

# Ocurrencia de aflatoxinas en leche comercializada en el estado de Aguascalientes

*Arturo Gerardo Valdivia Flores<sup>1</sup>*

*Barenca Torres Parga*

*Erika Janet Rangel Muñoz*

*Teódulo Quezada Tristán*

*Raúl Ortiz Martínez*

*María Carolina de Luna López*

## Introducción

Las aflatoxinas (AF) son compuestos producidos por el metabolismo secundario de algunas especies de hongos *Aspergillus*. Las AF contaminan usualmente los productos agrícolas como, por ejemplo, los cereales, entre otros (Grubisha y Cotty, 2015). Se ha estimado que aproximadamente 4,500 millones de personas que viven en países en desarrollo están expuestas, de manera crónica, a estas toxinas en cantidades no controladas (Williams *et al.*, 2004). Las AF, además de ser muy tóxicas son cancerígenas; la dosis crítica que significativamente origina cáncer en

---

1 Departamento de Ciencias Veterinarias, Centro de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma de Aguascalientes, Av. Universidad 940, Cd Universitaria, Aguascalientes, 20131, México. Correo electrónico: avaldiv@correo.uaa.mx. ORCID <http://orcid.org/0000-0002-9354-0588>. Autor para correspondencia.

25% de los animales experimentales (valor de T-25) se estima en 50 ng/kg/d de AFB<sub>1</sub>.

Además, el consumo crónico de alimentos contaminados con aflatoxina afecta tanto a las respuestas inmunes celulares como a las humorales, lo que resulta en una disminución de la resistencia del huésped a las infecciones. Las aflatoxinas son responsables de la malabsorción de nutrientes, lo que conduce a deficiencias nutricionales, desnutrición y crecimiento disminuido (Bbosa *et al.*, 2013). En Estados Unidos se han estimado pérdidas económicas anuales de aproximadamente 500 millones de dólares debidas a la contaminación de productos agrícolas con AF (Cleveland, Dowd, Desjardins, Bhatnagar y Cotty, 2003; Grubisha y Cotty, 2015).

Las AF son un grupo de compuestos policétidos naturales que en su estructura presentan un doble anillo de furano unido al núcleo de cumarina. Éstas también son compuestos de bajo peso molecular, altamente solubles en lípidos y son fácilmente absorbidos en el intestino y distribuidos por el torrente sanguíneo en todo el cuerpo. El sistema hepático de oxidasas de función mixta biotransforma las AF y genera diversos metabolitos de aflatoxina, especialmente epóxidos reactivos. Estas moléculas intermedias se inactivan por conjugación con glutatión reducido. La reacción es catalizada por un grupo de enzimas denominado glutatión-S-transferasas para formar una molécula que se excreta en orina y bilis como ácido mercaptúrico unido a las AF. Aproximadamente 90% de la aflatoxina se elimina a través de la bilis y la secreción renal (EFSA, 2004).

Las formas hidroxiladas de las AF (AFM<sub>1</sub> y AFM<sub>2</sub>) son excretados en la leche de vacas lactantes que son alimentadas con dietas contaminadas con las AF; se ha estimado que de 1 a 6% de la aflatoxina ingerida se elimina en la leche como AFM<sub>1</sub>, mientras que AFM<sub>2</sub> tiene una participación marginal (Unusan, 2006). Las formas hidroxiladas son menos tóxicas que los compuestos originarios, pero entran a la cadena alimenticia con mucha facilidad, ya que no son destruidas o desnaturalizadas por la pasteurización ni por otros procesos agroindustriales. Por esas razones en diversos países, como en México, se han establecido límites máximos permisibles (LMP: 50.0 ng/L).

El objetivo de este estudio fue evaluar la existencia de la contaminación por aflatoxina M<sub>1</sub> en la leche de bovino comercializada para el consumo humano en el estado de Aguascalientes.

## Desarrollo del trabajo

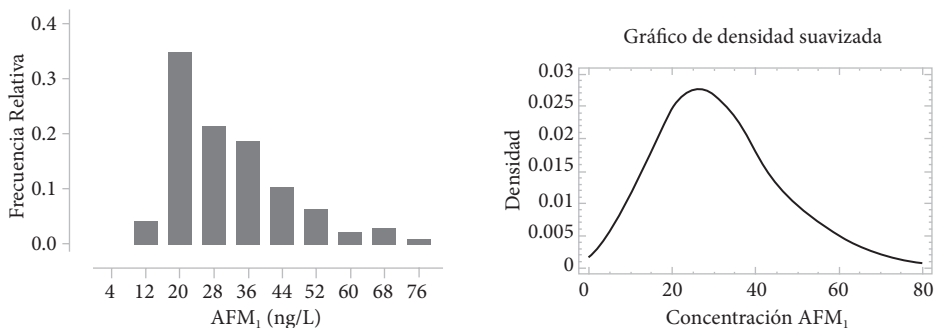
### Metodología

Se realizó un muestreo de leche de vaca comercializada en Aguascalientes en el periodo 2018-2019 mediante la técnica no experimental transaccional, conformando un marco de muestreo integrado por un listado de tiendas departamentales, las cuales fueron visitadas de forma sistemática hasta obtener al menos un duplicado de cada marca de leche expendida como pasteurizada o ultrapasteurizada. Se obtuvieron 340 muestras, correspondientes a 27 tipos de leche provenientes de nueve estados de la república mexicana. Las muestras se transportaron en refrigeración y se conservaron en congelación ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) hasta su procesamiento por duplicado ( $<7$  d) mediante la prueba de ELISA indirecta (RIDASCREEN AFM<sub>1</sub>, R1121, R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania; límite de detección de 0.005 - 0.08  $\mu\text{g/L}$ ). La absorbancia se realizó con un lector de microplacas (Biotek 450nm; ELx800, BioTek, EUA) y se comparó contra una curva de calibración construida en HPLC con concentraciones conocidas de AFM<sub>1</sub> purificada (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA).

### Resultados

Se detectó la presencia de AFM<sub>1</sub> en la totalidad de las 340 muestras de leche comercializada en la ciudad de Aguascalientes (Figura 1). Se estimó una concentración media de AFM<sub>1</sub> de 31.3 (ng/L) con intervalos de confianza de 95.0% para la media de 29.9 a 32.6 y una desviación estándar de 13.0 (ng/L). El 10.3% de las muestras rebasaron el límite máximo permisible (50.0 ng/L).

Figura 1. Distribución de frecuencias de la concentración de aflatoxina  $M_1$  ( $AFM_1$ ) en 340 muestras de leche comercializada en la ciudad de Aguascalientes. Se muestra un histograma (izq.) señalando los puntos medios de la concentración de  $AFM_1$ , así como el gráfico de densidad suavizada (der.).



Se observó que la contaminación de la leche por  $AFM_1$  fue mayor en la pasteurizada, en comparación con la ultrapasteurizada, ya que la concentración fue mayor ( $P < 0.05$ ) y la proporción de muestras que rebasaron el LMP duplicó el porcentaje detectado (Cuadro 1). Entre la leche light y entera no hubo diferencias significativas; sin embargo, un tipo denominado “Mezcla” por el fabricante fue de pésima calidad, ya que duplicó la concentración media y multiplicó por diez veces la proporción de muestras que rebasaron el LMP. También se observó que la contaminación de la leche por  $AFM_1$  fue mayor en el periodo agosto-diciembre, en comparación con el periodo enero-junio, ya que la concentración fue mayor y la proporción de muestras que rebasaron el LMP triplicó el porcentaje detectado.

Se detectaron 27 marcas que concurrieron al mercado de la ciudad de Aguascalientes con diferentes tipos y presentaciones de leche lista para su consumo. Las plantas donde se procesaron y se envasaron las muestras de leche se ubican en 13 ciudades, localizadas en nueve estados de la república mexicana. Se observaron diferencias significativas entre los estados y en las proporciones de muestras rebasaron el límite máximo permisible (Cuadro 2).

Cuadro 1. Variación de la concentración de aflatoxina M<sub>1</sub> (AFM<sub>1</sub>) leche comercializada en la ciudad de Aguascalientes. Se incluye la proporción de muestras que rebasaron el límite máximo permisible (LMP; 50.0 ng/L) en cada tipo, forma de conservación y periodo de recolección.

Nivel	Casos	Media			Intervalo de confianza		>LMP	
		(ng/L)	Error Estándar	Valor de P	Límite Inferior	Límite Superior	(%)	X <sup>2</sup>
<b>Conservación</b>								
Pasteurizada	140	32.0	1.1	>0.05	30.4	33.5	14.3	<0.05
Ultrapasteurizada	200	30.8	0.9		29.5	32.0	7.0	
<b>Tipo</b>								
Entera	212	31.1	0.9	<0.01	29.9	32.3	9.4	<0.01
Light	126	31.0	1.1		29.4	32.6	9.5	
Mezcla	2	66.3	9.0		53.8	78.9	100	
<b>Periodo</b>								
Ene-Jun	198	27.8	0.9	<0.01	26.6	29.0	5.1	<0.01
Ago-Dic	142	36.1	1.0		34.6	37.5	16.9	

Valor de P = El valor-P de la prueba de Fisher menor que 0.05 muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de concentración AFM<sub>1</sub> entre los niveles de conservación, tipo y periodo, con un nivel de 95.0% de confianza.

X<sup>2</sup>= Valor P de la prueba corregida de Chi cuadrada para la proporción de muestras >LMP.

Cuadro 2. Variación de la concentración de aflatoxina  $M_1$  ( $AFM_1$ ) leche comercializada en la ciudad de Aguascalientes. Se incluye la proporción de muestras que rebasaron el límite máximo permisible (LMP; 50.0 ng/L) en cada procedencia.

Procedencia	Casos	Media		Intervalo de confianza		> LMP (%)
		(ng/L)	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior	
Aguascalientes	66	30.8 <sup>cd</sup>	1.5	28.6	32.9	9.1
Ciudad de México	8	41.8 <sup>a</sup>	4.4	35.6	47.9	25.0
Durango	82	31.5 <sup>bcd</sup>	1.4	29.6	33.4	12.2
Estado de México	32	36.2 <sup>ab</sup>	2.2	33.1	39.3	18.8
Guanajuato	36	25.6 <sup>e</sup>	2.1	22.7	28.5	0.0
Hidalgo	20	29.3 <sup>bcd</sup>	2.8	25.4	33.2	10.0
Jalisco	60	34.9 <sup>abc</sup>	1.6	32.7	37.2	10.0
Nuevo León	30	26.8 <sup>de</sup>	2.3	23.6	30.0	6.7
San Luis Potosí	6	18.1 <sup>e</sup>	5.1	10.9	25.2	0.0
Total	340	31.3	0.7	29.9	32.6	10.3

<sup>a-e</sup> = El valor-P de la prueba protegida de Fisher muestra que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de concentración  $AFM_1$  entre los estados de procedencia de la leche, con un nivel de 95.0% de confianza.

## Discusión

En el estudio se detectó  $AFM_1$  en la totalidad de las muestras de leche y una de cada diez rebasó el LMP, lo cual sugiere que, en general, el control de la calidad de los insumos alimenticios logra mantenerse dentro de los rangos deseables de inocuidad. La mayoría de las muestras de leche provinieron del Altiplano central mexicano, lo que le da una identidad biogeográfica a esta región y sugiere la existencia de un patrón de distribución de la biota terrestre,

entre la que se encuentran hongos toxicogénicos como el *Aspergillus flavus* (Domínguez y Ponce, 2009). Como resultado de dicha composición de la biota terrestre ocurre una contaminación por las AF que alcanza a llegar a la cadena alimenticia, incluso en un porcentaje muy inferior al que hubiera llegado si se consumen los productos agrícolas directamente (EFSA, 2004; Unusan, 2006).

La contaminación por hongos y sus aflatoxinas ocurre en los establos, así como en los sitios de cultivo agrícola donde se producen los granos empleados para fabricar los concentrados proteicos y energéticos. El ensilaje de maíz es el primer alimento de vacas lecheras y alcanza proporciones de 50-60% de la ración total mezclada con base en materia seca (Romo *et al.*, 2014). Sin embargo, el uso de los maíces híbridos se ha enfocado en mejorar el rendimiento, pero se ha descuidado la calidad del forraje, así como su resistencia a las enfermedades, como el ataque por *Aspergillus spp.* (de Luna *et al.*, 2013).

En el estudio se observó una presentación estacional de la contaminación por las AF cuantificando variaciones significativas ( $P < 0.05$ ) entre la concentración promedio de  $AFM_1$  en leche producida en los periodos invierno-primavera y verano-otoño (27.8 y 36.1). Esto coincide con otro estudio longitudinal (Valdivia *et al.*, 2016) en el que se obtuvieron muestras de ensilaje de maíz en granjas lecheras ubicadas en el Altiplano central mexicano. La concentración de aflatoxina tuvo una presentación bifásica, con valores medios significativamente más altos en dos etapas: la primera en los meses de mayo y junio y la segunda en septiembre. El análisis de modelos lineales generales mostró que el mejor modelo de predicción para la concentración de las AF (R cuadrado = 43%) fue el de la temperatura promedio diaria. Por lo anterior se puede sugerir que el ambiente influye de manera preponderante en la inocuidad de la cadena alimenticia, lo que se vuelve preocupante ante escenarios previsibles de calentamiento global.

Una docena de marcas de leche rebasó la media general de contaminación por las AF en ambos periodos de muestreo desarrollados, lo que muestra una persistencia de la contaminación y de la insuficiencia de las medidas de control. Además, la proporción de muestras que rebasaron el LMP se correlacionó directamente con la concentración media de la marca ( $P < 0.05$ ). Los resultados coinciden con otro estudio (Ortiz, Valdivia, Quezada, Martínez y De Luna, 2010) en que se evaluó la contaminación de la leche con  $AFM_1$  en nuestra región.

Igualmente, en el centro de México se ha mostrado que nueve de cada diez de las muestras de leche materna contenían AFM<sub>1</sub> (Cantú *et al.*, 2016). En este estudio se asoció la presencia de AFM<sub>1</sub> con el consumo de huevo, bebida de cola y aceite de girasol. En un estudio realizado (Castillo, Carvajal, Méndez, Meza y Gálvez, 2011) se encontró que las concentraciones de AFB<sub>1</sub> en muestras de maíz alcanzaron hasta 465 µg/kg, y de éstas, 59% estaba por encima de los límites legales mexicanos (20 µg/kg). Otros estudios también coinciden en la afirmación de que, en general, la alimentación animal se somete a un mejor control de calidad que prueba que los alimentos para los seres humanos, los que normalmente se expenden a granel y sin una marca que respalde la calidad y la seguridad de su empleo (Reyes *et al.*, 2009).

## Conclusiones

Los resultados anteriores sugieren que las raciones forrajeras de las vacas lecheras mexicanas se encuentran contaminadas con las AF en cantidades que mayoritariamente cumplen con la normatividad oficial, por lo que una proporción menor, pero importante, de la producción lechera rebasa los límites máximos permisibles de aflatoxinas. Una proporción de esta contaminación de forrajes y otros alimentos animales se está transfiriendo a la cadena alimenticia humana y pudiera estar teniendo un impacto negativo en la salud humana, en la salud y producción animal, así como en el equilibrio económico de la cadena insumo-producto de leche de vaca. Por lo anterior, parece necesario revisar las estrategias de la industria lechera para reducir la contaminación de los alimentos por las AF. Esto es relevante para la salud humana y animal pues tiene la finalidad de reducir el riesgo de exposición y daño.

## Referencias

Bbosa, G.S., Kitya, D., Lubega, A., Ogwal-Okeng, J., Anokbonggo, W.W. & Kye-gombe D.B. (2013). Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. M. Razzaghi-Abyaneh (ed.), *Aflatoxin. Recent advances and future prospect* (pp. 239-265). DOI:10.5772/2500



- Cantú, F., Aguilar J.E., De León, C.I., Esparza, J., Vallejo, B., González, A.F., García, H.S & Hernández, A. (2016). Occurrence and factors associated with the presence of aflatoxin M<sub>1</sub> in breast milk samples of nursing mothers in central Mexico. *Food Control*, 62, 16-22. DOI: 10.1016/j.foodcont.2015.10.004
- Castillo, P., Carvajal, M., Méndez, I., Meza, F. & Gálvez A. (2011). Survey of aflatoxins in maize tortillas from Mexico City. *Food Additives & Contaminants: Part B: Surveillance*, 4(1), 42-51. DOI: 10.1080/19393210.2010.533390
- Cleveland, T.M., Dowd, P.F., Desjardins, A.E., Bhatnagar, D. & Cotty, P.J. (2003). United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service research on pre-harvest prevention of mycotoxins and mycotoxigenic fungi in US crops. *Pest Management Science*, 59, 629-642. DOI: 10.1002/ps.724
- Domínguez, O. y Pérez, G. (2009). ¿La mesa central de México es una provincia biogeográfica? Análisis descriptivo basado en componentes bióticos dulceacuícolas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 80(3), 835-852. Recuperado de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-34532009000300025&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1870-34532009000300025&script=sci_arttext&tlng=pt)
- De Luna, M.C., Valdivia, A.G., Jaramillo, F., Reyes, J.L., Ortiz, R. & Quezada, T. (2013). Association between *Aspergillus flavus* colonization and aflatoxins production in immature grains of maize genotypes. *Journal of Food Science and Engineering*, 3(12), 688-698. Recuperado de <http://www.davidpublisher.org/Public/uploads/Contribute/567d0e9d19230.pdf>
- EFSA. (2004). Opinion of the Scientific Panel on contaminants in the food chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B<sub>1</sub> as undesirable substance in animal feed. *The EFSA Journal*, 39, 1-27 (Request N° EFSA-Q-2003-035). DOI: 10.2903/j.efsa.2004.39
- Grubisha, L.C. & Cotty, P.J. (2015). Genetic analysis of the *Aspergillus flavus* vegetative compatibility group to which a biological control agent that limits aflatoxin contamination in U.S. crops belongs. *Applied Environmental Microbiology*, 81(17), 5889-5899. DOI:10.1128/aem.00738-15
- Ortiz, R., Valdivia, A.G., Quezada, T., Martínez, A. & De Luna, M.C. (2010). Aflatoxin M<sub>1</sub> contamination in different types of milk: A risk for public health? *Toxicology Letters*, 196S, S37-S351. DOI:10.1016/j.toxlet.2010.03.362

- Reyes, W.P., Martínez, S.P., Espinosa, V.H.I., Nathal-Vera, M.A., De Lucas, E. & Rojo, F. (2009). Aflatoxinas totales en raciones de bovinos y AFM1 en leche cruda obtenida en establos del estado de Jalisco, México. *Técnica Pecuaria de México*, 47(2), 223-230. Recuperado de <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/1474/1469>
- Romo, C.E., Valdivia, A.G., Carranza, R.G., Cámara, J., Zavala, M.P., Flores, E. & Espinosa, J.A. (2014). Gaps in economic profitability among small-scale dairy farms in the Mexican Highland Plateau. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 5(3), 273-290. Recuperado de <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/3975/3314>
- Unusan, N. (2006). Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in UHT milk in Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 44(11), 1897-1900. DOI:10.1016/j.fct.2006.06.010
- Valdivia, A.G., Rangel, E.J., Miranda, C.A., Cruz, C.R., Quezada, T., Ortiz, R. & Medina, L.E. (2016). Aflatoxins control in milk and dairy feeds in the Mexican Highland Plateau. *The Toxicologist. Supplement to Toxicological Sciences*, 150(1), 299. Recuperado de <https://www.toxicology.org/pubs/docs/Tox/2016Tox.pdf>
- Williams, J.H., Phillips, T.H., Jolly, P.E., Stiles, J.K., Jolly, C.M. & Aggarwal, D. (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *American Society for Clinical Nutrition*, 80(5), 1106-1122. DOI: 10.1093/ajcn/80.5.1106