles/6_FAO-BPM-alimentos.pdf
- FAO. Organización para las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura. (2015). *Pérdidas y desperdicios de alimentos en América Latina y el Caribe*. (Boletín; 2).
- FAO/OMS. (1995). *Informe de la Consulta Mixta FAO/OMS de Expertos sobre la aplicación del análisis de riesgos a cuestiones de normas alimentarias*.
- FAO. (2003). *Manual Sobre la Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Prevención y Control de las Micotoxinas*. <https://www.fao.org/3/Y1390S/y1390s00.htm#Contents>
- Farcas, A., Tofana, M., Socaci, S., Mudura, E., Scrob, S., Salanță, L. y Mureșan, V. (2014). Brewers' spent grain – A new potential ingredient for functional foods. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 20(2), 137-141.
- Farcas, A., Socaci, S., Mudura, E., Dulf, F.V., Vodnar, D.C., Tofana, M., et al. (2017). *Exploitation of brewing industry wastes to produce functional ingredients in Brewing technology*. Ed.M. Kanauchi.
- Fillaudeau, L., Blanpain-Avet, P., Daufin, G. (2006). Water, wastewater and waste management in brewing industries. *Journal of Cleaner Production*, 14, 463-471.
- Fundación General de la Universidad de Salamanca. (S.f.). *Recopilación de guías y documentos de ayuda*. <http://coli.usal.es/web/Guias/autocontrol.html>

- García-Ortega, A., Muy-Rangel, D., Puello-Cruz, A., Villa-López, Y., Escalante-Rojas, M., Preciado-Iñiguez, K. (2010). Uso de ingredientes de origen vegetal como fuentes de proteína y lípidos en alimentos balanceados para peces marinos carnívoros. *Avances en Nutrición Acuícola*.
<https://nutricionacuicola.uanl.mx/index.php/acu/article/view/112>
- Gimeno, A., Martins, M.L. (2011). Introducción en micotoxinas y micotoxicosis en animales y humanos. *Special Nutrients, INC*, 13-16.
- Gonçaves, R.A., Naehrer, K., Santos, G.A. (2018). Occurrence of mycotoxins in commercial aquafeeds in Asia and Europe: a real risk to aquaculture? *Reviews in Aquaculture*, 10, 263-280. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/raq.12159>
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., van Otterdijk, R., Meybeck, A. (2012). *Pérdidas y Desperdicio de Alimentos en el Mundo—Alcance, Causas y Prevención* [presentación en congreso]. Congreso de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), Roma, Italia.
- HLPE-FSN. (2014). *Las Pérdidas y el Desperdicio de Alimentos en el Contexto de Sistemas Alimentarios Sostenibles; Un informe del Grupo de Alto Nivel de Expertos en Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial*, Roma, Italia.
- Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., Wu, G. (2017). Protein hydrolysates in animal nutrition: industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8, 24.
- Jayant, M., Hassan, M. A., Srivastava, P. P., Meena, D. K., Kumar, P., Kumar, A., et al. (2018). Brewer's spent grains (BSGs) as feedstuff for striped catfish, *Pangasianodon hypophthalmus* fingerlings: An approach to transform waste into wealth. *Journal of Cleaner Production*, 199, 716–722.
- Jurado J., Sorensen H. (2012). Towards zero waste in beer production – new trends for brewery solutions. 32nd Asia Pacific Section Conversion.
- Kanauchi, O., Mitsuyama, K., Araki, Y. (2001). Development of a functional germinated barley foodstuff from brewers' spent grain for the treatment of ulcerative colitis. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 59, 59–62.

- Khosravi, A.R., Dakhili, M., Shokri, H. (2008). A mycological survey on feed ingredients and mixed animal feeds in Ghom Province, Iran. *Pakistan Journal Nutrition*, 7, 31-34.
- Ktenioudaki, A., Chaurin, V., Reis, S.F. y Gallagher, E. (2012). Brewer's spent grain as a functional ingredient for breadsticks. *Int. J. Food Sci. Tech.*, 47, 1765–1771.
- Labuda, R., Tancinova, D., Hudec, K. (2003). Identification and enumeration of *Fusarium* species in poultry feed mixtures from Slovakia. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 10, 61-66.
- Levic, J., Djuragic, O., Sredanovic, S. (2010). Use of new feed from brewery by-products for breeding layers. *Romanian biotechnology*, 15, 5559–5565.
- Levic, J., Gotic-dondo, S., Ivanovic, D., Stankovic, S., Krnjaja, V., Bocarovstancic, A., Stepanic, A. (2013). An outbreak of aspergillus species in response to environmental conditions in Serbia. *Pestic phytomed*, 28(3), 167–179.
- Lynch, K.M., Steffen, E.J. y Arendt, E.K. (2016). Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*, 122, 553–568.
- MacArthur, E. (2017). *From linear to circular accelerating a proven concept* [presentación en congreso]. World Economic Forum, Ginebra, Suiza. <http://reports.weforum.org/toward-the-circular-economy-accelerating-the-scale-up-across-global-supply-chains/from-linear-to-circular-accelerating-a-proven-concept/>
- Mandalian, T., Pasca, A., Toma, L., Agop, M., Toma, B., Vasilescu, A.M, Lupascu-Ursulescu, C. (2022). Statistical Analysis and Machine Learning Used in the Case of Two Behavioral Tests Applied in Zebrafish Exposed to Mycotoxins. *Applied Sciences*, 12(6):2908. <https://doi.org/10.3390/app12062908>
- Martinez, L., He, L. (2020). Detection of mycotoxins in food using surface-enhanced Raman spectroscopy: A review. *ACS Applied Bio Materials*, 4(1), 295-310. <https://doi.org/10.1021/acsabm.0c01349>
- Martins, H. M., Marques, M., Almeida, I., Guerra, M. M., Bernardo, F. (2008). Mycotoxins in feedstuffs in Portugal: an overview. *Mycotoxin Research* 24, 19-23.

- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2021). *Informe del consume de alimentación en España 2021*. https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-tendencias/informe-consumo-alimentario-2021-baja-res_tcm30-624017.pdf
- Mionetto, A.C. (2017). *Hongos toxicogénicos y producción de micotoxinas en silos de sorgo húmedo*. [Trabajo fin de máster, Universidad de la República Montevideo]. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/10220/1/uy24-18501.pdf>
- Mussatto, S.I., et al. (2006). Brewers' spent grain: Generation. Characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, 43(1), 1-14.
- Mussatto, S. I. (2009). Biotechnological potential of brewing industry by-Products. *Biotechnology for agroindustrial residues utilization*. Berlín: Springer, 313-326.
- Muzinic, L. A., Thompson, K. R., Morris, A., Webster, C. D., Rouse, D. B., and Manomaitis, L. (2004). Partial and total replacement of fish meal with soybean meal and brewers' grains with yeast in practical diets for Australian red claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Aquaculture*, 230, 359–376.
- Nazzaro, J., San Martin, D., Perez-Vendrell, A.M., Padrell, L., Iñarra, B., Orive, M., Estévez, A. (2021). Apparent digestibility coefficients of brewer's by-products used in feeds for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 530, ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735796>.
- Nigam, P.S. (2017). An overview: Recycling of solid barley waste generated as a by-product in distillery and brewery. *Waste Management*, 62, 255–261.
- OIE. Organización Mundial de Sanidad Animal (2022). *Código sanitario para los animales acuáticos*. <https://www.woah.org/es/que-hacemos/normas/codigos-y-manuales/acceso-en-linea-al-codigo-acuatico/>
- OPS. Organización Panamericana de la Salud (2021). *Evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos. Guía para implementación en los países*. https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/53292/9789275323250_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Orden APM/189/2018, de 20 de febrero, por la que se determina cuando los residuos de producción procedentes de la industria agroalimentaria destinados a alimentación animal, son subproductos con arreglo a la Ley 22/2011, de 28 de julio, de residuos y suelos contaminados. *Boletín Oficial del Estado*, núm. 51, de 27 de febrero de 2018, 23050 a 23054. <https://www.boe.es/eli/es/o/2018/02/20/apm189>

Pereira, V. L., Fernandes, J. O., Cunha, S. C. (2014). Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis. *Trends in Food Science and Technology*, 36, 96-136.

Peters, R., Rodríguez, S., Hernández, J., Mejías, D., León, A. (2004). Determinación del nivel óptimo de sustitución de la harina de pescado por harina de hidrolizado de plumas en el alimento para tilapia roja, *Oreochromis sp.* *Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences*, 12(1), 13-14. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/9205>

Pietsch, C. (2020). Risk assessment for mycotoxin contamination in fish feeds in Europe. *Mycotoxin Research*, 36, 41-62.

Rachwał, K., Waśko, A., Gustaw, K., & Polak-Berecka, M. (2020). Utilization of brewery wastes in food industry. *Peerj*, 8.

Real Decreto 2257/1994, de 25 de noviembre, por el que se aprueba los métodos oficiales de análisis de piensos o alimentos para animales y sus primeras materias. *Boletín Oficial del Estado*, núm. 52, de 2 de marzo de 1995, 7161 a 7237. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-1995-5541>

Real Decreto 465/2003, de 25 de abril, sobre las sustancias indeseables en la alimentación animal. *Boletín Oficial del Estado*, núm. 102, de 29 de abril de 2003, 16485 a 16493. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2003-8717>

Real Decreto 1002/2012, de 29 de junio, por el que se establecen medidas de aplicación de la normativa comunitaria en materia de comercialización y utilización de piensos y se modifica el Real Decreto 1409/2009, de 4 de septiembre, por el que se regula la elaboración, comercialización, uso y control de los piensos medicamentosos. *Boletín Oficial del Estado*, núm. 167, de 13 de julio de 2012, 50214 a 50237. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2012-9327>

Recomendación de la Comisión de 17 de agosto de 2006, sobre la presencia de deoxinivalenol, zearalenona, ocratoxina A, toxinas T-2 y HT-2 y fumonisinas en productos destinados a la alimentación animal. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 229, de 23 de agosto de 2006, 7 a 9. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:229:0007:0009:ES:PDF>

Reglamento (CE) núm. 315/1993 del Consejo, de 8 de febrero de 1993, por el que se establecen procedimientos comunitarios en relación con los contaminantes presentes en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 37, de 13 de febrero de 1993, 1 a 3. [https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-1993-80158#:~:text=\(CEE\)%20n%C3%BAm.-,315%2F93%20del%20Consejo%2C%20de%208%20de%20febrero%20de%201993,pre-sentes%20en%20los%20productos%20alimenticios.](https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-1993-80158#:~:text=(CEE)%20n%C3%BAm.-,315%2F93%20del%20Consejo%2C%20de%208%20de%20febrero%20de%201993,pre-sentes%20en%20los%20productos%20alimenticios.)

Reglamento (CE) núm. 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 31, de 1 de febrero de 2002, 1 a 24. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2002-80201>

Reglamento (CE) núm. 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, relativo a la higiene de los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 139, de 30 de abril de 2004, 1 a 54. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2004-81035>

Reglamento (CE) núm. 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 139, de 30 de abril de 2004, 1 a 54. <https://boe.es/doue/2004/139/L00055-00205.pdf>

Reglamento (CE) núm. 183/2005 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 12 de enero de 2005, por el que se fijan requisitos en materia de higiene de los piensos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 35, de 8 de febrero de 2005, 1 a 22. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2005-80251>

Reglamento (CE) núm. 1881/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 19 de diciembre de 2006, por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 364, de 20 de diciembre de 2006, 5 a 24. <https://www.boe.es/doue/2006/364/L00005-00024.pdf>

Reglamento (CE) núm. 401/2006 de la Comisión, de 23 de febrero de 2006, por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 70, de 9 de marzo de 2006, 12 a 34. <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2006-80439>

Reglamento (CE) núm. 767/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de julio de 2009 sobre la comercialización y la utilización de los piensos, por el que se modifica el Reglamento (CE) num 1831/2003 y se derogan las Directivas 79/373/CEE del Consejo, 80/511/CEE de la Comisión, 82/471/CEE del Consejo, 83/228/CEE del Consejo, 93/74/CEE del Consejo, 93/113/CE del Consejo y 96/25/CE del Consejo y la Decisión 2004/217/CE de la Comisión. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 229, de 1 de septiembre de 2009, 1 a 28. <https://www.boe.es/doue/2009/229/L00001-00028.pdf>

Reglamento (CE) núm. 68/2013 de la Comisión, de 16 de enero de 2013 relativo al Catálogo de materias primas para piensos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 29, de 30 de enero de 2013, 1 a 64. <https://www.boe.es/doue/2013/029/L00001-00064.pdf>

Reglamento (UE) 2017/625 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de marzo de 2017, relativo a los controles y otras actividades oficiales realizados para garantizar la aplicación de la legislación sobre alimentos y piensos, y de las normas sobre salud y bienestar de los animales, sanidad vegetal y productos fitosanitarios. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 95 de 7 de abril de 2017, 1 a 142. <https://www.boe.es/doue/2017/095/L00001-00142.pdf>

Reglamento (UE) 2023/915 de la Comisión, de 25 de abril de 2023 relativo a los límites máximos de determinados contaminantes en los alimentos y por el que se deroga el Reglamento (CE) 1881/2006. *Diario Oficial de la Unión Europea*, núm. 119 de 5 de mayo de 2023, 103 a 157. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R0915>

- Robertson, J., I'anson, K., Treimo, J., Faulds, C., Brocklehurst, T., Eijsink, V., Waldron, K. (2010). Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. *Iwt - food science and technology*, 43 (6), 890-896. ISSN 0023-6438. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.01.019>.
- RSA-CONICET. (2021). *Informe final: Recomendaciones para la inclusión del bagazo seco en el Código Alimentario Argentino*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <https://rsa.conicet.gov.ar/wp-content/uploads/2022/04/Informe-Final-CONAL-Magyp-Final-8b-publicar-AC.pdf>
- Sagar, V.R., Suresh Kumar, P. (2009). Recent advances in drying and dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 47, 15–26.
- San Martin, D., Orive, M., Iñarra, B. et al. (2020). Brewers' Spent Yeast and Grain Protein Hydrolysates as Second-Generation Feedstuff for Aquaculture Feed. *Waste Biomass Valor* 11, 5307–5320. <https://doi.org/10.1007/s12649-020-01145-8>
- Serrano, H.A., Cardona, N. (2015). Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos. *Revista CES Medicina* 29 (1), 143-152. <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v29n1/v29n1a12.pdf>
- Tang, Z., Cenkowski, S., Muir, W.E. (2004). Modelling the superheated steam drying of a fixed bed of brewer's spent grain. *Biosyst. Eng.* 87, 67–77.
- Thavasiappan, V., Visha, P., Nanjappan, K., Napoleon, R. E., Selvaraj, P., Doraisamy, K. A. (2016). Journal of Indian Veterinary Association. *Indian Veterinary Association- Kerala*, 14 (3), 61-64, ref.17.
- Thomas, K., Rahman, P. (2006). Brewery wastes. Strategies for sustainability. A review. *Aspects of applied biology*, 80.
- Tolosa, J., Font, G., Man, J., Ferrer, E. (2014). Natural Occurrence of Emerging Fusarium Mycotoxins in Feed and Fish from Aquaculture. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 12462-12470.
- Tolosa, J. (2017). *Evaluación de la presencia de micotoxinas en alimentos y piensos y su mitigación culinaria*. [Tesis doctoral internacional, Universitat de Valencia]. <https://roderic.uv.es/handle/10550/59194>

- Wang, X., Liu, C., Van der Fels-Klerx, H. J. (2022). Regional prediction of multi-mycotoxin contamination of wheat in Europe using machine learning. *Food Research International*, 159, 111588. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111588>
- Zhai, W., You, T., Ouyang, X., Wang, M. (2021). Recent progress in mycotoxins detection based on surface-enhanced Raman spectroscopy. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1887-1909. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12686>
- Zhou, M., Liang, R., Mo, J., Yang, S., Gu, N., Wu, Z., Babu, S., Li, J., Huang, Y., Lin, L. (2018) Effects of brewer's yeast hydrolysate on the growth performance and the intestinal bacterial diversity of largemouth bass (*micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 484, 139-144. ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.11.006>.

10. ANEXOS

Anexo A. Listado de abreviaturas

AESAN	Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
AECOSAN	Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición
AFOEX	Asociación Nacional de empresas para el Fomento de las Oleaginosas, su Extracción y Refino
APPCC	Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico
APROMAR	Asociación Empresarial de Acuicultura de España
Aw	Actividad de agua
BSG	Bagazo de cerveza
CONTAM	Comisión Técnica de Contaminantes de la Cadena Alimentaria
DALY	Años de vida ajustados por discapacidad
EEB	Encefalopatía Espongiforme Bovina
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria
ELISA	Inmunoensayo enzimático
ENALIA	Encuesta Nacional de Alimentación en la población Infantil y Adolescente
ETA	Enfermedad transmitida por los alimentos y el agua
EUMOFA	Observatorio Europeo del Mercado de los Productos de la Pesca y de la Acuicultura
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FREC	Frecuencia
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
IA	Inteligencia Artificial
L&D	Limpieza y desinfección
LOAEL	Nivel mínimo de una sustancia causa daños en una población expuesta

NASA	Administración Nacional de Aeronáutica y el Espacio
NBVT	Nitrógeno Básico Volátil Total
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
PCB	Policlorobifenilos
PCC	Puntos Críticos de Control
RASFF	Sistema de Alerta Rápida para Alimentos y Piensos
RPBLE	Responsable
SCIRI	Coordinado de Intercambio Rápido de Información
TFM	Trabajo Fin de Máster
UFC	Unidades formadoras de colinas