



CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

Tesis

**CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS EN RACIÓN TOTAL
MEZCLADA Y EN LECHE COMERCIALIZADA EN EL ESTADO DE
AGUASCALIENTES**

Presenta

MVZ BARENCA TORRES PARGA

Para obtener el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS VETERINARIAS

Comité de Asesores

Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores (Tutor)

Dr. Raúl Ortiz Martínez

Dr. Emmanuel Hernández Valdivia

Dra. María Carolina de Luna López

Dr. Carlos Cruz Vásquez

Aguascalientes, Ags., 10 de Junio del 2021

Dr. Raúl Ortiz Martínez
DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

PRESENTE

Por medio del presente como **Miembros del Comité Tutorial** designado del estudiante **BARENCA TORRES PARGA** con ID **266313** quien realizó la tesis titulada: **CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS EN RACIÓN TOTAL MEZCLADA Y EN LECHE COMERCIALIZADA EN EL ESTADO DE AGUASCALIENTES**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia damos nuestro consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que nos permitimos emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Ponemos lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, le enviamos un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a día 24 del mes de mayo del año. 2021



Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores
Tutor de tesis



Dr. Emmanuel Hernández Valdivia
Asesor de tesis



Dr. Raúl Ortiz Martínez
Asesor de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-16
Actualización: 00
Emisión: 17/05/19



DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aaaa: 24/05/2021

NOMBRE: Barenca Torres Parga ID: 266313

PROGRAMA: Maestría en Ciencias Agronómicas y Veterinarias LGAC (del posgrado): Producción y salud animal

TIPO DE TRABAJO: (X) Tesis () Trabajo Práctico

TÍTULO: CONTAMINACIÓN POR AFLATOXINAS EN RACIÓN TOTAL MEZCLADA Y EN LECHE COMERCIALIZADA EN EL ESTADO DE AGUASCALIENTES

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado): Generación de conocimiento sobre el panorama actual de contaminación por aflatoxinas en alimento para vacas lecheras y la contaminación por aflatoxina M1 en leche comercializada en el estado de Aguascalientes

Table with columns: INDICAR, SI, NO, N.A. (NO APLICA) SEGÚN CORRESPONDA. Rows include criteria like 'El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado' and 'Cumple con la ética para la investigación'.

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado: Sí X No

FIRMAS

Elaboró: * NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN: DR. ARTURO GERARDO VALDIVIA FLORES

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO: DR. ANTONIO DE JESÚS MERAZ JIMÉNEZ

Revisó: NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO: DR. ANTONIO DE JESÚS MERAZ JIMÉNEZ

Autorizó: NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO: DR. RAÚL ORTIZ MARTÍNEZ

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado. En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ... Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de sus alumnos.

RECONOCIMIENTOS

- ❖ Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT): Por la asignación de la beca para la realización de mis estudios de posgrado en Maestría en Ciencias Veterinarias.
- ❖ Al Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por la aceptación en el Programa de Maestría en Ciencias Veterinarias.
- ❖ Al proyecto: Ocurrencia de Aflatoxinas en Alimentos y Productos Pecuarios en el Estado de Aguascalientes (Con clave PIP-SA/19-1). Por el financiamiento de este proyecto.
- ❖ De manera especial reconozco y agradezco el apoyo y dedicación por parte de los integrantes de mi Comité Tutorial y asesor externo, (Centro de ciencias Agropecuarias de la UAA).
- ❖ A la Dra. Erika Janet Rangel Muñoz, por los consejos y apoyo brindado.
- ❖ De manera muy grata agradezco al Dr. Arturo Gerardo Valdivia Flores (Centro de ciencias Agropecuarias de la UAA). Quien fungió como mi tutor durante esta aventura, siempre brindado tiempo y atención hacia este trabajo; compartiendo su experiencia con palabras sabias y brindando motivación.

DEDICATORIA

A Dios

Por poner en mi caminar experiencias, pruebas y personas grandiosas, por guiarme en mi vida y bendecirme grandemente.

Con mucho cariño a mi mamá Irene

Quien me brinda apoyo incondicional, por siempre ser la persona con la que puedo contar, por darme todo su amor y ejemplo durante toda mi vida.

Con todo mi amor a mi esposo Emmanuel

Quien me apoyo durante esta aventura, por estar en los momentos más complicados y siempre poner una sonrisa en mi rostro.

De manera especial y con todo mi amor a mi hijo Adriel

Que aun sin conocerlo cambió mi vida, y me brindó la motivación para seguir adelante.

Con cariño a mis hermanos Martín, Eder, Marianda y a sus familias

Porque con ustedes comparto recuerdos, logros y aventuras que me acompañaran por toda mi vida.

ÍNDICE GENERAL

RECONOCIMIENTOS	2
DEDICATORIA	5
ÍNDICE GENERAL.....	1
ÍNDICE DE TABLAS	4
ÍNDICE DE FIGURAS	5
ACRÓNIMOS	6
RESUMEN.....	8
ABSTRACT	9
INTRODUCCIÓN	10
1. ESTRUCTURA DEL PROTOCOLO DE TESIS.....	12
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
2.1. ORIGEN, EVOLUCIÓN Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA.....	14
2.2. CONDICIONES QUE PERMITEN ABORDAR EL PROBLEMA.....	15
3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	16
4. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.....	18
5. OBJETIVOS.....	19
5.1. Objetivo general.....	19
5.1.1. Objetivos específicos	19
6. JUSTIFICACIÓN.....	20
7. MARCO TEÓRICO	21
7.1. PRODUCCIÓN LECHERA.....	21
7.1.1. Mundial	21
7.1.2. Nacional	22
7.1.3. Local	23
7.2. PRODUCCIÓN FORRAJERA.....	24
7.2.1. Mundial	24
7.2.2. Nacional	24
7.2.3. Local	26
7.2.4. Componentes de ración total mezclada	27
7.2.5 Destino de la producción.....	28
7.3. PRINCIPALES HONGOS MICOTOXIGENICOS	28
7.3.1. Aflatoxinas reportadas en alimento para consumo vacuno.....	30

7.4. AFLATOXINAS	31
7.4.1. Características fisicoquímicas de las aflatoxinas	31
7.4.2. Normatividad.....	32
7.4.3. Metabolismo de AFB ₁	32
7.4.4. Aflatoxina M ₁	35
7.4.5. Aflatoxina M ₁ reportada en diferentes continentes.....	36
7.4.6. Aflatoxina M ₁ reportada en diferentes tipos de leche	40
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	45
8.1. TIPO DE ESTUDIO.....	45
8.2. LUGAR DE ESTUDIO.....	45
8.1. CUANTIFICACIÓN DE AFLATOXINAS TOTALES EN RACIÓN TOTAL MEZCLADA	45
8.1.1. Muestreo en establos.....	45
8.1.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.	46
8.1.3. Cálculo del tamaño de muestra.....	46
8.1.4. Muestreo de ración total mezclada	47
8.1.5. Técnicas para la obtención de información sustantiva.....	48
8.2. CUANTIFICACIÓN DE AFM ₁ EN LECHE COMERCIALIZADA	48
8.2.1. Muestreo de leche.....	48
8.2.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.	49
8.2.3. Técnicas para la obtención de información sustantiva.....	49
8.3. VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN	50
8.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	50
8.5. PROGRAMACIÓN DE ACTIVIDADES	51
8.6. PROGRAMACIÓN DE ACTIVIDADES POR OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	52
8.7. FUENTES DE RECURSOS PARA EL DESARROLLO DEL PROYECTO.....	53
9. RESULTADOS AFM ₁	54
9.1. PRESENCIA DE AFM ₁ EN LECHE	54
9.1.1. Distribución probabilística de la contaminación de la leche por AFM ₁	54
9.1.2. Distribución geográfica de la concentración de AFM ₁	55
9.1.3. Concentración de AFM ₁ de acuerdo con el periodo de muestreo	56
9.1.4. Concentración de AFM ₁ de acuerdo a su conservación.....	58
9.1.5. Concentración de AFM ₁ y las marcas comerciales.	58
9.1.6. Concentración de AFM ₁ de acuerdo al contenido de grasa en la leche.	62
10. DISCUSIÓN AFM ₁	63
11. RESULTADOS AF EN RTM.....	65
11.1. PRESENCIA DE AF TOTALES EN RTM.....	65

11.1.1. Distribución probabilística de la contaminación de RTM por AF	65
11.1.2. Contaminación de la RTM de acuerdo con la marca comercial que adquiere la leche.....	66
11.1.3. Contaminación de la RTM de acuerdo al destino geográfico de la leche	66
11.1.4. Contaminación de la RTM de acuerdo a la procedencia de los insumos.....	67
11.1.5. Contaminación de la RTM de acuerdo al mes de recolección	69
11.1.6. Contaminación de la RTM de acuerdo con el destino de la producción lechera: queso y leche fluida (pasteurizada o ultra pasteurizada)	69
12. DISCUSIÓN AF EN RTM.....	71
13.CONCLUSIONES	73
14. ALCANCE POTENCIAL DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO.....	75
14.1. Objetivo específico 1	75
14.2. Objetivo específico 2	75
14.3. Objetivo específico 3.....	75
14.4. Objetivo específico 4	75
14.5. Objetivo específico 5.....	76
15. IMPACTO POTENCIAL DE LOS RESULTADOS	77
15.1. Impacto Científico	77
15.2. Impacto Tecnológico	77
15.3. Impacto Social.....	77
15.4. Impacto Económico.....	77
15.5. Impacto Ambiental	78
GLOSARIO	79
BIBLIOGRAFÍA	81
ANEXOS	94

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Producción Forrajera Nacional.....</i>	26
<i>Tabla 2. Micotoxinas Importantes al Nivel Mundial.</i>	29
<i>Tabla 3. Ocurrencia de Aflatoxinas en productos agrícolas en diferentes regiones</i>	30
<i>Tabla 4. Vías Metabólicas de AFB₁.....</i>	33
<i>Tabla 5. AFM₁ Reportada por diferentes autores en el continente africano.....</i>	35
<i>Tabla 6. AFM₁ reportada por diferentes autores en el continente americano</i>	36
<i>Tabla 7. AFM₁ reportada por diferentes autores en el continente asiático.....</i>	37
<i>Tabla 8. AFM₁ reportada por diferentes autores en el continente europeo</i>	39
<i>Tabla 9. AFM₁ Reportada por diferentes autores en leche cruda</i>	41
<i>Tabla 10. AFM₁ Reportada por diferentes autores en leche pasteurizada.....</i>	43
<i>Tabla 11. AFM₁ Reportada por diferentes autores en leche ultra pasteurizada..</i>	44
<i>Tabla 12. Programación de Actividades por Objetivos Específicos</i>	52
<i>Tabla 13. Concentración promedio de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada de acuerdo con su procedencia geográfica.....</i>	56
<i>Tabla 14. Concentración promedio de AFM₁ en leche de acuerdo con el periodo de muestreo.....</i>	57
<i>Tabla 15. Concentración promedio de AFM₁ en leche de acuerdo al tipo de conservación.....</i>	58
<i>Tabla 16. Concentración promedio de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada comercializada en el estado de Aguascalientes de acuerdo a las marcas que se recolectaron.....</i>	59
<i>Tabla 17. Concentración promedio de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada comercializada en el estado de Aguascalientes de acuerdo a los tipos de leche que se recolectaron (entera y ligera).</i>	62
<i>Tabla 18. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo al destino de la leche (marca) producida en los establos muestreados el estado de Aguascalientes.....</i>	66
<i>Tabla 19. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo al destino geográfico de la leche producida en los establos muestreados el estado de Aguascalientes.....</i>	67
<i>Tabla 20. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo a la procedencia geográfica de los insumos.....</i>	68
<i>Tabla 21. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo al mes de recolección.....</i>	69
<i>Tabla 22. Comparación de la concentración de aflatoxinas totales en la ración total mezclada de acuerdo con el destino de la producción lechera: queso y leche fluida (pasteurizada o ultra pasteurizada).....</i>	70

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Producción Mundial de Leche (Promedio 2015-2017). Elaboración propia con datos de FAOSTAT, 2019.</i>	21
<i>Figura 2. Producción nacional de leche. Elaboración propia con datos de INFOSIAP 2017</i>	23
<i>Figura 3 Producción láctea estatal por km². Elaboración propia con datos de INFOSIAP 2017</i>	24
<i>Figura 4. Producción Forrajera Estatal. Elaboración propia con datos de SIAP, 2004.</i>	27
<i>Figura 5. Características Químicas de las Aflatoxinas Naturales Producidas de Forma Natural. Tomado de Qazi y Fayyaz (2006).</i>	31
<i>Figura 6. Esquema del metabolismo completo de AFB₁ en humanos. Tomado de (Fernando et al., 2009).</i>	35
<i>Figura 7. Ubicación geográfica de los establos incluidos en el estudio (estado de Aguascalientes) Fuente: INEGI, 2019. NOTA: Los números señalan los municipios. (1) Aguascalientes (2) Asientos (3) Calvillo (4) Cosío (5) El Llano (6) Jesús María (7) Pabellón de Arteaga (8) Rincón de Romos (9) (10) San José de Gracia (11) Tepezalá.</i>	46
<i>Figura 8. Técnica de “M” Para Muestreros de Alimento (NOM-188-SSA1-2002).</i> 48	
<i>Figura 9. Diagrama de Gant con la programación de actividades generales del proyecto (Nota: cada “X” corresponde a un mes).</i>	51
<i>Figura 10. Distribución de la frecuencia de la concentración de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada que se comercializa en Aguascalientes.</i>	54
<i>Figura 11. Concentración de AFM₁ de los periodos de recolección de muestras. En el esquema se muestran las medianas como una línea vertical en el centro de la caja, mientras que cada uno de los bigotes representa un cuartil de la distribución de la concentración de la distribución de la concentración de la AFM₁.</i>	57
<i>Figura 12. Concentración de AFM₁ de las 27 marcas comercializadas en el estado de Ags. En el esquema se muestran las medianas como una línea vertical en el centro de la caja, mientras que cada uno de los bigotes representa un cuartil de la distribución de la concentración de la distribución de la concentración de la AFM₁.</i>	61
<i>Figura 13. Distribución de la frecuencia de la concentración de AF totales en RTM destinada para consumo de vacas lechera.</i>	65
<i>Figura 14. Interacción de los estados de acuerdo al origen de los insumos que conformaron las raciones totalmente mezcladas</i>	68
<i>Figura 15. Curva estándar para aflatoxinas totales cuantificadas con ELISA</i>	97
<i>Figura 16. Curva estándar para AFM₁ cuantificadas con ELISA</i>	101

ACRÓNIMOS

AFB₁	Aflatoxina B ₁	FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos
AFB₂	Aflatoxina B ₂	g	Gramos
AFBO	8,9-epóxido-AFB ₁	HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
AFG₁	Aflatoxina G ₁	GSH	Glutación reducido
AFG₂	Aflatoxina G ₂	IARC	Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer
AFM₁	Aflatoxina M ₁	kg	Kilogramo
AFM₂	Aflatoxina M ₂	L	Litro
ANDEVA	Análisis de varianza	mg	Miligramo
ARN	Ácido ribonucleico	mL	Mililitro
ADN	Ácido desoxirribonucleico	mm	Milímetro
CYP₄₅₀	Citocromo P ₄₅₀	NOM	Norma Oficial Mexicana
CHC	Carcinoma hepatocelular	SAS	Statistical Analysis System
dL	Decilitro	SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas	µg	Microgramo
et al.,	Y colaboradores	µL	Microlitro

FAO	Food and Agriculture Organization
------------	---



RESUMEN

Las micotoxinas (AF) son originadas principalmente por cepas toxigénicas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* que toxicológicamente se consideran toxinas potentes. La aflatoxina B₁ es considerada la más importante por su mayor potencial y actividad carcinogénica, teratogénica y mutagénica, si se consume la AFB₁ se produce un metabolito que se excreta en la leche, la aflatoxina M₁ (AFM₁). Ambas con potencial carcinogénico. Las AF contaminan los alimentos por contaminación directa o indirecta. El objetivo del estudio es evaluar la contaminación por AF totales en la ración total mezclada destinada para consumo de vacas lecheras y AFM₁ en leche comercializada para consumo humano en el Estado de Aguascalientes. Se recolectaron 99 muestras de ración total mezclada (RTM) provenientes de cien establos lecheros ubicados en el estado de Aguascalientes. Se elaboró y aplicó una encuesta a los productores que nos permitió la elaboración de una base de datos. Se cuantificaron AF totales con ELISA. Se recolectaron 170 muestras de leche que se comercializa en el estado de Aguascalientes, se elaboró una base de datos acerca de la información de las muestras y se cuantificó AFM₁ por ELISA. Se espera que las muestras de leche superen los límites permisibles establecidos por la norma oficial mexicana (NOM-243-SSA1-2010), y que los alimentos destinados para consumo de vacas lecheras superen los límites permisibles establecidos por la Norma Oficial Mexicana (NOM-188-SSA1-2002). Las variables cuantitativas fueron capturadas y ordenadas en un documento de Microsoft Excel®. Posteriormente, la información se sometió a un análisis de varianza (ANDEVA) mediante el procedimiento para modelos lineales generales (GLM) del software *Statistical Analysis System* (1999). Las variables cualitativas fueron capturadas y ordenadas en un documento de Microsoft Excel® y se sometieron a un análisis de independencia mediante la prueba de Chi cuadrada (χ^2). Se considerará un nivel de probabilidad $P < 0.05$. Todas las muestras de leche tuvieron niveles detectables de AFM₁, rebasando el LMP el 10.3 % de las muestras, la concentración media fue 31.3 (ng/L); por otro lado, el 100 % de las muestras de RTM tuvieron niveles detectables de AF, la concentración media fue 26 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) rebasando el LMP el 97% de las muestras.

Palabras clave: Aflatoxinas, Aflatoxina M₁, Ración total mezclada, Leche, Aguascalientes.

ABSTRACT

Aflatoxins (AF) are potent mycotoxins produced mainly by toxigenic strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* fungi. Aflatoxin B₁ is considered the most important AF due to its greater toxic potential and carcinogenic, teratogenic and mutagenic activity. If AFB₁ is intaked, a metabolite is excreted in milk as aflatoxin M₁ (AFM₁), also with carcinogenic potential. AF enter human and animals food chain through direct or indirect contamination. The objective of the study is to evaluate the AF contamination in the total mixed ration destined for consumption by dairy cows and milk distributed for human consumption in Aguascalientes State. Samples of total mixed ration (RTM) from 99 dairy farms randomly located will be collected and AF will be quantify with ELISA. Also, questionnaire will be applied to Farmers, and data will allow to elaborate a database. One hundred seventy samples of commercialized milk will be collected and AFM₁ will be quantified by ELISA; database will be elaborated about the information of milk brands and type. Data about variables will be captured and sorted in a spreadsheet to facilitate analysis. Subsequently, the quantitative data will be subjected to an analysis of variance (ANOVA) using the procedure for general linear models (GLM) of the Statistical Analysis System software (1999). The qualitative variables will be subjected to an analysis of independence through the Chi square test (χ^2). A probability level $P < 0.05$ will be considered for all analysis. All milk samples had detectable levels of AFM₁, exceeding the LMP in 10.3% of the samples, the mean concentration was 31.3 (ng / L); on the other hand, 100% of the RTM samples had detectable levels of AF, the mean concentration was 26 (μg / kg), exceeding the LMP in 97% of the samples.

Key words: Aflatoxins, Aflatoxin M₁, Mixed total ration, Milk, Aguascalientes.

INTRODUCCIÓN

Las aflatoxinas (AF) son metabolitos secundarios tóxicos de los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Los hongos producen estas AF en cereales, semillas oleaginosas y especias. Las AF tienen efectos dañinos en todos los organismos, incluidos los humanos, y sus signos clínicos pueden clasificarse como agudos (vómitos, hemorragia y muerte) o crónicos (inmunodepresión, síndrome de Reye, Kwashiorkor, teratogénesis, hepatitis, cirrosis y varios tipos de cáncer). Las AF básicas (AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂) se metabolizan en el hígado y producen metabolitos hidroxilados (AFM₁ y AFM₂) y aflatoxicol (AFL), solubles en agua y fáciles de eliminar. Por lo tanto, las AF se pueden excretar en líquidos, como la leche (Magda et al., 2019).

El aumento al consumo de lácteos y otros productos pecuarios está aportando importantes beneficios nutricionales a la población de los países en desarrollo, sin embargo, el crecimiento acelerado en la producción y el consumo de productos pecuarios también presenta riesgos para la salud humana y animal, el medio ambiente y la viabilidad económica de pequeños agricultores pobres (Hansen, 2012). Los peligros para la inocuidad alimentaria derivados de los alimentos destinados a la alimentación animal, los cuales se pueden clasificar en biológicos, químicos o físicos. Cada peligro está asociado con fuentes y vías de contaminación y exposición específicas. Los peligros pueden introducirse a través de las materias primas. Los insumos agrícolas se contaminan cuando son trabajados por el hombre, por ejemplo, en la manera de guardar los alimentos o en la mezcla de los ingredientes. (FAO, 2007).

En México, en 1990 se le dio mayor importancia a las aflatoxinas, ya que el consumo de alimentos contaminados con esta micotoxina representa un riesgo elevado para la comunidad infantil (Velázquez, et al., 2009).

El estado de Aguascalientes tiene una alta actividad en la cadena productiva lechera, donde se consume el 30% de la leche producida y el restante es procesado o comercializado fuera de la entidad (Diagnóstico Sectorial del Estado de Aguascalientes 2010).

Es por esto que se realizó una investigación descriptiva no experimental, para evaluar la contaminación por AF totales en ración total mezclada (RTM) para consumo de vacas lecheras y la contaminación por AFM₁ en leche que se comercializa para consumo humano en el estado de Aguascalientes. Se recolectaron 99 muestras de RTM y 170

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

muestras de leche pasteurizada y ultra pasteurizada, se cuantificaron AF totales de las muestras de RTM por ELISA y AFM₁ por ELISA. Durante el muestreo de RTM y leche se elaboró una base de datos en donde las variables cuantitativas se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA). Las variables cualitativas se sometieron a un análisis de independencia mediante la prueba de Chi cuadrada (χ^2).



1. ESTRUCTURA DEL PROTOCOLO DE TESIS

La estructura de este protocolo de tesis se organiza de acuerdo a los lineamientos y Procedimientos institucionales vigentes¹ establecidos para la elaboración de tesis o trabajo práctico para la obtención de grado los estudios de nivel posgrado en la UAA. El documento inicia con una introducción que presenta y contextualiza el proyecto bajo estudio.

En el capítulo 2 se incluye el planteamiento del problema en el marco de una revisión de los principales estudios previos relevantes para la construcción y delimitación del objeto de estudio. Derivadas de los planteamientos anteriores, se presentan las hipótesis, las preguntas de investigación y los objetivos que guían el estudio. También se integra una justificación que destaca la relevancia e importancia que representa el estudio dentro del Sistema Agropecuario Nacional.

En el capítulo 3, Marco Teórico, se presentan las aportaciones de diversos autores para la construcción del objeto de estudio, desde las perspectivas teóricas y prácticas.

En el capítulo 4, Materiales y Métodos, se presenta el diseño de investigación empleado, así como las técnicas, instrumentos, formas de recolección de los datos y tipo de análisis de la información, que permitieron la integración analítica y metodológica requerida.

En el capítulo 5, Resultados Esperados, se presenta una caracterización de los resultados que se obtendrían en el caso de que los parámetros de comportamiento de los organismos empleados continuaran dentro de los márgenes usuales reportados, así como de que fueran modificados por la influencia de los tratamientos y factores incorporados en el estudio, en las magnitudes y proporciones que refieren estudios comparables.

En el capítulo 6, Proyecto de Discusión, se presenta un esquema que guíe el análisis comparativo de los resultados que probablemente sean obtenidos, con base de la contrastación con diversas investigaciones comparables y se intenta expresar una reflexión acerca del significado potencial de los hallazgos probables de este estudio.

¹Universidad Autónoma de Aguascalientes (2016). *Manual para la elaboración del trabajo recepcional en los programas de posgrado: Tesis o trabajo práctico*. Dirección General de Investigación y Posgrado. Departamento de Apoyo al Posgrado. Sistema de Gestión de la Calidad de la UAA: Código DI-040200-29, Revisión: 02, Emisión: 29/08/16. 26 pp. Consultado en febrero de 2019: <https://docsgc.uaa.mx/archivosuser/archivos.php>

En la Conclusión esperada se especifica la factibilidad de alcanzar un aceptable grado de cumplimiento de los objetivos, así como las implicaciones teóricas y productivas derivadas directamente de las evidencias más relevantes producidas por el estudio.

En la Bibliografía se enlistan las referencias mencionadas en todos los apartados referidos para la elaboración de este informe. También se incluyen diversos Anexos que detallan de manera pormenorizada las técnicas instrumentales que serán aplicadas para la obtención de la información.



2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

2.1. ORIGEN, EVOLUCIÓN Y ESTADO ACTUAL DEL PROBLEMA

Las aflatoxinas (AF) se descubrieron después de la repentina muerte de los pavos en Inglaterra en la primavera de 1960, la causa de la enfermedad se llamó "enfermedad X de los Pavos". Los investigadores concluyeron que la harina de maní estaba contaminada con hongos del género *Aspergillus*. También identificaron las toxinas responsables e identificaron los tipos principales: AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ (Spanjer, 2018).

En Kenia también se registraron muertes de patos por una enfermedad parecida (Carnaghan et al., 1961). La primera micotoxina modificada descubierta fue la aflatoxina M₁, una sustancia formada a partir de la hidroxilación de la aflatoxina B₁ y eliminada en la leche de animales que consumían alimentos contaminados con esta micotoxina (Masri., 1967). Sin embargo, el descubrimiento y la detección de diversas micotoxinas se intensificaron en los últimos años, muy probablemente a partir de la aparición de la cromatografía líquida acoplada a la espectrometría de masas, principal técnica aplicada a estos compuestos (Rychlik et al., 2014).

Las AF son mutagénicas debido a que su estructura es afín a los ácidos nucleicos y proteínas por lo que tiene la capacidad de unirse mediante enlaces covalentes. Estos enlaces ocasionan cambios en la transcripción y traducción, esto genera la formación de un aducto de DNA llamado 1 aflatoxina B - guanina y peroxidación de lípidos. Por tal razón las AF, a nivel celular, ocasionan la inhibición del ADN, ARN, mitosis y alteraciones cromosómicas, que a su vez resulta en efectos carcinogénicos, teratogénicos y mutagénicos (Moudgil et al., 2013). Por tal razón, la Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer, (IARC 2002) por sus siglas en inglés, en 1988 clasificó a las AF en el grupo 1 de micotoxinas con alto poder cancerígeno en humanos.

La aflatoxina B₁ (AFB₁) afecta principalmente al nivel hepático, tiene efectos teratogénicos y genera mutaciones al nivel celular. El carcinoma hepatocelular (CHC) es la principal neoplasia maligna que se presenta en hígadol. Aproximadamente al nivel mundial se estima que anualmente hay 530 mil casos nuevos de CHC (Bogantes et al., 2004).

La contaminación por AF es un motivo de pérdidas económicas en la agricultura mundialmente: por año se contaminan aproximadamente 16 millones de toneladas de maíz (Andrea, C. et al., 2014).

Las AF son muy estables, cuando contaminan los productos agrícolas no se eliminan por medio de la digestión, por altas temperaturas o bajas temperaturas. Las AF son consumidas directamente de los productos del campo o en los productos de origen animal (Requena et al., 2005).

2.2. CONDICIONES QUE PERMITEN ABORDAR EL PROBLEMA

Los productos lácteos también pueden servir como una fuente indirecta de AF (Zain, 2011). Las vacas lactantes que ingieren alimentos contaminados con AFB₁ generan aflatoxina M₁ (AFM₁), el metabolito hidroxilado de AFB₁, en su leche (Jianglin et al., 2018). Algunos autores estiman que entre el 0,3% y el 6,2% de AFB₁ ingerido por el ganado bovino se transforma en AFM₁ en el hígado para luego excretarse en la leche (Dawit et al., 2016).

En el estado de Aguascalientes en el 2006 la producción lechera fue de 316 millones de litros, con 70,000 cabezas, destacándose hatos de tipo intensivos. El Estado consume el 30% de esta producción, el restante es procesado o comercializado fuera de la entidad (Evaluación alianza para el campo, 2006).

3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

➤ **AFM₁ en Leche comercializada**

¿La leche que se comercializa en el estado de Aguascalientes es segura para los consumidores?

¿Los niveles de AFM₁ en leche comercializada en el estado de Aguascalientes está en los LMP según la NOM-184-SSA1-2002?

¿De dónde proviene la leche que se consume en el estado de Aguascalientes?

¿Influye la estación del año con la presencia de AFM₁ en la leche que se comercializa en el estado de Aguascalientes?

¿Influye la presencia de AFM₁ en leche con el tipo de proceso térmico para su conservación?

¿Existe diferencia de contaminación por AFM₁ en la leche de acuerdo a la marca comercial?

¿Influye el contenido de grasa en la leche con la presencia de la AFM₁?

➤ **AF totales en RTM**

¿Los niveles de AF en RTM en el estado de Aguascalientes está en los LMP según la NOM-188-SSA1-2002?

¿Existe relación entre la contaminación por AF en RTM y el destino de la leche de acuerdo a la marca comercial que adquiere?

¿Existe relación entre la contaminación por AF en RTM y el destino geográfico de la leche de acuerdo a la marca comercial que adquiere?

¿La procedencia de los insumos influye en la presencia de AF en la RTM?

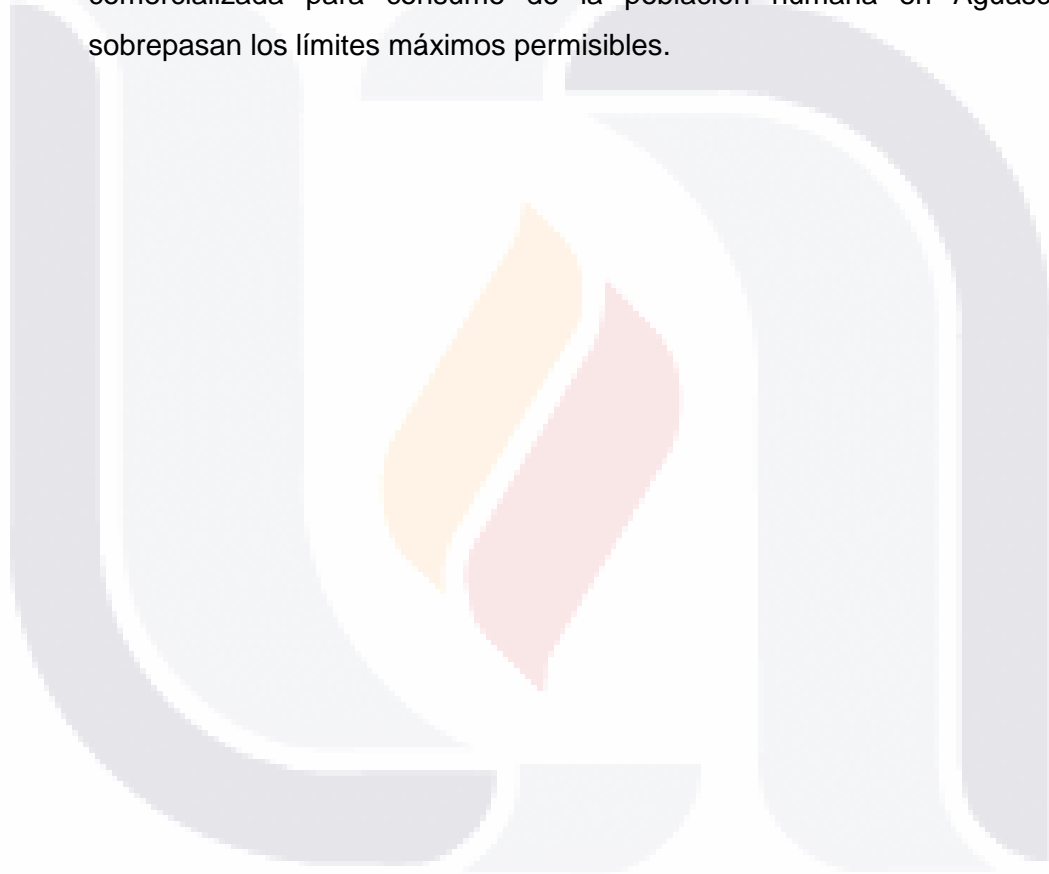
¿Influye la estación del año con la presencia de AF en la RTM?

¿Existe diferencia entre la contaminación por AF de la RTM con el destino de producción lechera?



4. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

- Existen niveles detectables de AF en RTM que consume el ganado lechero y AFM₁ en Leche comercializada para consumo de la población humana en Aguascalientes.
- Los niveles de AF en RTM que consume el ganado lechero y AFM₁ en Leche comercializada para consumo de la población humana en Aguascalientes sobrepasan los límites máximos permisibles.



5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

El objetivo del estudio es evaluar la contaminación por aflatoxinas en la ración total mezclada destinada para consumo de vacas lecheras y en la leche comercializada para consumo humano en el estado de Aguascalientes.

5.1.1. Objetivos específicos

- Cuantificar los niveles de contaminación por aflatoxinas en ración total mezclada para consumo de vacas lecheras en el estado de Aguascalientes.
- Identificar la relación que existe entre la contaminación por AF en RTM y la procedencia de los insumos, así como la estación del año.
- Cuantificar los niveles de AFM₁ en leche comercializada que consume la población del estado de Aguascalientes.
- Identificar la relación que existe entre la contaminación por AFM₁ en leche comercializada y el periodo de muestreo, origen geográfico de la leche, tipo de conservación, marca comercial y contenido de grasa en leche.
- Identificar las relaciones que existen entre la contaminación por AF en RTM que consume el ganado lechero en el estado de Aguascalientes y la leche que se comercializa en el estado de Aguascalientes destinada para consumo humano.

6. JUSTIFICACIÓN

La literatura existente acerca de las AF y los daños que causa es abundante, Las normas oficiales para la regulación de AF en alimentos para vacas lecheras (NOM-188-SSAI-2002) y de AFM₁ en leche para consumo humano (NOM-243-SSA1-2010). En México no se cuenta con programas de vigilancia para la continua evaluación y control de la presencia de AF en productos que son destinados para consumo de animales y humanos, a pesar del riesgo que presenta para la población, especialmente para la población infantil y las pérdidas económicas a productores y agricultores.

Es por eso que el proyecto pretende proporcionar un diagnóstico actual, acerca de la contaminación por AF que se presenta en ración total mezclada destinada para consumo de vacas lecheras y leche comercializada destinada para consumo humano en el estado de Aguascalientes. La problemática se abordará desde una perspectiva correlacional, en el cual se sugerirán los posibles factores que se pudieran atribuir a la presencia de las AF totales en RTM y AFM₁ en leche que se comercializa en el estado de Aguascalientes.

Cabe mencionar que los antecedentes existentes son abundantes, pero a nivel local se cuenta con poca información, según google scholar (2019) se cuentan con 6 artículos relacionados a la contaminación por AF, esto es de suma importancia, ya que el estado de Aguascalientes se caracteriza por su producción láctea por metro cuadrado a nivel nacional, y es necesario contar con conocimientos sustentados a nivel local para posteriormente poder contar con alternativas que contribuyan a la mitigación del problema.

7. MARCO TEÓRICO

7.1. PRODUCCIÓN LECHERA

7.1.1. Mundial

Aproximadamente 150 millones de familias mundialmente trabajan en la producción de leche. En países no tan desarrollados, la leche es producida por pequeños agricultores que contribuyen a la seguridad alimentaria y a la nutrición de los hogares (FAO, 2014).

Según datos de FAOSTAT el promedio de la producción de leche entera de vaca entre los años 2015 a 2017 en el continente europeo a nivel mundial fue de 33%, Asia 29%, las Américas con 27.6%, África 5.4% y Oceanía con 4.6 % (Figura 1).

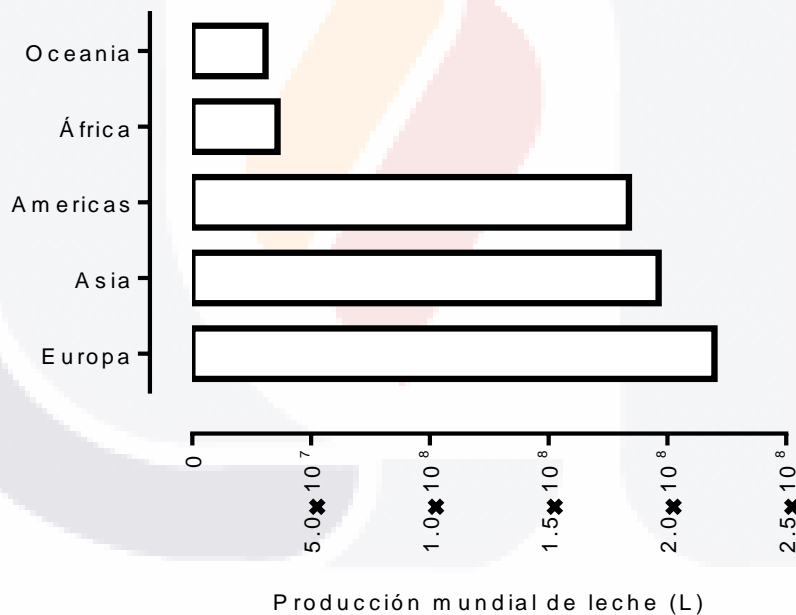


Figura 1. Producción Mundial de Leche (Promedio 2015-2017). Elaboración propia con datos de FAOSTAT, 2019.

La composición de la leche y sus subproductos, así como la adición de vitaminas a la leche para la comercialización, hacen de este alimento una proteína de alta calidad y

de nutrientes como calcio, vitaminas A, B12, D, riboflavina, fósforo, potasio, magnesio y zinc (Rice et al., 2013).

La comercialización de lácteos depende de características macroeconómicas, al progreso de las poblaciones, a su ubicación, a políticas de producción de diferentes países y de los acuerdos internacionales. Es por esto que la demanda, la oferta y el comercio mundial dependen de varios factores. El 70% del incremento en la demanda es por este factor (SE, 2012).

7.1.2. Nacional

Una de las tres actividades con mayor importancia es la industria de los alimentos (SE, 2012). En el año 2017 a nivel nacional hubo una producción 11, 807,556 litros de leche, 1.7% más que en el año 2016. Los estados que obtuvieron un aumento en la producción láctea durante el 2017 fueron Durango con 6.6%, Aguascalientes 6.2%, Veracruz 5.7% y Chihuahua con un 4.1%. En la siguiente figura se observan los principales estados productores de leche (INFOSIAP, 2017).

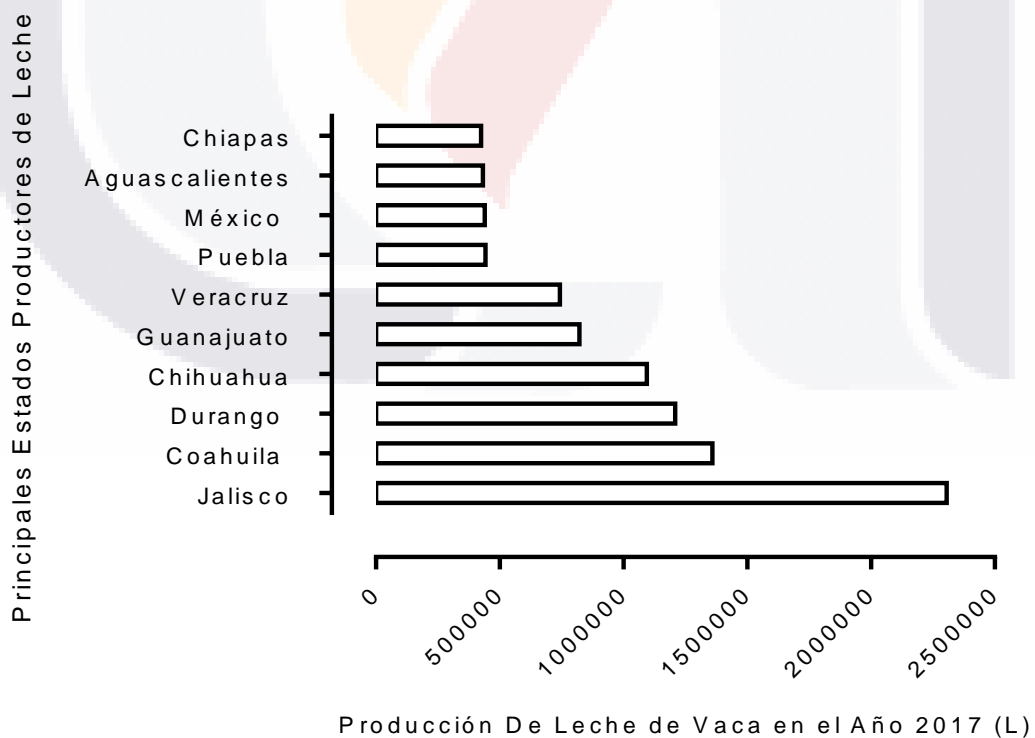


Figura 2. Producción nacional de leche. Elaboración propia con datos de INFOSIAP 2017

El consumo de energía procedente de los alimentos lácteos en México es de 167.5 kcal per cápita, que representa 13.3% del consumo total de energía al día (Dommarco et al., 2014).

7.1.3. Local

La producción láctea en Aguascalientes se lleva a cabo principalmente en 4 municipios, aportando aproximadamente un 78.8% del total a nivel estatal, los municipios son Aguascalientes, Pabellón de Arteaga, Jesús María y Francisco de los Romo. Se considera una de las principales cuencas lecheras del país (INEGI, 2019).

Si bien se encuentra en el décimo lugar nacional en producción láctea (SE, 2012) es importante mencionar que de acuerdo a los kilómetros cuadrados de cada estado, Aguascalientes es el estado con mayor producción láctea por cada km² como se muestra en la figura No 3. En el estado de Aguascalientes la producción de leche en el año 2017 fueron 432,041 litros de leche (INFOSIAP, 2017).

Según datos del INEGI (2019) entre los años 2015 y 2017 el 67% de la producción industrial nacional de leche fue pasteurizada y ultra pasteurizada, observándose una mayor comercialización y presencia en el mercado nacional y cuenta con la presencia de pasteurizadoras como lo son: la empresa San Marcos, Pasteurizadora Aguascalientes S.A. de C.V. Lala, Liconsa, Danone y GILSA.

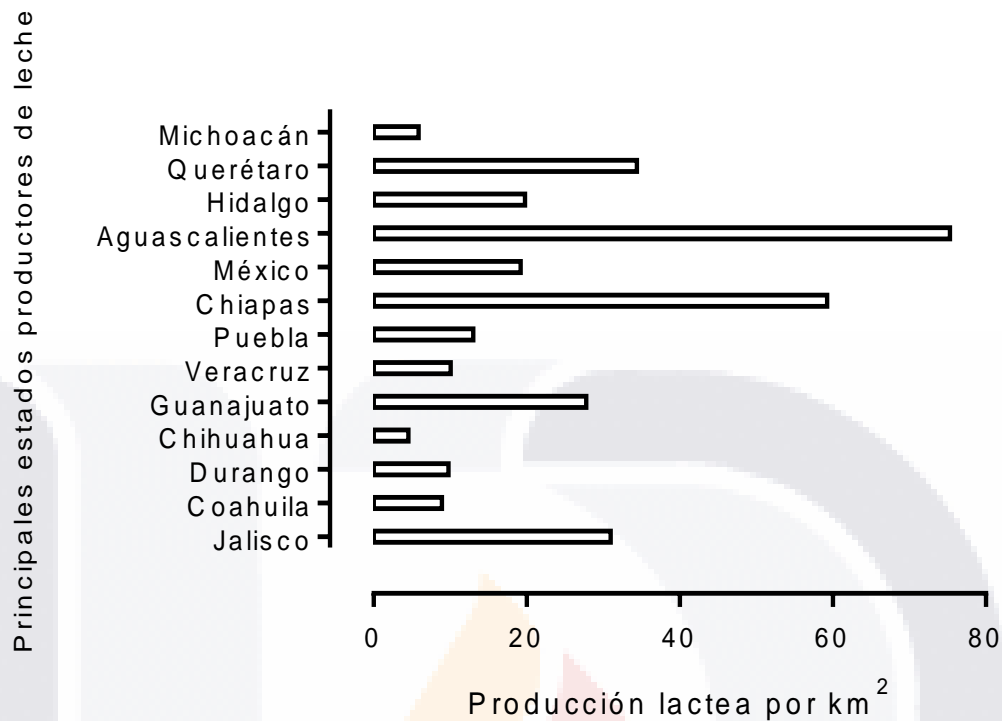


Figura 3 Producción láctea estatal por km². Elaboración propia con datos de INFOSIAP 2017

7.2. PRODUCCIÓN FORRAJERA

7.2.1. Mundial

Los productos agrícolas son importantes en la industria mundial de alimentos, al facilitar la extracción de mercancía de origen animal globalmente.

La comercialización de productos agrícolas se emplea en más de 120 países y se relaciona con más de 250 mil trabajadores. La producción de forrajes genera aproximadamente \$85 billones de dólares globalmente (FAO, 2014).

7.2.2. Nacional

En las formas que están los países en desarrollo, la baja calidad de los forrajes es la principal causa que frena la producción lechera. Las vacas lecheras comen frecuentemente alimentos fibrosos de mala calidad, con poco contenido en de nitrógeno, minerales y vitaminas (FAO, 2014).

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

Bucio et al., (2001) mencionan que la contaminación del maíz con aflatoxina en México se relaciona con el almacenamiento. Widstrom et al., (1990) asocia el clima con la síntesis de aflatoxinas en etapas pre-cosecha, siendo las altas temperaturas y períodos de sequía durante el cultivo.

El alimento mal guardado se ve afectado por roedores e insectos que afectan la calidad del maíz, favoreciendo la producción y desarrollo de hongos potencialmente productores de aflatoxinas (Fortnum, 1987). En malas condiciones de almacenamiento como temperatura, humedad y oxígeno pudiera presentarse la síntesis y acumulación de aflatoxinas (Bucio et al., 2001). Los establos estudiados cuentan con poca tecnificación e información, por lo que las prácticas pecuarias de los alimentos ayudan a la contaminación por aflatoxinas.

La tabla No. 1 muestra la producción forrajera nacional en modalidad riego y temporal, en la cual se destaca la producción de maíz y avena, con una superficie sembrada de 1, 011,675 Hectáreas (SIAP, 2004).

Tabla 1. Producción Forrajera Nacional.

CULTIVO	PRODUCCIÓN (Ton)
Maíz forrajero en verde	9,417,431
Avena forrajera en verde	8,934,233
Sorgo forrajero en verde	5,057,074
Pastos	966,658
Rye grass en verde	726,858
Cebada forrajera en verde	280,122
Trigo forrajero en verde	90,964
Triticale forrajero en verde	67,137
Garbanzo forrajero	45,150
Nabo forrajero en verde	15,757
Centeno forrajero en verde	5,190

Elaboración propia con datos de SIAP, 2004.

7.2.3. Local

Los pequeños productores de leche usualmente emplean los productos agrícolas disponibles en su zona. El pastoreo es popular en los países en desarrollo. Las áreas donde realizan pastoreo por lo regular no llevan a cabo prácticas sustentables y tiene escasa calidad nutricional (FAO, 2014).

En la figura No. 4 se muestra la producción forrajera del estado de Aguascalientes en el año 2004 según SIAP. Destacándose el maíz con un 84% de producción total.

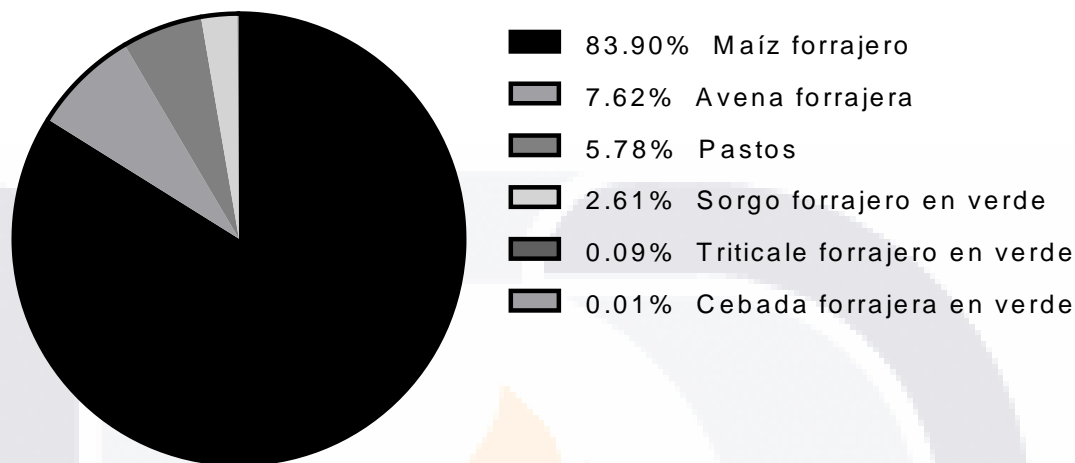


Figura 4. Producción Forrajera Estatal. Elaboración propia con datos de SIAP, 2004.

7.2.4. Componentes de ración total mezclada

Una alimento diseñado para rumiantes, específicamente para ganado lechero, tiene materias primas secas (12-13% de humedad o agua libre) forrajes con elevada cantidad de agua del 70 al 85%, por lo que puede ofrecer condiciones muy favorables para el desarrollo de *Aspergillus* y consecuentemente la producción de AFB₁ (Gimeno, 2004). Los piensos agrícolas son la porción vegetativa de las gramíneas y leguminosas, un buen alimento para las vacas lecheras por su alto contenido de carbohidratos, son la principal fuente de su alimentación (Agrios, 2006).

La fuente principal de fibra de una gran cantidad de piensos es la celulosa, un carbohidrato que los humanos no son capaces de digerir, pero para los rumiantes es fuente de energía. La ración total mezclada es todo aquel ingrediente mezclado con otro para mejorar el contenido de nutrientes del alimento y que será posteriormente diluido para obtener una dieta rica en nutrientes (FAO, 2014).

Al menos 8 estudios coinciden en que la producción láctea de animales que consumieron alimento en manera de pastoreo tienen niveles inferiores de AFM₁ (Prandini et al., 2009).

7.2.5 Destino de la producción

Las industrias agrícolas cubren todos los eslabones de la producción agropecuaria de los piensos, desde la producción a la transformación, la comercialización, la distribución y el consumo. Literalmente, “del campo a la mesa”.

Los cultivos agrícolas son principalmente para la alimentación animal. La inocuidad alimentaria es responsabilidad de todos los participantes, privados y públicos, para la conservación de cada eslabón de la cadena alimenticia de productos de origen animal, desde el campo hasta el consumidor.

La relación que tienen los productos agrícolas destinados para la alimentación del ganado lechero y los alimentos de origen animal para consumo humano son de suma importancia y deberían considerarse como parte integral de una cadena alimentaria, así como estar inspeccionada y asegurada con la inocuidad alimentaria (FAO, 2014).

7.3. PRINCIPALES HONGOS MICOTOXIGENICOS

La inocuidad alimentaria se ve afectada por factores biológicos, químicos o físicos. Cada factor está relacionado con fuentes de contaminación y exposición únicas.

El crecimiento de hongos toxigénicos y la producción de micotoxinas puede ocurrir en todas las etapas de producción y procesamiento (Yogendrarajah et al., 2014). Su crecimiento depende en gran medida de factores ambientales como la competencia microbiana, la disponibilidad de nutrientes y la estructura del sustrato, la actividad del agua, el pH, la temperatura, la humedad relativa, la presencia de insectos y la aplicación de fungicidas y pesticidas (Anfossi et al., 2016).

La producción de micotoxinas está asociada al proceso de esporulación del hongo, estrechamente relacionado con las condiciones ambientales y la concentración de nutrientes en el medio (Guzmán de Peña et al., 1998).

En una perspectiva global, se informó que alrededor del 25% del maíz y sus productos estaban contaminados con micotoxinas a diferentes niveles, lo que hace de las micotoxinas un problema mundial de seguridad alimentaria y salud pública (Chilaka et al., 2017).

Se han reportado alrededor de 400 micotoxinas. Las micotoxinas de importancia mundial, se muestran en la tabla No. 2 (Toso et al., 2016).

Tabla 2. Micotoxinas Importantes al Nivel Mundial.

MICOTOXINAS	HONGO
Aflatoxinas B1 B2 G1 G2	<i>Aspergillus parasiticus</i>
Aflatoxinas B1 B2	<i>Aspergillus flavus</i>
Toxina T-2 desoxinivalenol (nivalenol); Zeralenona	<i>Fusarium sporotrichisoides</i>
Fumonisina B ₁	<i>Fusarium moniliforme (F. verticillioides)</i>
Ocratoxina A	<i>Penicillium verrucosum</i>
Ocratoxina A	<i>Aspergillus ochraceus</i>

Elaboración Propia con datos de Toso, 2016.



7.3.1. Aflatoxinas reportadas en alimento para consumo vacuno

El problema sobre la contaminación de aflatoxinas en alimentos agrícolas para consumo de vacas lecheras y para consumo humano es de suma importancia, ya que es una problemática mundial. En la siguiente tabla (tabla N°3) podemos observar los aportes de diferentes autores en diferentes partes del mundo donde reportan la existencia de aflatoxinas en productos agrícolas.

Tabla 3. Ocurrencia de Aflatoxinas en productos agrícolas en diferentes regiones

País	Aflatoxina	Alimento	n	Positivo	Media	Autor y año
				%	(µg/kg)	
Etiopia	AFB ₁	RTM	156	100	97	Gizachew, D. et al., (2019)
Costa Rica	AF	Maíz	453	39	420	Granados, C. et al., (2017)
Usa	AFB ₁	Chiles	169	64	94.9	Singh, P., & Cotty, P. (2017).
Ghana	AF	Maíz	207	56	3.8	Kang'Ethe, E. et al., (2017)
china	AFB ₁	Arroz	370	64	0.6	Zhao, Y. et al., (2019)
India	AFB ₁	Maíz	150	100		Mudili et al., (2014)
Kenia	AF	RTM	27	78	52	Rodrigues, I. et al., (2011)
Pakistán	AFB ₁	Cereales	237	41	1.32	Iqbal, S. et al., (2014)
Vietnam	AFB ₁	Maíz	2,370		13.1	Lee, H. et al., (2017)
Nigeria	AF	RTM	50	94	115	Rodrigues, I. et al., (2011)
Sudáfrica	AF	RTM	25	52	14.7	Njobeh, P. et al., (2012)

µg/kg = microgramos por kilogramo

AFB₁ = Aflatoxina B₁

AF = Aflatoxinas totales

7.4. AFLATOXINAS

Se conocen al menos 16 aflatoxinas caracterizadas estructuralmente, pero solo hay cuatro aflatoxinas principales, AFB₁, AFG₁, AFB₂ y AFG₂, que afectan los productos agrícolas y son un riesgo alto para el ganado y la salud humana. *Aspergillus flavus* produce AFB₁ y AFB₂ y *Aspergillus parasiticus* produce AFB₁, AFG₁, AFB₂ y AFG₂. Otras especies que tienen la facultad de producir aflatoxinas son *Aspergillus nomius*, *Aspergillus pseudotamarii*, *Aspergillus bombycis*, *Aspergillus ochraceoroseus* (Jiujiang et al., 2002).

7.4.1. Características fisicoquímicas de las aflatoxinas

En su estructura química pertenecen a un grupo de metabolitos de las difuro-cumaro-ciclopentanonas (AFB₁ y AFB₂) y difuro-cumaro-lactonas (AFG₁ y AFG₂) tiene un anillo bifurano adherido a un núcleo de cumarina con un anillo de lactona (Urrego Novoa et al., 2006). Como se muestra en la Figura 5.

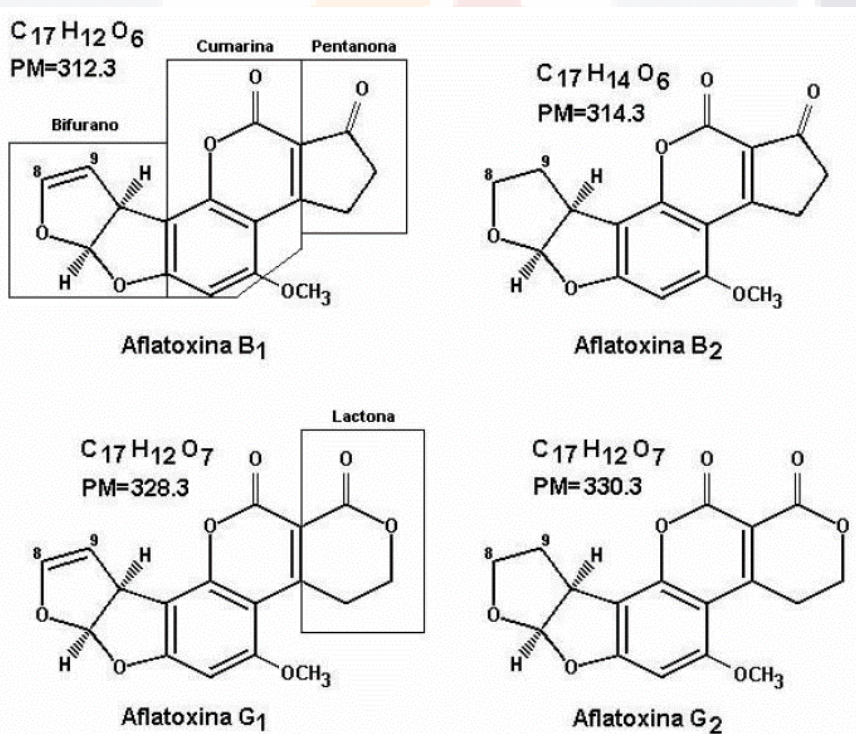


Figura 5. Características Químicas de las Aflatoxinas Naturales Producidas de Forma Natural. Tomado de Qazi y Fayyaz (2006).

Las aflatoxinas son solubles en cloroformo, metanol, acetonitrilo o acetona, cuando están puras no son estables a la luz y al aire y son susceptibles a la hidrólisis alcalina; se dañan

con amoníaco o hipoclorito de sodio; termo-resistentes y estables en un rango de pH entre 3 y 10; inodoras, incoloras e insípidas; estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales y de difícil eliminación una vez que se producen (Guzmán de Peña, 2007).

Las aflatoxinas se abrevian con letras, que dan referencia a una peculiaridad física, como las B₁ y B₂ presentan fluorescencia azul y las G₁ y G₂, fluorescencia verde cuando se exponen a radiación ultravioleta de onda larga. Tienen un peso molecular pequeño, entre 312 y 350 g/mol y un punto de fusión entre 230 y 290°C (Bogantes et al., 2004).

7.4.2. Normatividad

En México para controlar la presencia de aflatoxinas en cereales se emitió la Norma Oficial Mexicana (NOM-188-SSAI-2002) en cereales es de 20 µg/kg para el consumo humano como de animales. Por otra parte, en México existe la Norma Oficial Mexicana (NOM-243-SSA1-2010), que establece 0.5 µg/kg de AFM₁ en leche para consumo humano.

7.4.3. Metabolismo de AFB₁

El consumo oral es la principal ruta para que la AFB₁ ingrese al organismo, aunque también la inhalación se presenta cuando el hombre o los animales respiran polvo cuando trabajan los productos agrícolas. Cuando inhalan la AFB₁ aparece en el sistema circulatorio más rápidamente que la exposición oral.

Cuando se consume oral, la AFB₁ es absorbida en el duodeno, donde es el principal lugar de absorción por difusión pasiva, esto gracias al bajo peso molecular y a su elevada liposolubilidad no necesita bombas o transportadores específicos (Eaton et al., 1994).

El ciclo enterohepático juega un papel importante en la digestibilidad de la AFB₁. Cuando la AFB₁ es absorbida en el duodeno, hacia la circulación sanguínea, una parte de ella es enlazada a proteínas plasmáticas evitándose su distribución, mientras que otra parte está libre y con la probabilidad de atravesar las membranas de los vasos para llegar a los riñones, pulmones y masa muscular. El hígado es el órgano para su metabolización (Hsieh y Wong, 1994) donde la toxina es transformada por las enzimas CYP_{1A2} y CYP_{3A4} que resulta con la formación de aductos en el ADN provocando varias mutaciones en el gen p53 supresor de tumores.

Independientemente de la bioactivación enzimática, es importante recordar los efectos interactivos de AFB₁ bien documentados con la hepatitis B y C, o en el desarrollo del carcinoma hepatocelular (CHC) (Theumer et al., 2018).

La toxicidad inducida por AFB₁ está asociada con el cambio metabólico que curse, entre las cuales existen tres principales vías metabólicas. Tabla No 4.

Tabla 4. Vías Metabólicas de AFB₁.

VIA		
METABOLICA	METABOLITO	TOXICIDAD
Epoxidación	AFBO	Alta
Cetoeducción	AFL	Moderado
Hidroxilación	AFM ₁	Moderado

Elaboración propia con datos de Karabulut et al., (2014).

Estas diversas rutas del metabolismo de la AFB₁ dependen principalmente la especie que la consume y de las diferentes isoenzimas del citocromo P₄₅₀ (Dohnal, Wu, y Kuča, 2014). Las enzimas metabolizadoras de la fase I del citocromo P₄₅₀ son hemoproteínas. Se localiza principalmente dentro del retículo endoplásmico y mitocondrias.

Estas enzimas desempeñan un papel fundamental en el metabolismo fármacos y productos químicos xenobióticos, si bien estas enzimas poseen un papel clave en el metabolismo de los medicamentos y la eliminación de las sustancias químicas xenobióticas del cuerpo, también pueden bioactivar compuestos biológicamente pro cancerígenos, que pueden inducir citotoxicidad, mutaciones del DNA, muerte celular y transformación celular que conjuntamente puede conducir al desarrollo de cáncer (Manikandan y Siddavaram, 2017).

Estudios ha demostrado que CYP_{1A2} es responsable del 95% de la formación de aductos conocidos como AFB₁-N⁷-Gua. Que participan en la activación oxidativa de AFB₁ originando la producción de AFBO en las formas endo y exo-epóxido.

Los epóxidos son compuestos hidrolizados mediante la vía no enzimática para formar un producto más estable que es AFB₁-9 dihidrodiol, el cual adquiere la capacidad de unirse a grupos amino proteínas, específicamente con lisina; a diferencia del endo-epóxido, el exo-epóxido de AFB₁ es genotóxico, el cual tiene la capacidad de formar

aductos con el ADN, ya que se une a la guanina en la posición N⁷, causando mutaciones en el tercer par de codón 249 del gen p53 (Jiang et al., 2018).

La participación de CYP₄₅₀ en la bioactivación de AFB₁ también ha sido estudiada en otras especies. En los hepatocitos bovinos, por ejemplo, AFM₁ y AFB₁-8,9-dihidrodiol son los metabolitos primarios, que son sintetizados principalmente por CYP1A y CYP3A. En humanos, CYP_{1A2}, CYP_{3A4}, CYP_{3A5} y CYP_{3A7} desempeñan funciones importantes en la bioactivación de AFB₁ a AFBO en los microsomas hepáticos (Kamdem et al., 2006), mientras que CYP_{2A13} participa en la metabolización de AFB₁ a AFBO en el pulmón humano (Zhan et al., 2014).

Las enzimas de desintoxicación GST fase II se componen de tres superfamilias distintas; los GST citosólicos, los GST mitocondriales y los GST microsomales unidos a la membrana (Allocati et al., 2018). La función principal de estas enzimas es catalizar la conjugación de GSH con un co-sustrato hidrófobo que tiene un átomo de carbono, nitrógeno o azufre electrofílico en compuestos no polares; dado que estos compuestos no polares son a menudo los productos carcinogénicos del metabolismo de fase I, esto generalmente ejerce un papel de desintoxicación (Henderson, C. y Roland, W. 2011).

Además de las isoenzimas GST, existen otras enzimas de fase II, como el epóxido hidrolasa microsomal (mEH) y aflatoxina-aldehído reductasa (AFAR), que participan en la desintoxicación de los metabolitos AFB₁. Además de la conjunción con GSH, AFBO también puede hidrolizarse espontáneamente o intencionalmente por mEH para formar el metabolito menos tóxico AFB₁-dhd, que se une a los residuos de lisina en las proteínas. Además, AFAR puede metabolizar AFB₁-dhd para formar AFB₁-dia-alcohol, que no se une a las proteínas y, por lo tanto, produce un producto real desintoxicado (Judah et al., 2015).

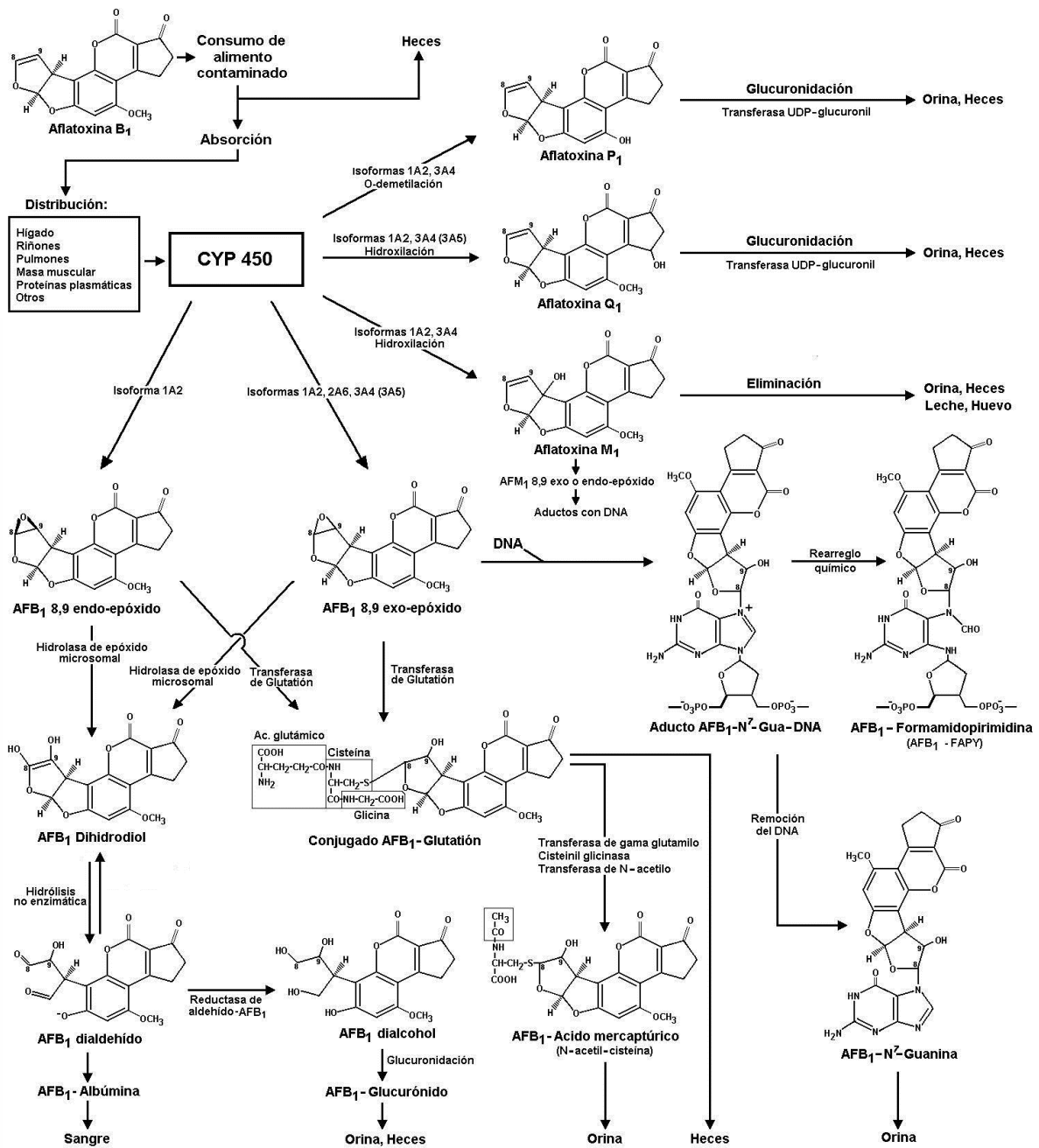


Figura 6. Esquema del metabolismo completo de AFB₁ en humanos. Tomado de (Fernando et al., 2009).

7.4.4. Aflatoxina M₁

Aflatoxina M₁ (AFM₁), es uno de los cinco principales resultados del metabolito de la hidroxilación de la AFB₁. La reacción de la enzima oxidasa se asocia al citocromo P₄₅₀ de

los microsomas dentro de los hepatocitos. Durante este proceso oxidativo, la AFB₁ se transforma sucesivamente en dos intermedios, aflatoxicol (AFL) y aflatoxicol M₁, antes de convertirse en AFM₁, es en esta forma que se excreta a través de la leche o los huevos. Algunos autores estiman que entre el 0,3% y el 6,2% de AFB₁ ingerido por el ganado bovino se transforma en AFM₁ en el hígado para luego excretarse en la leche (Peña et al., 2018).

También se ha indicado que la alta prevalencia de contaminación y los niveles relativamente altos de AFM₁ son característicos de países con condiciones climáticas secas o estaciones con largos períodos de sequía, ya que estas condiciones favorecen el crecimiento de mohos y, por lo tanto, la contaminación de alimentos para ganado por AFB₁ (Bilandžić et al., 2016). La incidencia de AFM₁ en leche y productos lácteos depende de varios factores, que incluyen el clima, la raza animal, la calidad del forraje, la etapa de lactancia y el rendimiento de producción de leche (Zahoor et al., 2018).

Estudios informaron que se puede encontrar AFM₁ en la leche animal dentro de las 12 a 24 h después de la primera ingesta de AFB₁ y puede durar hasta 3 días después de la última ingestión de la micotoxina. En los seres humanos, también está presente en la leche de madres lactantes que consumieron una dieta contaminada con AFB₁ (Battacone et al., 2003).

La AFM₁ es estable en los productos lácteos. La pasteurización no parece afectar o modificar la concentración de AFM₁ original de la leche. La opción para prevenir y evitar la contaminación con AFM₁ es la de no dar alimentos contaminados con AFB₁ al animal (Gimeno, 2004).

7.4.5. Aflatoxina M₁ reportada en diferentes continentes

Como ya se ha mencionado, las AF y sus metabolitos están distribuidos mundialmente, ya sea en productos agrícolas o en productos pecuarios como lo son la leche. Si bien, cada región maneja diferentes límites máximos permisibles de AFM₁ en leche, también existen países que no cuentan con reglamentos para la regulación de micotoxinas en los productos para consumo humano. En el continente africano, Asia, América del sur y China tienen el LMP con mayor rango permitido de AFM₁ con 500 ng/L. Mientras que América del Norte y Europa es de 50 ng/L. (FAO., 2003).

En los siguientes cuadros, se encuentran los reportes de contaminación por AFM₁ por diferentes autores al nivel mundial.

En la tabla N° 5 podemos observar los estudios más recientes que se han realizado en el continente africano, donde el LMP es 500 ng/L. Con un total de 731 muestras de diferentes tipos de leche, entre ellas leche cruda, pasteurizada y ultra pasteurizada, tuvieron una media de 254.8 ng/L. La muestra con más concentración de AFM₁ provenía de Kenia con 4.563 ng/L.



Tabla 5. AFM₁ Reportada por diferentes autores en el continente africano

Lugar	Tipo de leche	N° de muestras	Muestras positivas a AFM ₁	Rango	Media	Autor y Año
			(%)	(ng/L)	(ng/L)	
Marruecos	UHT	40	35	0.50-44	15	Alahlah et al., (2020)
Kenia	UHT	17	s/d	7-84	46	Lindhahl et al., (2018)
Kenia	Pas	53	s/d	8-210	55	Lindhahl et al., (2018)
Kenia	UHT	55	s/d	2-470	58	Lindhahl et al., (2018)
Argelia	Leche cruda	84	46	96-557	72	Mohammedi, A. et al., (2020)
Kenia	Pas y UHT	178	29	s/d	74	Ahlberg et al., (2018)
Kenia	Pas	18	s/d	2-740	126	Lindhahl et al., (2018)
Kenia	Leche cruda	62	100	2-1,100	131	Lindhahl et al., (2018)
Kenia	Leche cruda	96	100	15-4,563	290	Kuboka et al., (2019)
Nigeria	Leche cruda	20	80	11-1,345	531	Anthony et al., (2016)
Etiopia	Leche cruda	52	100	s/d-2132	690	Tadesse et al., (2020)
Etiopia	Pas	56	100	s/d-911	970	Tadesse et al., (2020)
		731	73.7	0.50-4,563	254.8	

ng/L= nano gramos por litro
 Pas= Pasteurizada
 UHT= Ultra pasteurizada

En la tabla N° 6 se describen 294 muestras de diferentes tipos de leche provenientes del continente americano, el 70.4 % tuvieron niveles detectables de AFM₁, con un rango desde 0 hasta 541 ng/L. Las muestras que obtuvieron una mayor concentración provinieron de Brasil con una media de 345 ng/L. en un estudio realizado por Conteçotto, A. et al., en el 2021.

Tabla 6. AFM₁ reportada por diferentes autores en el continente americano

Lugar	Tipo de leche	N° de muestras	Muestras positivas a AFM ₁ (%)	Rango (ng/L)	Media (ng/L)	Autor y Año
México	Cruda, Pas y Orgánica	44	59	20-92	s/d	Pérez et al., (2008)
Brasil	Pas	7	100	10-30	20	Sifuentes dos Santos et al., (2015)
Brasil	UHT	152	88	s/d-121	20	Silva et al., (2015)
México	FI	55	20	0-450	40	Quevedo, G. et al., (2020)
Brasil	UHT	20	100	10-80	40	Sifuentes do Santos et al., (2015)
México	Pas y UHT	84	39	10-127	50	Quevedo et al., (2018)
Brasil	UHT	60	44	145-541	345	Conteçotto, A. et al., (2021)
		294	70.4	0-541	93.0	

ng/L= nano gramos por litro
 Pas= Pasteurizada
 UHT= Ultra pasteurizada

En el continente asiático (tabla N° 7) se reportaron varios estudios con un total de 4,872 muestras de diferentes tipos de leche, en donde el 73% de las muestras tuvieron niveles detectables de AFM₁ con un rango muy amplio desde 0 hasta 2,280 y una media de 87.3. Un estudio en leche cruda realizado por Fallah et al., en el 2016 en irán obtuvo una menor contaminación con una media de 7 ng/L, mientras que Sharma et al., en el 2019 en la india obtuvo una media de 397 ng/L de AFM₁.

Tabla 7. AFM₁ reportada por diferentes autores en el continente asiático

Lugar	Tipo de leche	N° de muestras	Muestras positivas a AFM ₁	Rango (ng/L)	Media (ng/L)	Autor y Año
			(%)			
Irán	Leche cruda	192	46	12-60	7	Fallah et al., (2016)
Malasia	Pas	12	33	s/d	9	Nadira et al., (2017)
China	Leche cruda	1,207	5	s/d-60	15	Li et al., (2018)
China	UHT	180	79	5-100	15	Xiong et al., (2020)b
China	Leche cruda	133	75	5.-36	16	Xiong et al., (2020)b
india	Leche cruda	150	45	0-50	18	Nile et al., (2016)
China	Pas y UHT	547	78	s/d-196	19.6	Xiong et al., (2021)c
Irán	Pas	59	95	0-35	22	Barikbin et al., (2015)
China	UHT	111	52	s/d-352	22.4	Xiong et al., (2018)a
China	Pas	410	82	5-104	27	Xiong et al., (2020)b
Irán	Leche cruda	48	100	5-100	27	Movassaghghazani et al., (2017)
Irán	Pas	12	92	2-90	32	Hashemi (2016)
Líbano	Leche cruda	701	59	11-440	35	Daou, R. et al., (2020)
Irán	UHT	25	84	5-98	37	Nejad et al., (2019)
Irán	Pas	63	87	5-120	40	Nejad et al., (2019)
Jordán	Pas	30	100	15-217	59	Omar (2016)
Irán	Leche cruda	254	80	11-321	66	Fallah et al., (2015)

Jordán	Leche cruda	50	100	10-130	69	Omar (2016)
Líbano	Pas y UHT	11	91	130-219	69	Daou, R. et al., (2020)
Malasia	Leche cruda	102	4	20-142	92	shuib et al., (2017)
Pakistán	UHT	35	74	s/d-293	95	Iqbal et al., (2017)
Pakistán	Leche cruda	42	69	s/d-346	130	Iqbal et al., (2017)
China	Pas	131	92	s/d-352	137	Xiong et al., (2018)a
Iraq	Pas	25	60	32-680	210	Al-Mossawei et al., (2016)
Indonesia	Leche cruda	20	90	24-449	219	Sumantri et al., (2019)
Indonesia	Pas	16	100	10-570	244	Sumantri et al., (2019)
Pakistán	Leche cruda	156	92	20-3,09	317	Asghar et al., (2018)
India	Pas	150	82	27-2,280	397	Sharma et al., (2020)
		4,872	73.0	0-2,280	87.3	

ng/L= nano gramos por litro

Pas= Pasteurizada

UHT= Ultra pasteurizada

a b c = Indican diferentes publicaciones realizadas por el mismo autor

Otros estudios realizados en años recientes en el continente europeo (tabla N°8) describen la contaminación que se presentó en esta región, un total de 6,855 muestras fueron analizadas, donde el 71.5 % de las muestras presentaron niveles detectables de AFM₁. Se observó una media de 35.5 ng/L.

Tabla 8. AFM1 reportada por diferentes autores en el continente europeo

Lugar	Tipo de leche	N° de muestras	Muestras positivas a AFM ₁	Rango	Media	Autor y Año
			(%)	(ng/L)	(ng/L)	
Bosnia	Leche cruda	285	s/d	0.26-60	6	Bilandžić et al., (2016)a
Croacia	UHT	214	s/d	2-21	6	Bilandžić et al., (2016)b
Italia	Leche cruda	s/d	12	4-52	37	De Roma et al., (2017)
Italia	Pas	43	100	0.85-44	35	Campone et al., (2018)
Italia	UHT	26	58	0.70-36	16	Campone et al., (2018)
Serbia	Leche cruda	1408	70	5-126	76	Milićević et al., (2017)
Serbia	Leche cruda	3646	85	5-110	69	Milićević et al., (2017)
Serbia	Pas	468	78	5-278	27	Milićević et al., (2017)
Serbia	Pas	765	98	5-280	39	Milićević et al., (2017)
		6,855	71.5	0-280	34.5	

ng/L= nano gramos por litro

Pas= Pasteurizada

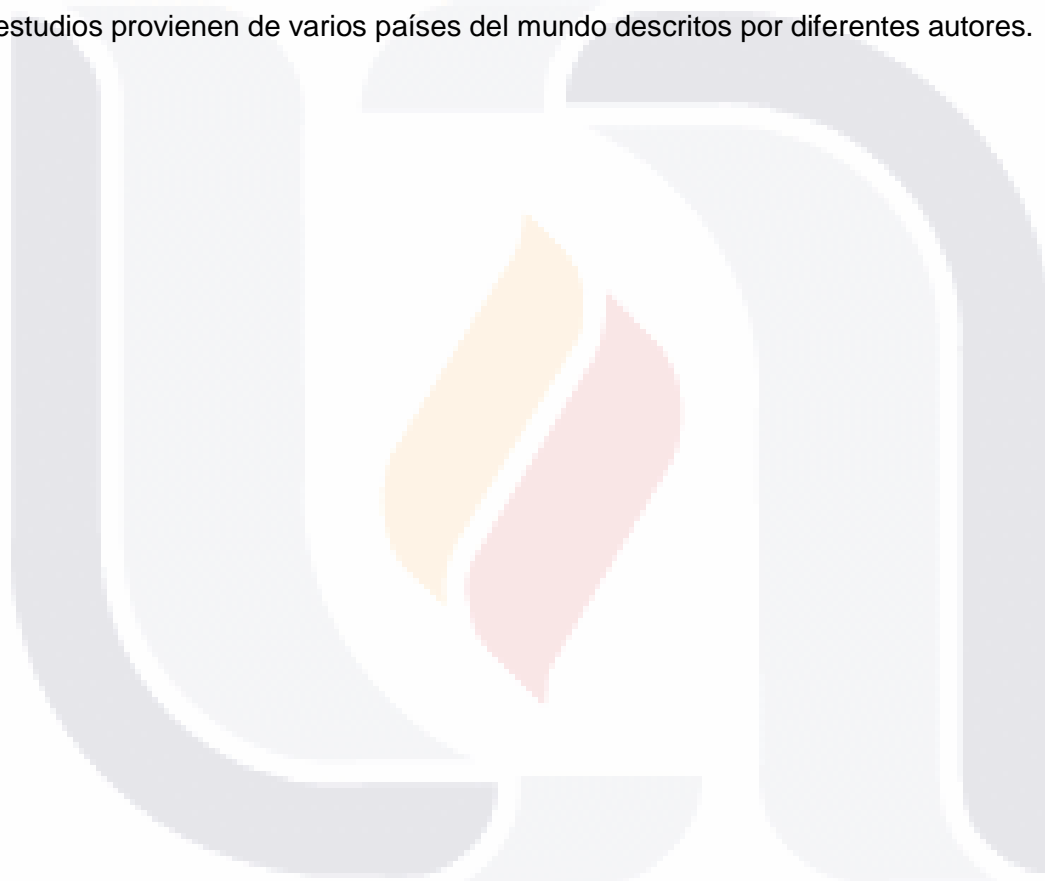
UHT= Ultra pasteurizada

a b = Indican diferentes publicaciones realizadas por el mismo autor

7.4.6. Aflatoxina M₁ reportada en diferentes tipos de leche

Si bien se conoce que los diferentes procesos térmicos a los que se somete la leche cruda no alteran la cantidad de AFM₁ que está presente en la leche para consumo humano, es de suma importancia observar los diferentes reportes que existen en el mundo.

En las siguientes tablas se pueden observar varios estudios que se realizaron recientemente sobre la contaminación de AFM₁ en diferentes tipos de leche, como los son la leche cruda, leche pasteurizada, leche ultra pasteurizada y formula leche orgánica. Los estudios provienen de varios países del mundo descritos por diferentes autores.



En la tabla N° 9 podemos observar los diferentes reportes de AFM₁ en leche cruda provenientes de diferentes regiones. Con un total de 8,708 muestras, el 67.9% de las muestras presentaron niveles detectables de AFM₁. Con un rango desde 0 hasta 4,563, donde la media se situó en 138.7 ng/L.

Tabla 9. AFM₁ Reportada por diferentes autores en leche cruda

Lugar	N° de muestras	Muestras	Rango (ng/L)	Media (ng/L)	Autor y Año
		positivas a AFM ₁ (%)			
Bosnia	285	s/d	0.26-60	6	Bilandžić et al., (2016)
Irán	192	46	12-60	7	Fallah et al., (2016)
China	1,207	5	s/d-60	15	Li et al., (2018)
China	133	75	5-36	16	Xiong et al., (2020)
India	150	45	0-50	18	Nile et al., (2016)
Irán	48	100	5-100	27	Movassaghghazani et al., (2017)
Líbano	701	59	11-440	35	Daou, R. et al., (2020)
Italia	s/d	12	4-52	37	De Roma et al., (2017)
Irán	254	80	11-321	66	Fallah et al., (2015)
Jordán	50	100	10-130	69	Omar (2016)
Serbia	3646	85	5-110	69	Milićević et al., (2017)
Argelia	84	46	96-557	72	Mohammedi, A. et al., (2020)
Serbia	1408	70	5-126	76	Milićević et al., (2017)
Malasia	102	4	20-142	92	shuib et al., (2017)
Pakistán	42	69	s/d-346	130	Iqbal et al., (2017)
Kenia	62	100	2-1,100	131	Lindhahl et al., (2018)
Indonesia	20	90	24-449	219	Sumantri et al., (2019)
Kenia	96	100	15-4,563	290	Kuboka et al., (2019)

Pakistán	156	92	20-3,09	317	Asghar et al., (2018)
Nigeria	20	80	11-1,345	531	Anthony et al., (2016)
Etiopia	52	100	s/d-2,132	690	Tadesse et al., (2020)
Total	8708	67.9	0-4,563	138.7	

ng/L= nano gramos por litro



En leche pasteurizada también se registraron datos sobre la contaminación por AFM₁ (tabla N° 10) descritos por diferentes autores. Un total de 2,318 muestras provenientes de diferentes regiones, podemos observar que la media se situó en 144.2 ng/L. Con el 86.6% de muestras positivas a AFM₁.

Tabla 10. AFM₁ Reportada por diferentes autores en leche pasteurizada

Lugar	N° de muestras	Muestras positivas a AFM ₁	Rango	Media	Autor y Año
		(%)	(ng/L)	(ng/L)	
Malasia	12	33	s/d	12	Nadira et al., (2017)
Brasil	7	100	10-30	20	Sifuentes dos Santos et al., (2015)
Irán	59	95	0-35	22	Barikbin et al., (2015)
China	410	82	5-104	27	Xiong et al., (2020)b
Serbia	468	78	5-278	27	Milićević et al., (2017)
Irán	12	92	2-90	32	Hashemi (2016)
Italia	43	100	0.85-44	35	Campone et al., (2018)
Serbia	765	98	5-280	39	Milićević et al., (2017)
Irán	63	87	5-120	40	Nejad et al., (2019)
Kenia	53	s/d	8-210	55	Lindahl et al., (2018)
Jordán	30	100	15-217	59	Omar (2016)
Kenia	18	s/d	2-740	126	Lindahl et al., (2018)
China	131	92	s/d-352	137	Xiong et al., (2018)a
Iraq	25	60	32-680	210	Al-Mossawei et al., (2016)
Indonesia	16	100	10-570	244	Sumantri et al., (2019)
India	150	82	27-2,280	397	Sharma et al., (2019)
Etiopia	56	100	s/d-911	970	Tadesse et al., (2020)
Total	2,318	86.6	0-2,280	144.2	

ng/L= nano gramos por litro

a b = Indican diferentes publicaciones realizadas por el mismo autor

En la tabla N° 11 se recopilaron diferentes reportes sobre la contaminación de AFM₁ en leche ultra pasteurizada originaria de diferentes partes del mundo. Con un total de 935 muestras analizadas, la media se situó en 60 ng/L. Con un total de 68.2% de muestras positivas a AFM₁. La muestra con menor concentración fue desde 0.50 hasta 541 ng/L.

Tabla 11. AFM₁ Reportada por diferentes autores en leche ultra pasteurizada

Lugar	N° de muestras	Muestras positivas a AFM ₁	Rango	Media	Autor y Año
		(%)	(ng/L)	(ng/L)	
Croacia	214	s/d	2-21	6	Bilandžić et al., (2016)
China	180	79	5-100	15	Xiong et al., (2020) ^b
Marruecos	40	35	0.50-44	15	Alahlah et al., (2020)
Italia	26	58	0.70-36	16	Campone et al., (2018)
Brasil	152	88	s/d-121	20	Silva et al., (2015)
China	111	52	s/d-352	22	Xiong et al., (2018) ^a
Irán	25	84	5-98	37	Nejad et al., (2019)
Brasil	20	100	10-80	40	Sifuentes dos Santos et al., (2015)
Kenia	17	s/d	7-84	46	Lindahl et al., (2018)
Kenia	55	s/d	2-470	58	Lindahl et al., (2018)
Pakistán	35	74	s/d-293	95	Iqbal et al., (2017)
Brasil	60	44	145-541	345	Conteçotto, A. et al., (2021)
Total	935	68.2	0.50-541	60	

ng/L= nano gramos por litro

a b = Indican diferentes publicaciones realizadas por el mismo autor

8. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. TIPO DE ESTUDIO

Se realizó un estudio descriptivo no experimental con un diseño transversal para evaluar la contaminación por AF totales en ración total mezclada destinada para consumo de vacas lecheras y en leche comercializada para consumo humano en el estado de Aguascalientes.

8.2. LUGAR DE ESTUDIO

El estudio se realizó en el Estado de Aguascalientes, tiene una superficie de 5,680.330 kilómetros cuadrados, que es el 0.3% del país. Colinda con el Estado de Zacatecas; y con Jalisco. Las coordenadas geográficas extremas son: Al norte 22°27'35", al sur 21°37'20" de latitud norte, al este 101°50'07", al oeste 102°52'27" de longitud oeste. Cuenta con una altitud de 1,878 mnsn, con una temperatura media anual de 18.5°C y una precipitación pluvial anual de 527.7 milímetros promedio.

8.1. CUANTIFICACIÓN DE AFLATOXINAS TOTALES EN RACIÓN TOTAL MEZCLADA

8.1.1. Muestreo en establos

El muestreo de ración total mezclada se realizó de julio a septiembre de 2019 en 99 establos lecheros localizados en el estado de Aguascalientes (Figura 7). Las muestras se obtuvieron del comedero y se procesaron en la posta zootecnica de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Durante la obtención de las muestras se aplicó una encuesta al productor para la recopilación de datos ([Anexo A](#)).

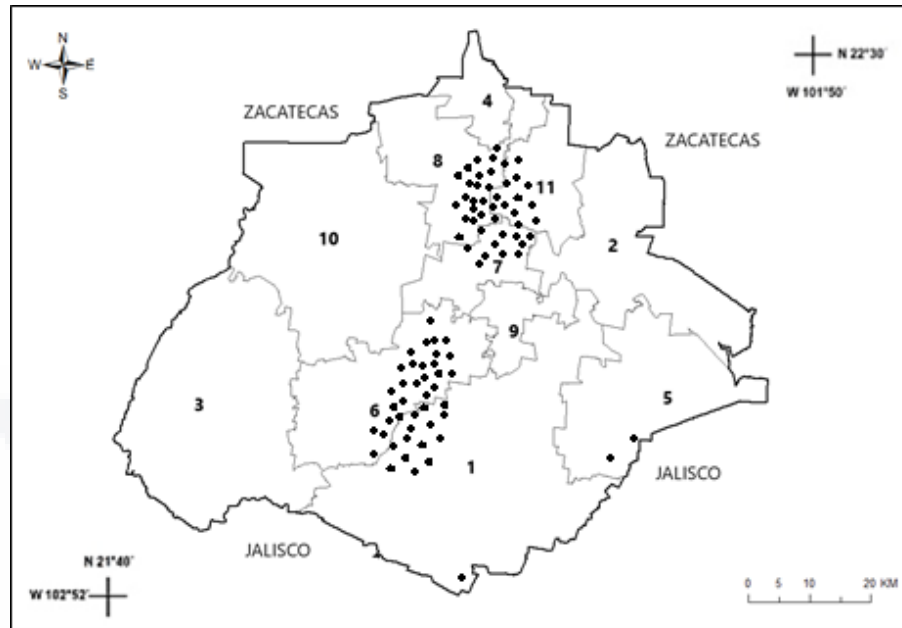


Figura 7. Ubicación geográfica de los establos incluidos en el estudio (estado de Aguascalientes)

Fuente: INEGI, 2019. NOTA: Los números señalan los municipios. (1) Aguascalientes (2) Asientos (3) Calvillo (4) Cosío (5) El Llano (6) Jesús María (7) Pabellón de Arteaga (8) Rincón de Romos (9) (10) San José de Gracia (11) Tepezalá.

8.1.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Se incluyeron establos registrados en los padrones SADER (DPAI), la AGLPLA y centros de acopio LICONSA que proporcionaron el permiso para la toma de muestra de la RTM y la aplicación del instrumento de recolección de datos. Se excluyeron las unidades de producción de leche que no brindaron autorización para participar en el muestreo, así como las muestras que contenían la adición de secuestrante.

8.1.3. Cálculo del tamaño de muestra

Se calculó el tamaño de muestra para una población finita (sin reemplazo) para estimar la proporción de unidades de observación se empleará la fórmula siguiente (Segura y Honhold, 2000):

$$n = \frac{NZ^2 pq}{Nd^2 + Z^2 pq}$$

Donde

n es el tamaño de muestra seleccionado

N es la población total disponible

Z, el valor crítico de la distribución

d, la precisión deseada

p, la proporción esperada de unidades de observación con la característica buscada

q, la proporción esperada de unidades de observación sin la característica buscada (*q* = 1-*p*).

El cálculo para el tamaño de la muestra se realizó con un nivel de confianza del 95%, una proporción o prevalencia esperada de 0.5 unidades y una precisión de 10% y una población total disponible de 3155 unidades de producción lechera (SAGARPA, 2010).

$$N = \frac{(3155)(1.96^2)(0.5)(0.5)}{(3155(0.1^2)) + ((1.96^2)(0.5)(0.5))}$$

$$N = \frac{3030.062}{31.55 + 0.9604}$$

$$N = \frac{3030.062}{32.5104}$$

$$N = 93.20$$

Al azar, se eligieron las unidades de producción de los padrones SADER (DPAI), la AGLPLA y centros de acopio LICONSA, se decidió coleccionar muestras de RTM en 99 UPL, previendo la eliminación o exclusión de alguna muestra.

8.1.4. Muestreo de ración total mezclada

Trazando una “M” sobre el lugar donde este el alimento como lo menciona la Norma Oficial Mexicana (NOM-188-SSA1-2002) se tomó un kg de alimento de los cinco puntos, se colocó en una bolsa de plástico, se homogeneizó hasta tener una muestra representativa. De la muestra compuesta de 5 kg, se tomó 1 kg para la cuantificación aflatoxinas totales.

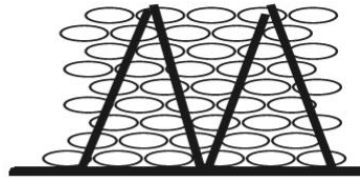


Figura 8. Técnica de “M” Para Muestreos de Alimento (NOM-188-SSA1-2002).

8.1.5. Técnicas para la obtención de información sustantiva

Para su análisis las muestras de ración total mezclada se deshidrataron en una estufa de alta temperatura con circulación forzada de aire (OF-22GJEOI-TECH, Lab Companion, Corea) a 60°C durante 24 horas y se molieron en un molino universal de funcionamiento continuo (MF series 10 Basic, IKA®-Werke, Alemania) hasta obtener un tamaño de partícula de entre 500 y 800 μ .

Las muestras secas y molidas se almacenaron en refrigeración dentro de bolsas con cierre hermético, se identificaron con la fecha de muestreo, los establos lecheros de donde se obtuvo y un número consecutivo indicando el orden en el que se fueron realizando los muestreos. Los datos se capturaron en una hoja electrónica de cálculo usando el software Microsoft Excel 2016.

La cuantificación de AF totales en las muestras de ración total mezclada se cuantificó por duplicado con un kit comercial de ELISA competitivo con un nivel mínimo de detección de 1.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y un nivel máximo de detección de 45.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$. (RISASCREEN FAST® aflatoxin R-5202, R-Biopharm Alemania). La extracción de aflatoxinas se obtuvo con metanol al 70% y cada muestra se depositó por duplicado en los pocillos de la placa y se obtuvo la absorbancia de las muestras en un lector de microplacas de Biotek a 450nm (ELx800™, Bio Tek, EUA) ([Anexo B](#)).

8.2. CUANTIFICACIÓN DE AFM₁ EN LECHE COMERCIALIZADA

8.2.1. Muestreo de leche

El muestreo de leche comercializada se realizó de julio a septiembre de 2019 en supermercados de Aguascalientes, donde se recolectaron muestras de leche pasteurizada y ultra pasteurizada de vaca. Las muestras se obtuvieron en diferentes supermercados seleccionados en un muestreo no probabilístico estilo bola de nieve,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

(Blanco et al., 2007) durante el cual se identificaron las redes de supermercados que existen en el estado de Aguascalientes, donde, en el primer supermercado se recolectaron muestras de cada marca de leche pasteurizada y ultra pasteurizada de origen animal, entera o ligera. Posteriormente se visitó el segundo supermercado y se obtuvo un duplicado de las muestras que se recolectaron en el primer supermercado, así como nuevas marcas encontradas, las cuales se replicaron en un tercer supermercado, y así sucesivamente, hasta que no sea posible encontrar nuevas marcas o tipos de leche en los supermercados muestreados. Durante un muestreo piloto simulado se detectaron un total de 27 marcas y tipos de leche comercializados en la ciudad de Aguascalientes, se describen en el [anexo C](#).

Las muestras se transportaron en refrigeración y se conservaron en congelación a -20°C hasta su procesamiento en el Centro de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Aguascalientes. Durante la obtención de las muestras se elaboró una base de datos en una hoja electrónica de cálculo usando el software Microsoft Excel 2016. [\(Anexo D\)](#).

8.2.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Se incluyeron leches fluidas pasteurizadas y ultra pasteurizadas, de todas las marcas existentes en los supermercados registrados, ya sea enteras o ligeras. Se excluyeron las leches adicionadas con algún saborizante.

8.2.3. Técnicas para la obtención de información sustantiva

Para su análisis las muestras se homogeneizaron, centrifugaron y se desengrasaron. Se realizó por duplicado la prueba ELISA para el análisis de AFM_1 en leche de acuerdo con las instrucciones del kit de prueba RIDASCREEN® AFM_1 (R1121, R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania), que tiene un límite de detección de $0.005 \mu\text{g/L}$ y un límite máximo de detección de $0.08 \mu\text{g/L}$ para leche [\(Anexo E\)](#). Para la lectura de las absorbancias se empleó un lector de microplacas Biotek a 450 nm (ELx800™, Bio Tek, EUA).

8.3. VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN

Las variables que se obtuvieron en la recolección de muestras se categorizaron como se muestra en el [\(Anexo F\)](#).

8.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cuantitativas fueron capturadas y ordenadas en un documento de Microsoft Excel® para su análisis. Posteriormente, la información se sometió a un análisis de varianza (ANDEVA) mediante el procedimiento para modelos lineales generales (GLM) del software *Statistical Analysis System* (1999).

Las variables cualitativas serán capturadas y ordenadas en un documento de Microsoft Excel® para guardar la información y los datos se sometieron a un análisis de independencia mediante la prueba de Chi cuadrada (χ^2). Se consideró un nivel de probabilidad $P < 0.05$.

Para determinar cuáles medias son estadísticamente diferentes de otras, se utilizó la prueba protegida de Fisher cuando de obtuvo significancia en ANDEVA.

8.5. PROGRAMACIÓN DE ACTIVIDADES

1. Puesta en Marcha (Primer semestre)	Elaboración de protocolo	X X X X X X			
	Revisión de literatura	X X X X X X			
	Integración unidades de producción	X X X X X X			
	Integración de unidades de venta	X X X X X X			
	Estandarización de técnicas	X X X X X X			
	Seminario	X			
2. Realización (Segundo semestre)	Revisión de literatura		X X X X X X		
	Obtención de muestras		X X X X X		
	Procesamiento de muestras			X X X	
	TOEFL		X X		
	Análisis de resultados			X	X
	Seminario de avances			X	
3. Intercambio Académico (Tercer semestre)	Revisión de literatura			X X X X X X	
	Intercambio académico				X X X
	Seminario de avances				X
4. Difusión (Cuarto semestre)	Revisión de literatura				X X X X X
	Participación en congresos				X X X X X
	Redacción de artículo				X X X X X X
	Redacción de Tesis				X X X X X X
	Preparación del examen de grado				X
<i>Etapas</i>	<i>Actividad</i>	<i>Semestre 1</i>	<i>Semestre 2</i>	<i>Semestre 3</i>	<i>Semestre 4</i>

Figura 9. Diagrama de Gant con la programación de actividades generales del proyecto (Nota: cada "X" corresponde a un mes).

8.6. PROGRAMACIÓN DE ACTIVIDADES POR OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Tabla 12. Programación de Actividades por Objetivos Específicos

Objetivo	Actividad	Semestre			
1. Cuantificación de AF totales en RTM	1. Diseño de encuesta	x			
	2. Selección de establos lecheros	x			
	3. Aplicación de la encuesta a productores		x		
	4. Recolección de RTM		x		
	5. Captura de datos		x		
	6. Procesamiento de las muestras		x		
	7. Estandarización de técnica ELISA y HPLC	x			
	8. Análisis de las muestras por ELISA y HPLC		x		
	9. Análisis de datos con apoyo de software		x		
2. Cuantificación de AM ₁ en leche	1. Diseño de la base de datos	x			
	2. Selección de supermercados	x			
	3. Recolección de leche comercializada		x		
	4. Captura de datos		x		
	5. Estandarización de técnica ELISA	x			
	6. Procesamiento y análisis de las muestras por ELISA		x		
	7. Análisis de datos con apoyo de software		x		
3. Asociación de contaminación por aflatoxinas en leche comercializada y ración total mezclada.	1. Análisis estadístico		x	x	
	2. Interpretación de los resultados			x	

8.7. FUENTES DE RECURSOS PARA EL DESARROLLO DEL PROYECTO

Los fondos serán otorgados por recursos institucionales, obtenidos por medio del proyecto denominado: Ocurrencia de Aflatoxinas en Alimentos y Productos Pecuarios en el Estado de Aguascalientes. Con clave PIP-SA19-1 y con recursos federales obtenidos por medio de la asignación de la beca CONACYT.



9. RESULTADOS AFM₁

9.1. PRESENCIA DE AFM₁ EN LECHE

9.1.1. Distribución probabilística de la contaminación de la leche por AFM₁

La presencia detectada de AFM₁ en leche que consume la población indicó la falta de inocuidad de la leche y la problemática en el estado de Aguascalientes, ya que el 100% de las muestras de leche analizadas tuvieron niveles detectables de AFM₁, la concentración mínima detectada fue de 10.6, mientras que la máxima ascendió hasta 73.8 ng/L; la concentración media fue 31.3 (ng/L); con 95.0% de confianza, la media se encontró entre 29.9 y 32.6, con una desviación estándar de 13.0 y un coeficiente de variación de 41.6%.

Una cantidad importante de muestras (10.3 %) rebasaron el límite máximo permisible (LMP) establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002 (50 ng/L) mientras que el porcentaje restante no lo rebasó (Figura 10).

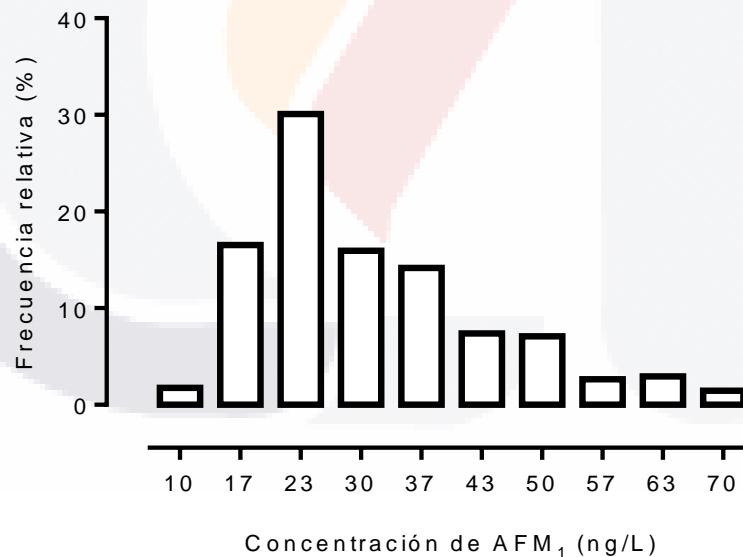


Figura 10. Distribución de la frecuencia de la concentración de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada que se comercializa en Aguascalientes.

9.1.2. Distribución geográfica de la concentración de AFM₁

En este estudio se observó una diferencia significativa ($P < 0.005$) entre las medias de concentración de AFM₁ en leche en función del estado del cual procedía la muestra (Tabla No 13). Conforme la prueba protegida de Fisher, se observaron cinco grupos de estados significativamente diferentes entre su concentración media de AFM₁.

Aunque ninguno de los estados presentó medias de concentración superiores al LMP, si se detectaron los estados que tuvieron un porcentaje mayor de muestras que rebasaban el porcentaje promedio general (31.3 ng/L) fueron el Estado de México, Aguascalientes y Durango.

Tabla 13. Concentración promedio de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada de acuerdo con su procedencia geográfica.

Estado	Muestras (No.)	Media (ng/L)	EE	Intervalo de confianza*		> LMP (%)
				Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Estado de México	40	37.3 ^a	± 2.35	34.6	40.1	20.0
Aguascalientes	66	34.9 ^{ab}	± 1.67	29.8	34.0	16.7
Hidalgo	20	32.1 ^{abcd}	± 2.93	25.4	33.3	10.0
Durango	82	31.9 ^{bc}	± 1.51	29.6	33.4	12.2
Jalisco	60	28.9 ^{cd}	± 1.24	31.5	36.2	3.3
Nuevo León	30	27.0 ^{cde}	± 2.34	23.6	30.0	6.7
Guanajuato	36	25.6 ^{de}	± 1.50	22.7	28.5	0.0
San Luis Potosí	6	18.1 ^e	± 0.70	10.9	25.2	0.0
Total	340	31.3	± 0.71			10.3

>LMP = Mayores al Límite Máximo Permissible por la NOM-184-SSA1-2002: 50 ng/L.

^{a-e} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

9.1.3. Concentración de AFM₁ de acuerdo con el periodo de muestreo

Se encontró una diferencia altamente significativa entre la concentración media de AFM₁ (P<0.005) con respecto a las estaciones del año en que se produjo la leche (Tabla No. 14). De la misma forma, en el análisis de independencia (X²) se detectó una relación altamente significativa entre el periodo de muestreo y la proporción de muestras que rebasaron el LMP (P<0.05).

Los problemas de contaminación por AFM₁ en la leche fueron más intensos en periodo verano-otoño que en el periodo Invierno-primavera, de tal forma que la concentración fue superior en 29.9%, mientras que se triplicó la proporción de muestras que rebasaron el LMP. Estos datos sugieren que existió un efecto de estacionalidad con respecto a la concentración de AFM₁ en la leche y en la mayor proporción de muestras que rebasaron el LMP.

Tabla 14. Concentración promedio de AFM₁ en leche de acuerdo con el periodo de muestreo

Periodo de muestreo	Muestras	Media	EE	Intervalo de confianza		> LMP (%)
	(No.)	(ng/L)		Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Verano-otoño	142	36.1 ^a	± 0.80	34.6	37.6	16.9
Invierno-primavera	198	27.8 ^b	± 0.16	26.6	29.0	05.6
Total	340	31.3	± 0.71			10.3

>LMP = Mayores al Límite Máximo Permissible por la NOM-184-SSA1-2002: 50 ng/L.

^{a-b} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

La prueba de Levene señaló que la varianza entre los periodos fue estadísticamente diferente, por lo que para verificar las comparaciones de las medias se realizó una comparación entre las medianas de las dos estaciones del año. En la Figura No. 11 se puede observar que las medianas de las dos estaciones del año también fueron diferentes, lo cual fue corroborado por las pruebas de Mood y Kruskal-Wallis. Lo anterior corrobora que existió una diferencia significativa entre los dos periodos de muestreo.

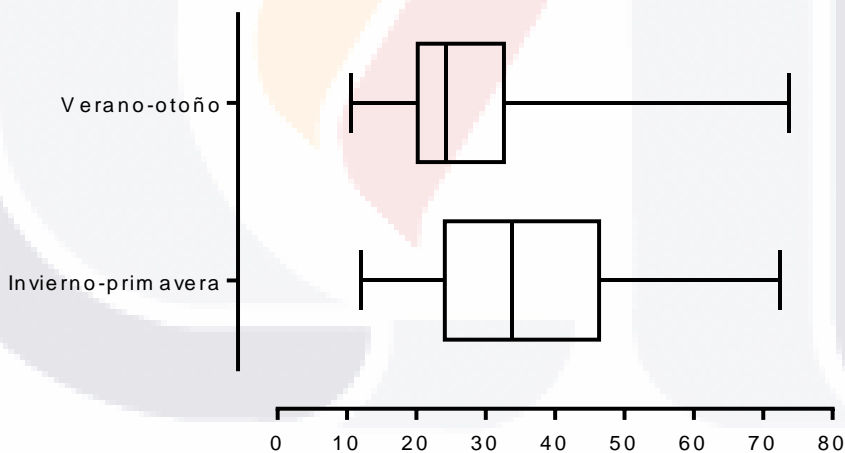


Figura 11. Concentración de AFM₁ de los periodos de recolección de muestras. En el esquema se muestran las medianas como una línea vertical en el centro de la caja, mientras que cada uno de los bigotes representa un cuartil de la distribución de la concentración de la AFM₁.

9.1.4. Concentración de AFM₁ de acuerdo a su conservación.

Los resultados de AFM₁ (Tabla No. 15) obtenidos del análisis de 340 muestras de leche fluida, con diferentes procesos térmicos, como pasteurización y ultra pasteurización (UHT), dieron a conocer que no existe diferencia estadísticamente significativa ($P > 0.005$).

De las leches que se recolectaron, un 58.82% correspondieron a leches UHT, mientras que el 41.18% restante fueron leches pasteurizadas. Al analizar individualmente la sección que se refiere a la leche pasteurizada, se observó que un 14.29% de las muestras de leche se encontró por encima del valor máximo permitido, mientras que el restante se situó dentro de valores aceptables por la NOM.

Asimismo, al analizar la leche que sufre un proceso térmico UHT, se observó que un 7.50% de estas muestras presentó valores de AFM₁ por encima del valor máximo permitido, mientras que el restante se encontró dentro de valores aceptables por la NOM.

De acuerdo al análisis de independencia (X^2) se obtuvo una relación altamente significativa entre el método de conservación y LMP ($P < 0.05$).

Tabla 15. Concentración promedio de AFM₁ en leche de acuerdo al tipo de conservación.

Conservación	Muestras	Media	EE	Intervalo de confianza		> LMP (%)
	(No.)	(ng/L)		Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Pasteurizada	140	31.9 ^a	± 1.18	30.4	33.5	14.29
Ultra pasteurizada	200	30.8 ^a	± 0.87	29.5	32.0	07.50
Total	340	31.3	± 0.71			10.29

>LMP = Mayores al Límite Máximo Permisible por la NOM-184-SSA1-2002: 50 ng/L.

^{a-b} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

9.1.5. Concentración de AFM₁ y las marcas comerciales.

Las concentraciones de AFM₁ (Tabla No. 16) entre las 27 marcas que se recolectaron resultaron con diferencias estadísticamente significativas ($P < 0.005$).

Las marcas que obtuvieron una mayor contaminación fueron Ags. 2 con 49.8 ± 9.63 ng/L, Edo. Méx. 3 con 41.8 ± 4.80 ng/L y N.L 2 con 41.1 ± 5.05 ng/L. La mayor cantidad de muestras que rebasaron el LMP fue Ags. 2 con el 50% de las muestras. De

acuerdo al análisis de independencia no se obtuvo una relación altamente significativa entre las marcas y LMP ($P > 0.05$).

Tabla 16. Concentración promedio de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada comercializada en el estado de Aguascalientes de acuerdo a las marcas que se recolectaron.

Marca	Muestras (No.)	Media (ng/L)	EE	Medianas (ng/L)	> LMP (%)
Ags. 3	4	49.8 ^a	± 9.63	49.7	50.0
Edo. Méx. 3	8	41.8 ^{abc}	± 4.80	42.0	25.0
N.L. 2	8	41.1 ^{abcde}	± 5.05	36.7	25.0
Dgo. 3	12	38.1 ^{abcde}	± 5.94	37.7	17.0
Edo. Méx. 1	30	37.0 ^{acde}	± 2.79	32.6	20.0
Ags. 6	48	36.9 ^{bdef}	± 1.81	34.6	19.0
Jal. 3	10	36.7 ^{abcdef}	± 1.62	34.6	00.0
Jal. 1	8	35.1 ^{acdefg}	± 5.87	34.9	25.0
Ags. 5	2	34.4 ^{defghij}	± 2.38	34.4	00.0
Dgo. 2	44	33.2 ^{bdef}	± 1.79	32.7	14.0
Hgo. 2	20	32.1 ^{efg}	± 2.93	30.6	10.0
Dgo. 4	14	29.7 ^{efgh}	± 3.62	23.7	14.0
Jal. 2	2	27.5 ^{acdefghijk}	± 0.15	27.4	00.0
Ags. 2	8	27.2 ^{fghij}	± 2.56	25.1	00.0
Hgo. 1	4	26.7 ^{hi}	± 7.57	27.2	00.0
Gto. 1	8	26.6 ^{fghij}	± 3.30	23.0	00.0
Jal. 4	22	26.4 ^{abd}	± 1.79	23.4	00.0
Gto. 2	28	25.4 ^{hij}	± 1.71	22.7	00.0
N.L. 1	4	24.3 ^{fghij}	± 2.98	24.0	00.0
Edo. Méx. 2	2	24.3 ^{acdfghij}	± 0.64	24.2	00.0
Dgo. 1	12	23.2 ^{hij}	± 1.76	21.6	00.0
Ags. 1	18	23.1 ^{hij}	± 0.91	22.3	00.0
N.L. 4	6	23.0 ^{acdefghij}	± 0.90	23.2	00.0
Ags. 4	4	20.2 ^{hij}	± 1.79	20.3	00.0
SLP 1	2	18.4 ^{ghij}	± 0.45	18.3	00.0
SLP 2	4	17.9 ^{hij}	± 1.07	18.4	00.0
N.L. 3	8	17.3 ^h	± 0.69	17.7	00.0
Total	340	31.3			

>LMP = Mayores al Límite Máximo Permisible por la NOM-184-SSA1-2002: 50 ng/L.

^{a-k} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

La prueba de Levene señaló que la varianza entre las marcas fue estadísticamente diferente, por lo que para verificar las comparaciones de las medias se realizó una comparación entre las medianas de las 27 marcas de leches pasteurizadas y ultra

pasteurizadas. En la Figura No. 12 se puede observar que las medianas de las marcas también fueron diferentes, lo cual fue corroborado por las pruebas de Mood y Kruskal-Wallis. Lo anterior corrobora que existió una diferencia significativa entre las marcas.



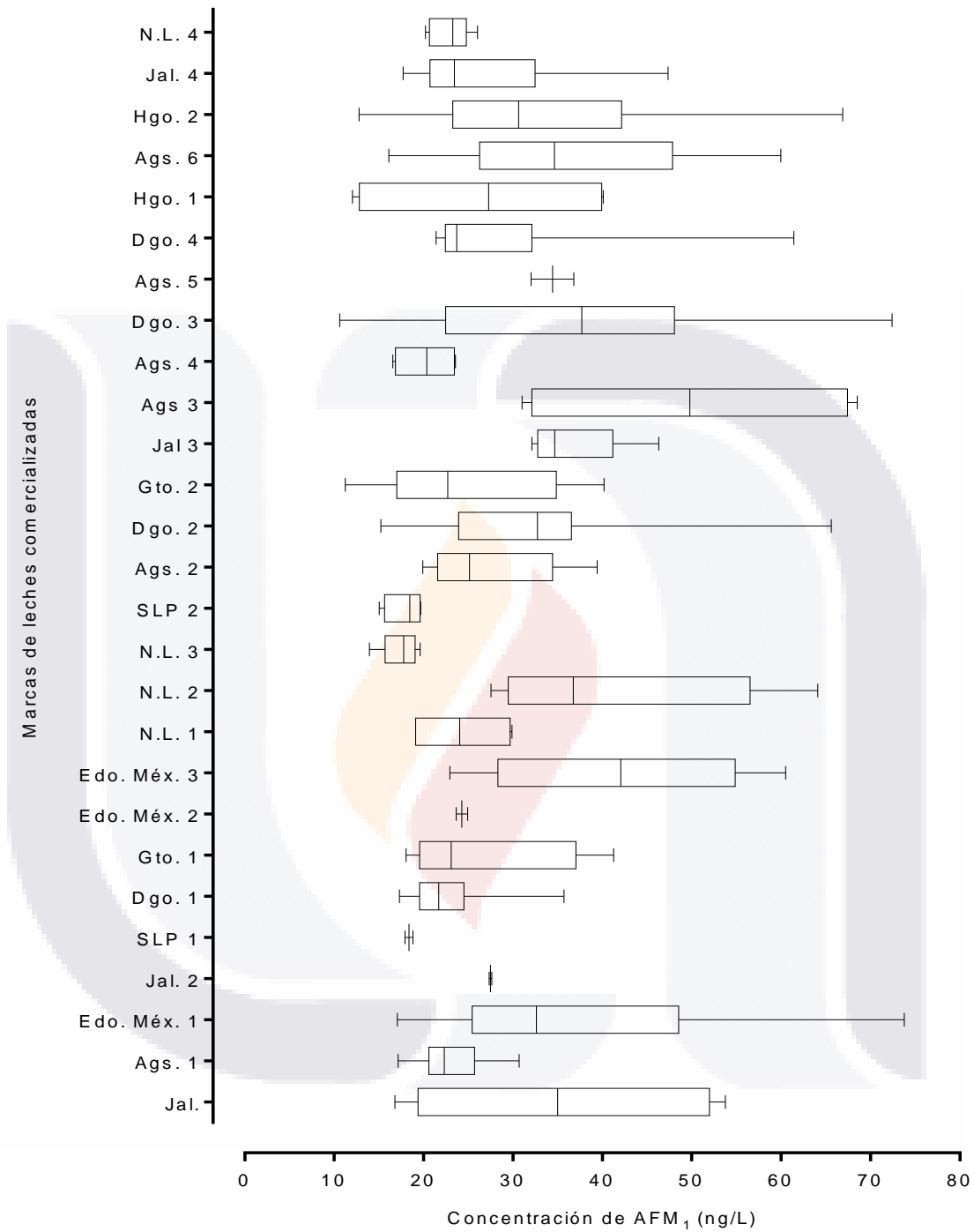


Figura 12. Concentración de AFM₁ de las 27 marcas comercializadas en el estado de Ags. En el esquema se muestran las medianas como una línea vertical en el centro de la caja, mientras que cada uno de los bigotes representa un cuartil de la distribución de la concentración de la AFM₁.

9.1.6 Concentración de AFM₁ de acuerdo al contenido de grasa en la leche.

En la siguiente tabla se observa que la cantidad de grasa presente en la leche no resulto influir en la concentración de AFM₁ (P>0.05). Tampoco se observó dependencia significativa (X²) entre el contenido de grasa en las muestras de leche y el LMP (P>0.05).

Tabla 17. Concentración promedio de AFM₁ en leche pasteurizada y ultra pasteurizada comercializada en el estado de Aguascalientes de acuerdo a los tipos de leche que se recolectaron (entera y ligera).

Tipo	Muestras	Media	EE	Intervalo de confianza		> LMP (%)
	(No.)	(ng/L)		Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Entera	214	31.4 ^a	± 0.89	30.2	32.7	10.8
Ligera	126	31.0 ^a	± 1.16	29.4	32.6	9.5
Total	340	31.3				10.3

>LMP = Mayores al Límite Máximo Permisible por la NOM-184-SSA1-2002: 50 ng/L.

^{a-b} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

10. DISCUSIÓN AFM₁

Pérez et al., (2008) encontraron una elevada presencia de AFM₁ en leche cruda, orgánica y ultra pasteurizada; encontrando concentraciones promedio de 18 µg/kg. Las medianas de AFM₁ que encontraron en muestras de leche cruda, ultra pasteurizada y orgánica fueron 16.21; 16.1 y 23.1 µg/Kg respectivamente. El porcentaje de muestras por encima del LMP fue menor en leche orgánica (20%) comparada con las leches crudas (50%) y ultra pasteurizadas (60%).

Un estudio más reciente, en el área metropolitana de Monterrey (México) se evaluó la presencia de AFM₁ en 84 muestras de leche líquida comercializadas, con diferentes tratamientos térmicos (26% pasteurizados y 74% ultra pasteurizadas) que fueron recolectados en diferentes puntos de venta, donde Quevedo et al., (2018) detectaron AFM₁, con valores entre 0.1 a 1.27 µg/L. El 39% de las muestras analizadas estaban fuera del LMP.

En contraste con nuestros resultados, Quevedo et al., (2018) si encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre la concentración de AFM₁ de acuerdo al tratamiento térmico. El 45% de las leches ultra pasteurizadas presentaron niveles por encima del LMP, siendo el proceso térmico que resulto con más contaminación por AFM₁.

Aunque la AFM₁ está ampliamente distribuida en todo el mundo, los resultados obtenidos en diferentes países difieren de manera importante. En esto caso, en Brasil, el límite AFM₁ establecido es de 0.5 µg/kg, De Oliveira et al., (2013) evaluaron la presencia de AFM₁ en 75 muestras de leche ultra pasteurizada comercializada en el área de Minas Gerais en Brasil recolectadas de julio a noviembre del 2009. Los resultados mostraron que el 30% de las muestras tenían niveles en un rango de 1 a 4.1 µg/L.

Por el contrario, Bilandžić et al., (2016) evaluaron 275 muestras de leche cruda recolectadas en febrero y marzo del 2015 en área de Bosnia y Herzegovina y Croacia, detectando un porcentaje muy bajo de las muestras (alrededor del 2%) por encima del límite de regulación de la UE (0.05 µg/L), que es más estricto que el límite establecido por FDA.

En China, Li et al., (2017), evaluaron muestras de leche pasteurizadas y ultra pasteurizadas, observando un 11.9% de muestras de leche ultra pasteurizada que excedieron el límite reglamentario en el país (0.5 µg/L). Ninguna de las muestras de leche pasteurizada excedió el LMP.

También hay estudios que coinciden con nuestros resultados, demostrado niveles elevados de AFM₁ en los meses de invierno en Irán, Pakistán, Turquía, China, Croacia y Serbia (Rahimi et al., 2010; Iqbal y Asi, 2013; Golge, 2014; Xiong et al., 2013; Bilandžić et al., 2014; Škrbić et al., 2014).

Un estudio parecido de Carvajal, M. et al., (2003) estudiaron la contaminación de AFM₁ en leches pasteurizadas y ultra pasteurizadas de diferentes marcas, estados, fechas de vencimiento y contenido de grasa. Donde coincidieron en que el proceso térmico de conservación (pasteurizada y ultra pasteurizada) y el contenido de grasa en la leche (entera y ligera) no influyeron ($P > 0.05$) en la contaminación de AFM₁ en la leche. De igual manera, llegaron a la conclusión de que existieron diferencias significativas entre las marcas que recolectaron ($P < 0.05$)

En cuanto al estado de origen de las leches, Carvajal, M. et al., (2003) encontraron que la probabilidad más alta de contaminación por AFM₁ ($> 0.5 \mu\text{g/L}$) se observó en la leche originaria del estado de Aguascalientes, seguido de los estados de Hidalgo, México, Querétaro, Jalisco, Chihuahua y por último el estado el estado de Durango. Nuestros resultados coincidieron en los primeros tres estados; las leches pasteurizadas y ultra pasteurizadas que provinieron del Estado de México, Aguascalientes e Hidalgo presentaron una mayor contaminación por AFM₁.

La estación del año que resulto con mayor presencia de AFM₁ en el estudio de Carvajal, M. et al., (2003), fueron las leches comercializadas en las estaciones templadas o cálidas del año ($P < 0.05$).

Por lo contrario, en nuestro estudio, las leches comercializadas que resultaron con mayor concentración de AFM₁ fueron en el mes de noviembre, que corresponde a la temporada de otoño.

11.RESULTADOS AF EN RTM

11.1. PRESENCIA DE AF TOTALES EN RTM

11.1.1. Distribución probabilística de la contaminación de RTM por AF

La contaminación de ingredientes que integraron las raciones totalmente mezcladas fue evidente, ya que el 100% de las muestras de leche analizadas tuvieron niveles detectables de AF totales, la concentración mínima detectada fue de 14.6, mientras que la máxima ascendió hasta 41.8 ($\mu\text{g}/\text{kg}$); la concentración media fue 26 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) con 95.0% de confianza, la media se encontró entre 25.3 y 26.7, con una desviación estándar de 5.1 y un coeficiente de variación de 19.6 %.

Una cantidad importante de muestras (97%) rebasaron el límite máximo permisible (LMP) establecido por la NORMA Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002 ($20 \mu\text{g}/\text{kg}$) mientras que el porcentaje restante no lo rebasó (Figura No. 13).

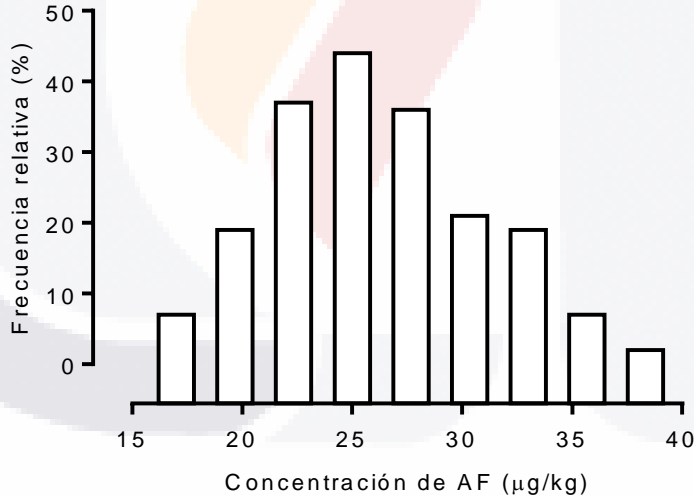


Figura 13. Distribución de la frecuencia de la concentración de AF totales en RTM destinada para consumo de vacas lechera.

11.1.2. Contaminación de la RTM de acuerdo con la marca comercial que adquiere la leche

Se observó una diferencia significativa entre las medias de concentración de AF totales en la RTM según el destino de la leche (marca) del establo ($P < 0.005$). Conforme la prueba protegida de Fisher se observaron cinco grupos significativamente diferentes entre la concentración media de AF.

De acuerdo al análisis de independencia (X^2) no se obtuvo una relación altamente significativa entre la contaminación de RTM del establo y el destino de la leche del establo de acuerdo a la marca ($P < 0.05$). Las raciones totalmente mezcladas que consumieron vacas cuya producción lechera fue destinada para la marca Jal. 4 fue la más contaminada, con una concentración media de AF totales de $31.0 \pm 1.07 \mu\text{g/kg}$ (Tabla No. 18).

Es importante resaltar que las RTM están con un promedio por encima del LMP ($20 \mu\text{g/kg}$), ya que esto puede sugerir que el alimento que consumen las vacas lecheras en el estado de Aguascalientes presentó un riesgo para la salud humana y animal.

Tabla 18. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo al destino de la leche (marca) producida en los establos muestreados el estado de Aguascalientes.

Marca	Muestras	Media	EE	Intervalo de confianza		> LMP (%)
	(No.)	($\mu\text{g/kg}$)		Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Jal. 4	6	31.0 ^a	± 1.07	26.1	32.9	100
Hgo. 2	4	30.3 ^{ab}	± 1.48	27.6	33.9	100
Dgo. 2	6	27.7 ^{abc}	± 1.65	22.1	32.8	100
Ags. 1	2	27.2 ^{abc}	± 0.80	26.3	28.0	100
Ags. 6	24	26.4 ^{bc}	± 0.70	20.7	32.6	100
Ags. 3	42	25.2 ^c	± 0.80	14.6	41.7	96
SLP 2	4	22.8 ^c	± 1.23	21.4	26.5	100
Ags. 7	2	22.2 ^c	± 1.12	21.0	23.3	100
Total	90	26.2	0.49			97

^{a-c} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

11.1.3. Contaminación de la RTM de acuerdo al destino geográfico de la leche

Se observó una diferencia altamente significativa ($P < 0.005$) entre la concentración media de AF totales de acuerdo al destino geográfico de la producción lechera del establo. Las raciones totalmente mezcladas que consumieron vacas cuya producción lechera fue destinada para el estado de Hidalgo y Jalisco fueron las más contaminadas (Tabla No. 19).

Conforme la prueba protegida de Fisher, se observaron tres grupos diferentes en la concentración media de AF totales. De acuerdo al análisis de independencia (X^2) no se obtuvo una relación altamente significativa entre el destino geográfico de la leche y LMP ($P > 0.05$).

Tabla 19. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo al destino geográfico de la leche producida en los establos muestreados el estado de Aguascalientes.

Destino geográfico de la leche	Muestras (No.)	Media ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	EE	Intervalo de confianza		> LMP (%)
				Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Hgo.	4	30.3 ^a	± 1.48	27.6	33.9	100
Jal.	8	30.1 ^a	± 1.01	26.2	33.0	100
Dgo.	4	26.7 ^{ab}	± 2.25	22.2	32.9	100
Ags.	68	25.7 ^b	± 0.56	14.7	41.8	96
SLP	6	22.6 ^b	± 0.84	21.1	23.3	100
Total	90	26.2	± 0.49			

^{ab} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

11.1.4. Contaminación de la RTM de acuerdo a la procedencia de los insumos

En la siguiente figura se puede apreciar la interacción de los estados que participaron con insumos agrícolas para conformar las raciones totalmente mezcladas que consumieron las vacas de los establos ubicados en el estado de Aguascalientes.

Todas las muestras contenían ingredientes provenientes de Aguascalientes donde hubo interacción con los 5 estados registrados. En el caso de S.L.P, Zac, Gto, y Jalisco se observó una interacción entre los ingredientes. Mientras que en el caso de Michoacán solo se observó interacción con el estado de Jalisco y Aguascalientes.

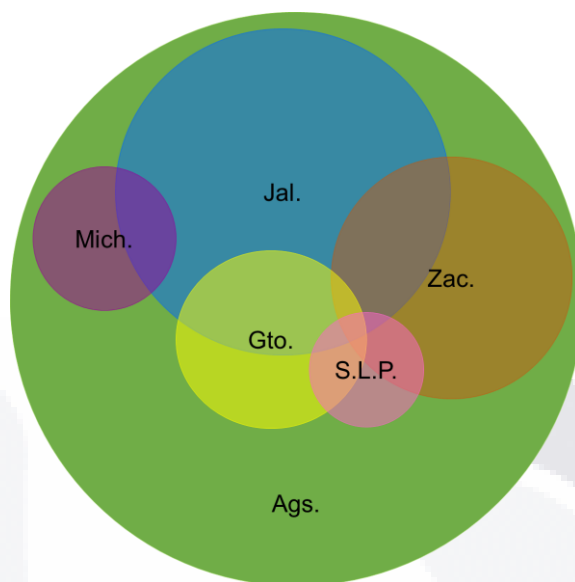


Figura 14. Interacción de los estados de acuerdo al origen de los insumos que conformaron las raciones totalmente mezcladas

De acuerdo al análisis de varianza (Tabla No. 20), solo hubo una diferencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre la contaminación de los insumos que provinieron del estado de San Luis Potosí. Para el estado de Jalisco se observó una dependencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre los insumos que proviene de este estado y la contaminación de aflatoxinas totales.

Tabla 20. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo a la procedencia geográfica de los insumos.

Estado	UPL	AF		DE	LMP
		$\mu\text{g}/\text{kg}$	\pm		%
Aguascalientes	200	26.0 ^b	\pm	0.5	89.9
Jalisco	106	26.1 ^b	\pm	0.4	95.3
Zacatecas	82	26.0 ^b	\pm	0.4	93.3
Guanajuato	8	26.0 ^b	\pm	0.4	100
San Luis Potosí	2	38.6 ^a	\pm	3.1	100
Michoacán	4	25.6 ^b	\pm	2.2	100

^{a-b} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.

11.1.5. Contaminación de la RTM de acuerdo al mes de recolección

Las muestras de ración total mezclada se recolectaron en los meses de agosto, septiembre, octubre, noviembre del 2018 y enero del 2019. No se obtuvieron diferencias significativas ($P>0.05$) entre la concentración media de AF totales y en mes de recolección (Tabla No. 21). Según la prueba protegida de Fisher se diferenciaron 3 grupos diferentes, entre los cuales se destaca en mes de enero, ya que el 100% de las muestras correspondientes a este mes se encontraron por encima del LMP (20 $\mu\text{g}/\text{kg}$). No se encontró una dependencia significativa entre la concentración de AF totales en la RTM y el periodo de recolección ($P>0.05$).

Tabla 21. Concentración promedio de AF totales en RTM de acuerdo al mes de recolección.

Mes de recolección	Muestras (No.)	Media ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	EE	Intervalo de confianza		> LMP (%)
				Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Agosto	60	25.7 ^{ab}	± 0.66	24.8	26.7	90.0
Enero	14	23.9 ^b	± 1.36	22.0	25.8	85.7
Noviembre	10	28.3 ^a	± 1.61	26.1	30.5	100
Octubre	76	26.1 ^{ab}	± 0.58	25.3	27.0	96.1
Septiembre	38	26.1 ^{ab}	± 0.823	25.0	27.3	81.6
Total	198	26.0				90.9

^{a-b} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AF₁ por estado.

LMP = Límite máximo permisible de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002

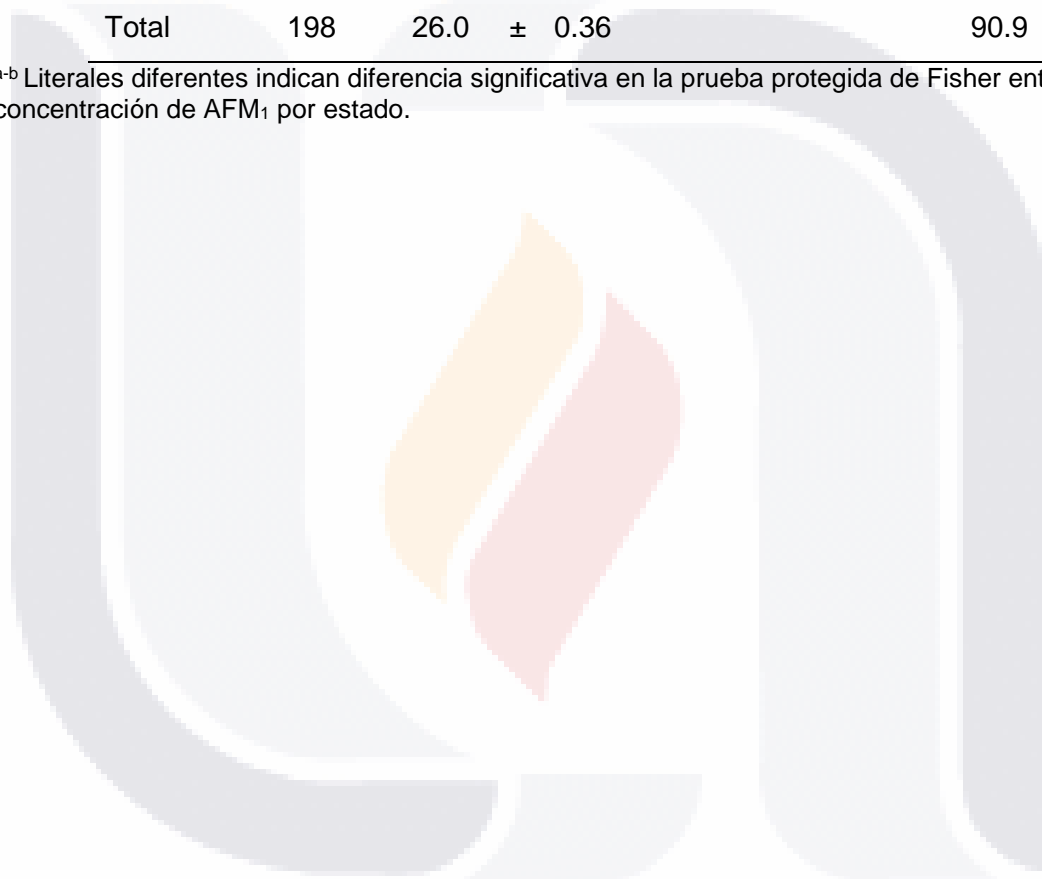
11.1.6. Contaminación de la RTM de acuerdo con el destino de la producción lechera: queso y leche fluida (pasteurizada o ultra pasteurizada)

La ración que consumieron las vacas lecheras que proveyeron a la industria quesera no mostraron una concentración promedio de AF semejante ($P>0.05$) a la que se encontró en la RTM que consumieron las vacas cuya leche se destinó a la pasteurización y venta como leche fluida (Tabla 22). Sin embargo, la proporción de muestras de RTM, cuya leche se destinó a la pasteurización, superó el LMP en una proporción significativamente mayor a la proporción de muestras de RTM que se destinó a la industria quesera (X^2 , $P<0.05$).

Tabla 22. Comparación de la concentración de aflatoxinas totales en la ración total mezclada de acuerdo con el destino de la producción lechera: queso y leche fluida (pasteurizada o ultra pasteurizada)

Producto	Muestras (No.)	Media (ng/L)	EE	Intervalo de confianza		> LMP (%)
				Lim. Inf.	Lim. Sup.	
Leche	90	26.2 ^a	± 1.18	25.4	26.9	96.7
Queso	180	25.8 ^a	± 0.87	25.1	26.5	86.1
Total	198	26.0	± 0.36			90.9

^{a-b} Literales diferentes indican diferencia significativa en la prueba protegida de Fisher entre la concentración de AFM₁ por estado.



12. DISCUSIÓN AF EN RTM

Las aflatoxinas en los productos agrícolas son un riesgo para la salud de la población en México, ya que es uno de los mayores consumidores de maíz (Elias Orozco R. et al., 2002). 6 millones de toneladas de maíz se importan anualmente. La manera de almacenamiento del maíz no es eficiente y no hay un registro regular de la contaminación con aflatoxinas (Guzmán de Peña et al., 2005).

En México son escasos los estudios acerca de la contaminación natural por aflatoxinas en los alimentos destinados para consumo de vacas lecheras. Los resultados de este estudio pueden compararse con los resultados descritos por Reyes et al., (2009) sobre el alimento de los establos productores de leche de la región de los Altos y Ciénega (Jalisco) donde detectaron aflatoxinas en el 92.5 % de las raciones (media = 10.84 ± 5.84 $\mu\text{g kg}$). Solo el 9.3 % presentaron niveles superiores al permitido por la legislación en México. En contraste con nuestro estudio, el 97% de las muestras rebasaron el LMP, lo que sugiere que actualmente, en el estado de Aguascalientes, existe una alta contaminación de los productos agrícolas por AF, así como un alto riesgo de salud pública y animal.

Otro estudio en el Altiplano Central Mexicano, realizado por Valdivia et al., (2016) analizaron muestras de RTM con secuestrante, donde el 99% presentó contaminación por AF, donde la media de concentración de AF fue alrededor de 12 $\mu\text{g/kg}$ de AF totales en la RTM.

Lo anterior sugiere que la adición de compuestos secuestrantes a la dieta tiene alto potencial de reducir significativamente la concentración biodisponible de aflatoxinas totales en la ración total mezclada, ya que, si comparamos estos resultados con los de este estudio, se puede observar que las RTM sin adición de secuestrante aumentaron hasta el 50% de AF (media de 26 $\mu\text{g/kg}$), lo cual está por encima del LMP (20 $\mu\text{g/kg}$)

Los resultados anteriores pudieran sugerir que cuando se le agrega secuestrantes a la RTM puede reducir significativamente la concentración de AF en la dieta de ganado lechero. Por consecuencia se logra disminuir la cantidad de metabolitos secundarios en los productos de origen animal destinados para consumo humano, como lo es la leche.

En países tropicales, sequía y condiciones semiáridas a áridas están relacionados a la contaminación, donde, con frecuencia, existen los productos agrícolas contaminados

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

con aflatoxinas. En tales regiones, los patrones climáticos pueden conducir a aflatoxicosis agudas y muertes. Lewis et al., (2005).

Guan, s. et al., (2011) analizaron un total de 83 muestras de RTM e ingredientes que conforman las raciones mezcladas, colectadas en noviembre del 2008 a mayo del 2009, en total, un 38.20% de las muestras dieron positivo a AFB₁. El nivel más alto que reportaron fue 160.9 µg/kg en una muestra de maíz de la región noreste.

En general, todos los cultivos y cereales que se almacenan incorrectamente a temperatura favorable y las condiciones de humedad durante un tiempo prolongado pueden estar sujetas a crecimiento de moho y contaminación por aflatoxinas. Se considera que el maíz es el cultivo más susceptible a la contaminación por *A. flavus*, en almacenamiento y en campo, cuando los conidios que habitan en el suelo son transportados por aire a la planta de maíz, en condiciones ambientales adecuadas, pueden ocurrir infecciones de mazorcas de maíz.

13.CONCLUSIONES

1. El presente estudio reveló la existencia de la contaminación por aflatoxinas en el estado de Aguascalientes; AF presentes en RTM y AFM₁ presente en leche comercializada, lo cual evidencia que existe riesgo en el consumo de estas micotoxinas, tanto en el sector agropecuario como en el sector de salud pública.
2. Se registró una mayor evidencia de contaminación en las raciones totalmente mezcladas para consumo de vacas lecheras, con un 97% de las muestras por encima del LMP, establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002 (20 µg/kg).
3. El 10.3% de las muestras de leche comercializada rebasó el LMP establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002 (50 ng/L); sin embargo, el 100% de las muestras analizadas sobrepasarían el límite permitido por la normativa europea.
4. Las leches que provinieron de los estados de México y Aguascalientes tuvieron un porcentaje mayor de muestras que rebasaban el porcentaje promedio general (31.3 ng/L).
5. Los problemas de contaminación por AFM₁ en la leche fueron más intensos en periodo verano-otoño.
6. Los diferentes procesos térmicos, como pasteurización y ultra pasteurización a los que se sometieron las muestras de leche no influyeron en la contaminación por AFM₁.
7. No hubo relación entre las marcas comerciales y la contaminación de AFM₁. Sin embargo, si existió diferencia entre las concentraciones de AFM₁ y las marcas de las leches. La marca que obtuvo una mayor contaminación provenía del estado de Aguascalientes con una media de 49.8 ng/L.
8. La cantidad de grasa presente en la leche no resulto influir en la concentración de AFM₁.
9. No se obtuvo una relación altamente significativa entre la contaminación de RTM del establo y el destino de la leche del establo de acuerdo a la marca.
10. No se obtuvo una relación altamente significativa entre el destino geográfico de la leche y LMP.

11. Para el estado de Jalisco se observó una dependencia estadísticamente significativa ($P < 0.05$) entre los insumos que proviene de este estado para las raciones totalmente mezcladas y la contaminación de aflatoxinas totales.
12. El mes de recolección de la RTM no influyó en la contaminación por AF.
13. La proporción de muestras de RTM, cuya leche se destinó a la pasteurización, superó el LMP en una proporción significativamente mayor a la proporción de muestras de RTM que se destinó a la industria quesera.
14. Si bien los agricultores implementan la adición de secuestrante en alimentos para consumo de vacas lecheras, no siempre se implementa ésta actividad de manera adecuada, lo que conlleva a resultados no favorecedores en productos agropecuarios finales como lo es la leche.
15. Las normas que establecen los límites máximos permisibles en el mundo para la regulación de AFM_1 en leche para consumo humano varían en un rango muy amplio, se desconoce qué aspectos se toman en cuenta para el establecimiento de determinada concentración de AFM_1 en la leche.
16. Si bien existen normas que establecen los LMP para micotoxinas, no existen entidades que regulen y comprueben que los productos cumplan con los LMP.
17. Es de suma importancia buscar e implementar estrategias para mitigar la exposición a las aflatoxinas.

14. ALCANCE POTENCIAL DE LOS OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO

14.1. Objetivo específico 1

La cuantificación de aflatoxinas totales en RTM traerá consigo un panorama actual y regional sobre la contaminación por aflatoxinas que presenta el alimento destinado para consumo de vacas lecheras del estado de Aguascalientes. También se logrará realizar una base de datos, la cual contendrá información sobre las explotaciones de las cuales se obtendrá la RTM. De las muestras que se obtengan, no solo se podrá cuantificar AF totales, se tendrá la posibilidad de realizar otros estudios, afines o de diferente índole, con lo cual se beneficiará más comunidad estudiantil, docente y regional.

14.2. Objetivo específico 2

Identificar la relación que existe entre la contaminación por AF en RTM y la procedencia de los insumos, así como la estación del año nos ayudará a identificar ciertas características que nos indicaran los focos rojos que se deben atender, ya que nos indican si existe impacto de estas variables en la presencia de AF en RTM.

14.3. Objetivo específico 3

La cuantificación de AFM_1 en leche comercializada en los supermercados de Aguascalientes para consumo humano tendrá un alcance nacional, ya que este estudio revelará que niveles de AFM_1 están presentes en marcas que se consumen no solo al nivel regional, si no al nivel nacional. Ya que las leches obtenidas tendrán orígenes de diferentes estados de la república mexicana, elaboradas en distintas empresas.

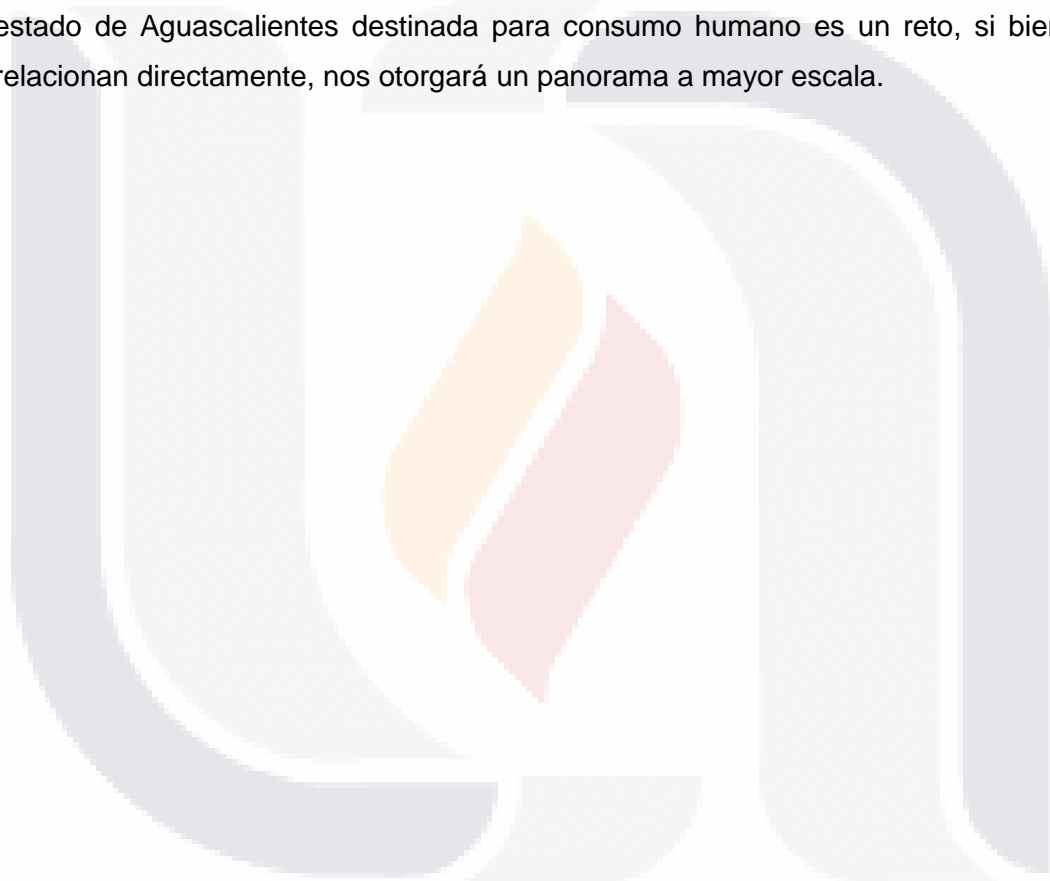
14.4. Objetivo específico 4

Identificar la relación que existe entre la contaminación por AFM_1 en leche comercializada y el periodo de muestreo, origen geográfico de la leche, tipo de conservación, marca

comercial y contenido de grasa en leche nos ayudará a identificar ciertas características que nos indicaran los focos rojos que se deben atender, ya que nos indican si existe impacto de estas variables en la presencia de AFM₁ en leche comercializada.

14.5. Objetivo específico 5

Identificar las relaciones que existen entre la contaminación por AF en RTM que consume el ganado lechero en el estado de Aguascalientes y la leche que se comercializa en el estado de Aguascalientes destinada para consumo humano es un reto, si bien no se relacionan directamente, nos otorgará un panorama a mayor escala.



15. IMPACTO POTENCIAL DE LOS RESULTADOS

15.1. Impacto Científico

La colaboración científica que aportará el estudio es la actualización y el aporte de datos sobre la contaminación por aflatoxinas totales en RTM y el metabolito secundario (AFM₁) en leche comercializada en el estado de Aguascalientes ya que la información es escasa, lo que al nivel regional es de importancia, por la gran actividad lechera que se presenta a nivel estatal.

15.2. Impacto Tecnológico

La tecnología que se empleará para la obtención de los resultados es de suma importancia para este proyecto, si bien no se aportará técnicas de innovación para procesar las muestras o para la obtención de datos, se podrá dar a conocer los procedimientos empleados y el equipo con los que se realizará proyecto.

15.3. Impacto Social

Con los resultados del proyecto se tiene el propósito de hacerle llegar a la comunidad por diferentes medios la información de esta problemática, con el fin de que toda la población que participa en la cadena productiva lechera sea capaz de tomar buenas decisiones y así mejorar las prácticas pecuarias. Que el consumidor se entere de la presencia de aflatoxinas en los alimentos, y los daños que provoca a la salud.

15.4. Impacto Económico

Las pérdidas de productos agrícolas por la contaminación por micotoxinas son del 25% a nivel mundial. El proyecto pretende colaborar con la identificación de factores que atribuyen a la presencia de las aflatoxinas en los productos agrícolas destinados para consumo de vacas lecheras, con lo cual se puede evitar que esta contaminación progrese hasta el desecho del producto agrícola.

15.5. Impacto Ambiental

El hongo del género *Aspergillus* es un habitante natural del suelo. Es por esto que es difícil controlar la contaminación directa o indirecta por aflatoxinas en los alimentos. Si bien existen alternativas para el control biológico, es importante conocer qué tipo de micotoxinas están presentes en los alimentos, con lo cual se tendrá un panorama actual sobre la presencia de los hongos toxicológicos presentes en la región.



GLOSARIO

Gamma-glutamyltranspeptidasa (GGT). Enzima que cataliza la transferencia de una porción de gamma-glutamil de glutatión a un aceptor que puede ser un aminoácido, un péptido o una molécula de agua. Juega un papel importante en el ciclo de la gamma-glutamil, una vía para la síntesis y degradación de glutatión y desintoxicación de drogas y xenobióticos.

Genotoxicidad. Capacidad para causar daño al material genético; el daño puede ser tipo mutágeno o carcinógeno.

Glutatión reducido (GSH). Tripéptido no proteínico; es un antioxidante cuya función es la de mantener la estabilidad de la membrana, reducir los factores de estrés oxidativo y las especies de oxígeno reactivas que se producen a partir del proceso de peroxidación de lípidos.

Hepatotóxico. Sustancia nociva para las células del hígado.

Isoenzimas (isoformas). Enzimas en un organismo que catalizan la misma reacción, pero difieren en estructura; estas diferencias pueden tener un rango de uno a varios residuos de aminoácidos.

Metabolito. Cualquier producto intermedio o final resultante del metabolismo. Término relacionado. biotransformación.

Micotoxina. Metabolito secundario tóxico, de composición variada, producidos por organismos del reino fungi; suele referirse a sustancias tóxicas producidas por hongos que afectan a animales vertebrados en bajas concentraciones.

Mutagénico. Cualquier sustancia que puede inducir cambios heredables (mutaciones) en el genotipo de una célula como consecuencia de alteraciones o de pérdida de genes o de cromosomas o de parte de los mismos. Perturba a la secuencia de bases del ADN y causa

una mutación; con frecuencia son químicos, pero pueden también ser fuentes de energía tales como la luz ultravioleta.

Neurotóxico. Sustancia nociva para las células de los riñones.

Teratogénico. Agente que por administración a la madre en periodo prenatal induce malformaciones estructurales o defectos en la descendencia.

Toxicidad. Capacidad para producir daño a un organismo vivo, en relación con la cantidad o dosis de sustancia administrada o absorbida, la vía de administración y su distribución en el tiempo (dosis única o repetidas), tipo y severidad del daño, tiempo necesario para producir éste, la naturaleza del organismo afectado y otras condiciones intervinientes.

Transferasas de glutatión. Familia de isoenzimas mejor conocidas por su capacidad para catalizar la conjugación de la forma reducida del glutatión a sustratos xenobióticos para el propósito de la detoxificación.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, G. N. (2006). *Fitopatología Agraria*. 2a edición. Editorial Limusa: México.
- Ahlberg, S. Grace, D. Kiarie, G. Kirino, Y. & Lindahl, J. (2018). A risk assessment of aflatoxin M₁ exposure in low and mid-income dairy consumers in Kenya. *Toxins*, 10, 348.
- Alahlah, N. El Maadoudi, M. Bouchriti, N. Triqui, R. & Bougtaib, H. (2020). Aflatoxin M₁ in UHT and powder milk marketed in the northern area of Morocco. *Food control*, 114, 107262.
- Allocati, N. Masulli, M. Di Ilio, C. and Federici, L. (2018). Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases. *Oncogenesis*, 7: 8-15.
- Al-Mossawei, M. Al-Zubaidi, L. Hamza, I. & Abduljaleel, S. (2016). Detection of AFM₁ in Milk and Some Dairy Products in Iraq using different techniques. *Adv. Life Sci. Technol*, 41, 74-81.
- Andrea, C. Juan, José H. and María Cristina, N. (2014) Exposición a aflatoxina: un problema de salud pública. *Latreia* 27:42-52.
- Anfossi, L. Giovannoli, C. Baggiani, C. (2016). Mycotoxin detection. *Current Opinions in Biotechnology*, 37:120-126. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2015.11.005>
- Anthony, M. Ojochenemi, A. Mulunda, M. Oriyomi, S. Jideofor, N. Tunde, O. & Isah, A. (2016). Aflatoxin M₁ in breast milk, cow milk and milk products in Minna, Nigeria and their predisposing factors. *Biochemistry & analytical biochemistry*, 5, 1-6.
- Asghar, M. Ahmed, A. & Asghar, M. (2018). Aflatoxin M₁ in fresh milk collected from local markets of Karachi, Pakistan. *Food additives & contaminants: part B*, 11, 167-174.
- Asi, R.M., Iqbal, S.Z., Ariño, A., Hussain, A. (2012): Effect of seasonal variations and lactation times on aflatoxin M₁ contamination in milk of different species from Punjab, Pakistan, *Food Control* 25, 34-38. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.10.012
- Barikbin, B. Allahresani, A. Khosravi, R. & Khodadadi, M. (2015). Detection of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Iran. *Health Scope*, 4(1). DOI : [10.17795/jhealthscope-18925](https://doi.org/10.17795/jhealthscope-18925)
- Battacone, G. Nudda, A. Cannas, A. Cappio Borlino, A. Bomboi, G. and Pulina, G. (2003). Excretion of aflatoxin M₁ in milk of dairy ewes treated with different doses of aflatoxin

- B₁. *Journal of Dairy Science*, 86:2667-2675. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73862-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73862-4).
- Bilandžić, N. Varenina, I. Kolanović, B. Božić, D. Dokić, M. Tanković, S. Potočnjak, D. Cvetnić, Z. (2016). Monitoring of Aflatoxin M₁ in Raw Cow Milk in Croatia during Winter 2015. *Food Control* 54: 331-337
- Bilandžić, N., Božić, Đ., Đokić, M., Sedak, M., Solomun Kolanović, B., Varenina, I., Tanković, S., Cvetnić, Ž. (2014): Seasonal effect on aflatoxin M₁ contamination in raw and UHT milk from Croatia, *Food Control* 40, 260-264. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.12.002
- Blanco, M. C. M. C., & Castro, A. B. S. (2007). El muestreo en la investigación cualitativa. *Nure investigación*, 27:1-4.
- Bogantes, P. Bogantes, D. Bogantes, S. (2004). Revisión Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*. 46:174-178
- Bucio, V., Guzmán de P., & Peña, C. (2001) Aflatoxin synthesis in corn fields in Guanajuato, Mexico. *Iberoam Micol* 18:83-87.
- Campone, L. Piccinelli, A. Celano, R. Pagano, I. Di Sanzo, R. Carabetta, S. & Rastrelli, L. (2018). Occurrence of aflatoxin M₁ in milk samples from Italy analysed by online-SPE UHPLC-MS/MS. *Natural product research*, 32, 1803-1808.
- Carnaghan, R. Sargeant, K. (1961). The toxicity of certain groundnut meal for poultry with special reference to their effect on duckings and chickens. *Veterinary Record*, 73:1215-1219.
- Carvajal, M. (2013). Transformación de la aflatoxina B₁ de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB 1-ADN. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 16(2), 109-120.
- Chilaka, C. De Boevre, M. Atanda, O. De Saeger, S. (2017). The status of Fusarium mycotoxins in sub-saharan Africa: a review of emerging trends and post-harvest mitigation strategies towards food control. *Toxins* 9:19. <https://doi.org/10.3390/toxins9010019>
- contamination of food in Mexico. *Rev Lat Microbiol* 47:160-164.
- Conteçotto, A. Pante, G. Castro, J. Souza, A. Lini, R. Romoli, J. & Junior, M. (2021). Occurrence, exposure evaluation and risk assessment in child population for aflatoxin M₁ in dairy products in Brazil. *Food and Chemical Toxicology*, 148, 111913.

- Daou, R. Afif, C. Joubrane, K. Khabbaz, L. Maroun, R. Ismail, A. & El Khoury, A. (2020). Occurrence of aflatoxin M₁ in raw, pasteurized, UHT cows' milk, and dairy products in Lebanon. *Food control*, 111, 107055.
- Dawit, G. Barbara, S. Azage, T. Jean, H. Delia, G. (2016). Aflatoxin contamination of milk and dairy feeds in the greater addis ababa milk shed, ethiopia. *Food Control* 59:773-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.060>.
- De Oliveira, C. P., Soares, N. D. F. F., de Oliveira, T. V., Júnior, J. C. B., & da Silva, W. A. (2013). Aflatoxin M₁ occurrence in ultra-high temperature (UHT) treated fluid milk from Minas Gerais/Brazil. *Food control*, 30:90-92.
- De Roma, A., Rossini, C., Ritieni, A., Gallo, P., & Esposito, M. (2017). A survey on the Aflatoxin M₁ occurrence and seasonal variation in buffalo and cow milk from Southern Italy. *Food Control*, 81, 30-33.
- Diagnóstico Sectorial del Estado de Aguascalientes (2010). *Informe final del Diagnóstico Sectorial*. Aguascalientes, mayo del 2010. Pág. 30.
- Dohnal, V. Qinghua, W. and Kamil K. (2014). Metabolism of aflatoxins: key enzymes and interindividual as well as interspecies differences. *Archives of Toxicology* 88:1635-44. DOI 10.1007/s00204-014-1312-9
- Dommarco, J. López, N. Aburto, T. Pedraza, L. Sánchez, T. (2014). Consumo de productos lácteos en la población mexicana resultados de la encuesta nacional de salud y nutrición. *Instituto Nacional de Salud Pública*. 1a edición. 2012.
- Eaton, D. L., and Gallagher, E. P. (1994). Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 34:135-172. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.34.040194.001031>
- Elias Orozco, R., Castellanos-Nava, A., Gaytan-Martinez, M., Figueroa-Cárdenas, J. D., & Loarca-Pina, G. (2002). Comparison of nixtamalization and extrusion processes for a reduction in aflatoxin content. *Food Additives & Contaminants*, 19(9), 878-885.
- Evaluación alianza para el campo (2006). *Informe de evaluación estatal*. Aguascalientes, México. Septiembre del 2006.
- Fallah, A. Barani, A. & Nasiri, Z. (2015). Aflatoxin M₁ in raw milk in Qazvin Province, Iran: a seasonal study. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 8, 195-198.
- Fallah, A. Fazlollahi, R. & Emami, A. (2016). Seasonal study of aflatoxin M₁ contamination in milk of four dairy species in Yazd, Iran. *Food Control*, 68, 77-82.

- Fallah, A.A., Rahnama, M., Jafari, T., Saei-Dehkordi, S.S. (2011). Seasonal variation of aflatoxin M₁ contamination in industrial and traditional Iranian dairy products, *Food Control* 22, 1653-1656. doi: 10.1016/j.foodcont.2011.03.024
- FAO e IFI (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.
- FAOSTAT (2019). Producción mundial de leche. Tomado el 28 de enero del 2019 de <http://www.fao.org/faostat/es/#home>
- Fernando, J. J. Ana Rosa, R. S. y Roberto, Rico M. (2009). Contaminación natural y accidental de los alimentos. *Toxicología ambiental*. Editorial: DGDU. México.
- Food and Agriculture Organization. (2003) Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. *Estudio Fao: Alimentación y Nutrición*. Roma, Italia.
- Food and Agriculture Organization. (2007). El impacto de los piensos en la inocuidad de los alimentos. *Informe de la Reunión Conjunta FAO/OMS de Expertos*. FAO, Roma, 8-12 de octubre de 2007.
- Food and Drug Administration (2005). CPG Sec. 527.400 whole milk, lowfat milk, skim milk–Aflatoxin M₁. Silver Spring, MD: U.S. Food and Drug Administration.
- Fortnum, B. A. (1987). Effect of environment on aflatoxin development in preharvest maize. In *US Universities-CIMMYT Maize Aflatoxin Workshop, El Batán, Mexico (Mexico)*, 7-11 Apr 1987. CIMMYT.
- Gimeno, A. (2004). Aflatoxina M₁ En La Leche. Riesgos Para La Salud Pública, Prevención y Control. *Associação portuguesa dos Industriais de Alimentos Compostos para Animais (IACA), Alimentação Animal* 49: 32-44. http://www.adiveter.com/ftp_public/articulo1790.pdf.
- Gizachew, D., Hsu, Y. C., Szonyi, B., & Ting, W. T. E. (2019). Effect of water activity, temperature, and incubation period on fungal growth and ochratoxin A production on Nyjer seeds. *Mycotoxin research*, 35(1), 1-8.
- Golge, O. (2014): A survey on the occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk produced in Adana province of Turkey, *Food Control* 45, 150-155. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.04.039
- Granados Chinchilla, F., Molina, A., Chavarría, G., Alfaro-Cascante, M., Bogantes-Ledezma, D., & Murillo-Williams, A. (2017). Aflatoxins occurrence through the food

- chain in Costa Rica: Applying the One Health approach to mycotoxin surveillance. *Food control*, 82, 217-226.
- Guan, S., Gong, M., Yin, Y., Huang, R., Ruan, Z., Zhou, T., & Xie, M. (2011). Occurrence of mycotoxins in feeds and feed ingredients in China. *J Food Agric Environ*, 9:163-167.
- Guzmán de Peña, D. (2007). La Exposición a la aflatoxina B₁ en animales de laboratorio y su significado en la salud pública. *Salud Pública de Mexico* 49: 227-35.
- Guzmán de Peña, D. Aguirre, J. Ruiz, J. (1998). Regulation of mycotoxins biosynthesis during sporulation of *Aspergilli*. *Mycotoxins and phycotoxin Development in chemistry, toxicology and food safety*. Editorial: Miraglia M. USA; 321-26. 4.
- Guzmán de Peña, D., & Peña Cabriales, J. J. (2005). Regulatory considerations of aflatoxin contamination of food in Mexico. *Rev Latinoam Microbiol*, 47(3-4), 160-164.
- Hadassa Yuef, M. Sanjuana, H. César Augusto, R. y Gricelda, V. (2013). El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México: problemática y perspectivas. *Revista mexicana de fitopatología* 31:126-46. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000200005.
- Hansen, J., Sato, M., & Ruedy, R. (2012). Perception of climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109:2415-2423.
- Hashemi, M. (2016). A survey of aflatoxin M₁ in cow milk in Southern Iran. *Journal of food and drug analysis*, 24, 888-893.
- Henderson, C. and Roland W. (2011). Knockout and transgenic mice in glutathione transferase research. *Drug Metabolism Reviews* 43:152-64. <https://doi.org/10.3109/03602532.2011.562900>.
- Hernandez, V. Valdivia, F. Cruz, V. Martínez, S. Quezada, T. Rangel, M. & Jaramillo, J. (2020). Diagnosis of Subclinical Aflatoxicosis by Biochemical Changes in Dairy Cows under Field Conditions.
- Hsieh, D. Wong, J. (1994). Pharmacokinetics and excretion of aflatoxins. *The Toxicology of Aflatoxins: Human health, veterinary, and agricultural significance*. 73-88.
- IARC, International Agency for Research on Cancer 1993. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human. IARC Lyon, France, Vol. 56.

- IARC, International Agency for Research on Cancer. 2002. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, vol. 82. Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans II, Press Lyon France.
- INEGI (2019) Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadísticas del sector lácteo 2010-2019. <http://www.canilec.org.mx/estadisticas%20lacteos%202019.pdf>
- INFOSIAP (2017). Producción nacional láctea. Tomado el 10 de febrero del 2019 de <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- Iqbal, S. Asi, M. & Malik, N. (2017). The seasonal variation of aflatoxin M₁ in milk and dairy products and assessment of dietary intake in Punjab, Pakistan. *Food Control*, 79, 292-296.
- Iqbal, S. Z., Asi, M. R., & Jinap, S. (2014). Aflatoxins in dates and dates products. *Food Control*, 43, 163–166.
- Iqbal, S.Z., Asi, M.R. (2013): Assessment of aflatoxin M₁ in milk and milk products from Punjab, Pakistan, *Food Control* 30, 235-239. doi: 10.1016/j.foodcont.2012.06.026
- Jiang, D. Ling, Z. Ni-Ya, Z. Niel Alexander, K. Christopher Steven, K. De-Sheng, Q. Lv-Hui, S. (2018). Aflatoxin B₁ metabolism: regulation by phase I and II metabolizing enzymes and chemoprotective agents. *Mutation Research* 778:79-89. DOI 10.1016/j.mrrev.2018.10.002
- Jianglin, X. Lili, X. Hualin, Z. Yulan, L. Lingying W. (2018). Occurrence of aflatoxin B₁ in dairy cow feedstuff and aflatoxin M₁ in UHT and pasteurized milk in Central China. *Food Control* 92:386-90. DOI 10.1016/j.foodcont.2018.05.022
- Jiujiang, Y. Perng-Kuang, Ch. Kenneth, E. Jeffrey, C. Deepak, B. Thomas, C. Gary, P. John, L. Charles, W. Joan, B. (2002). Genes de la vía agrupada en la biosíntesis de aflatoxinas. *Applied Environmental Microbiology*. 70:1253-1262. doi: 10.1128/AEM.70.3.1253-1262.2004
- Judah, D. John D. Ji-Chun, Y. Lu-Yun, L. Gordon C. Peter B. John H. and Gordon E. (2015). A Novel aldehyde reductase with activity towards a metabolite of aflatoxin B₁ is expressed in rat liver during carcinogenesis and following the administration of an anti-oxidant. *Biochemical Journal* 292:13-18. DOI 10.1042/bj2920013
- Kamdem, L. Meineke, I. Gödtel, U. Brockmüller, J. Wojnowski L. (2006). Dominant contribution of P450 3A4 to the hepatic carcinogenic activation of aflatoxin B₁. *Chemical Research in Toxicology* 19: 577-86. <https://doi.org/10.1021/tx050358e>.

- Kang'Ethe, E. K., Gatwiri, M., Sirma, A. J., Ouko, E. O., Mburugu-Musoti, C. K., Kitala, P. M., & Korhonen, H. J. (2017). Exposure of Kenyan population to aflatoxins in foods with special reference to Nandi and Makueni counties. *Food Quality and Safety*, 1(2), 131-137.
- Karabulut, S. Guvanchmyrat, P. and Jerzy L. (2014). Reduction of aflatoxin B₁ to aflatoxicol: a comprehensive DFT study provides clues to its toxicity. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94:3134-40.
- Kocasari, F. Tasci, F. & Mor, F. (2012). Survey of aflatoxin M₁ in milk and dairy products consumed in Burdur, Turkey. *International journal of dairy technology*, 65, 365-371.
- Kuboka, M. Imungi, J. Njue, L. Mutua, F. Grace, D. & Lindahl, J. (2019). Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk traded in peri-urban Nairobi, and the effect of boiling and fermentation. *Infection ecology & epidemiology*, 9, 1625703.
- Lee, H. S., Nguyen-Viet, H., Lindahl, J., Thanh, H. M., Khanh, T. N., Hien, L. T. T., & Grace, D. (2017). A survey of aflatoxin B₁ in maize and awareness of aflatoxins in Vietnam. *World Mycotoxin Journal*, 10(2), 195-202.
- Lewis, L., Onsongo, M., Njapau, H., Schurz-Rogers, H., Lubber, G., Kieszak, S., Nyamongo, J., Backer, L., Dahiye, A., Misore, A., DeCock, K., Rubin, C., (2005). Aflatoxin contamination of commercial maize products during an outbreak of acute aflatoxicosis in Eastern and Central Kenya. *Environmental Health Perspectives* 113, 1762–1767.
- Li, S. Min, L. Wang, G. Li, D. Zheng, N. & Wang, J. (2018). Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk from manufacturers of infant milk powder in China. *International journal of environmental research and public health*, 15: 879.
- Li, S., Min, L., Wang, P., Zhang, Y., Zheng, N., & Wang, J. (2017). Occurrence of aflatoxin M₁ in pasteurized and UHT milks in China in 2014–2015. *Food Control*, 78, 94-99.
- Lindahl, J. Kagera, I. & Grace, D. (2018). Aflatoxin M₁ levels in different marketed milk products in Nairobi, Kenya. *Mycotoxin research*, 34, 289-295.
- Magda, C. Manuel, V. Estela H. Silvia, R. Francisco, R. (2019) Presence of unreported carcinogens, aflatoxins and their hydroxylated metabolites, in industrialized Oaxaca cheese from Mexico City. *Food and Chemical Toxicology* 124:128–38. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.046>
- Manikandan P. and Siddavaram N. (2017). Cytochrome P₄₅₀ structure, function and clinical significance: A Review. *Current Drug Targets* 19:38-54.

- Mannani, N. Tabarani, A. El Adlouni, C. & Zinedine, A. (2021). Aflatoxin M₁ in pasteurized and UHT milk marked in Morocco. *Food Control*, 107893.
- Masri, M. S. Lundin, R. E. Page, J. R. and Garcia, V. C. (1967). Crystalline aflatoxin M₁ from urine and milk. *Nature*, 215:753.
- Milićević, D. Spirić, D. Radičević, T. Velebit, B. Stefanović, S. Milojević, L. & Janković, S. (2017). A review of the current situation of aflatoxin M₁ in cow's milk in Serbia: risk assessment and regulatory aspects. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 34, 1617-1631.
- Mohammedi Ameer, S., Dahmane, M., Brera, C., Kardjadj, M., & Ben-Mahdi, M. H. (2020). Occurrence and seasonal variation of aflatoxin M₁ in raw cow milk collected from different regions of Algeria. *Veterinary world*, 13(3), 433.
- Moudgil, V. Redhu, D. Dhanda, S. and Singh, J. (2013). A review of molecular mechanisms in the development of hepatocellular carcinoma by aflatoxin and hepatitis B and C viruses. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 32:165-175
- Movassaghazani, M. & Ghorbani, M. (2017). Incidence of aflatoxin M₁ in human and cow milk in Kashan, Iran. *Journal of food quality and hazards control*, 4, 99-102.
- Mudili, V., Siddaih, C. N., Nagesh, M., Garapati, P., Kumar, K. N., Murali, H. S., Batra, H. V. (2014). Mould incidence and mycotoxin contamination in freshly Harvested maize kernels originated from India. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 2674–2683.
- Nadira, A. Rosita, J. Norhaizan, M. & Redzwan, S. (2017). Screening of aflatoxin M₁ occurrence in selected milk and dairy products in Terengganu, Malaysia. *Food Control*, 73, 209-214.
- Nejad, A. Heshmati, A., & Ghiasvand, T. (2019). The occurrence and risk assessment of exposure to aflatoxin M₁ in ultra-high temperature and pasteurized milk in Hamadan province of Iran. *Osong public health and research perspectives*, 10, 228.
- Nile, S. Park, S. & Khobragade, C. (2016). Occurrence and analysis of aflatoxin M₁ in milk produced by Indian dairy species. *Food and Agricultural Immunology*, 27, 358-366.
- Njobeh, P. B., Dutton, M. F., Åberg, A. T., & Haggblom, P. (2012). Estimation of multi-mycotoxin contamination in South African compound feeds. *Toxins*, 4(10), 836–848. <https://doi.org/10.3390/toxins4100836>

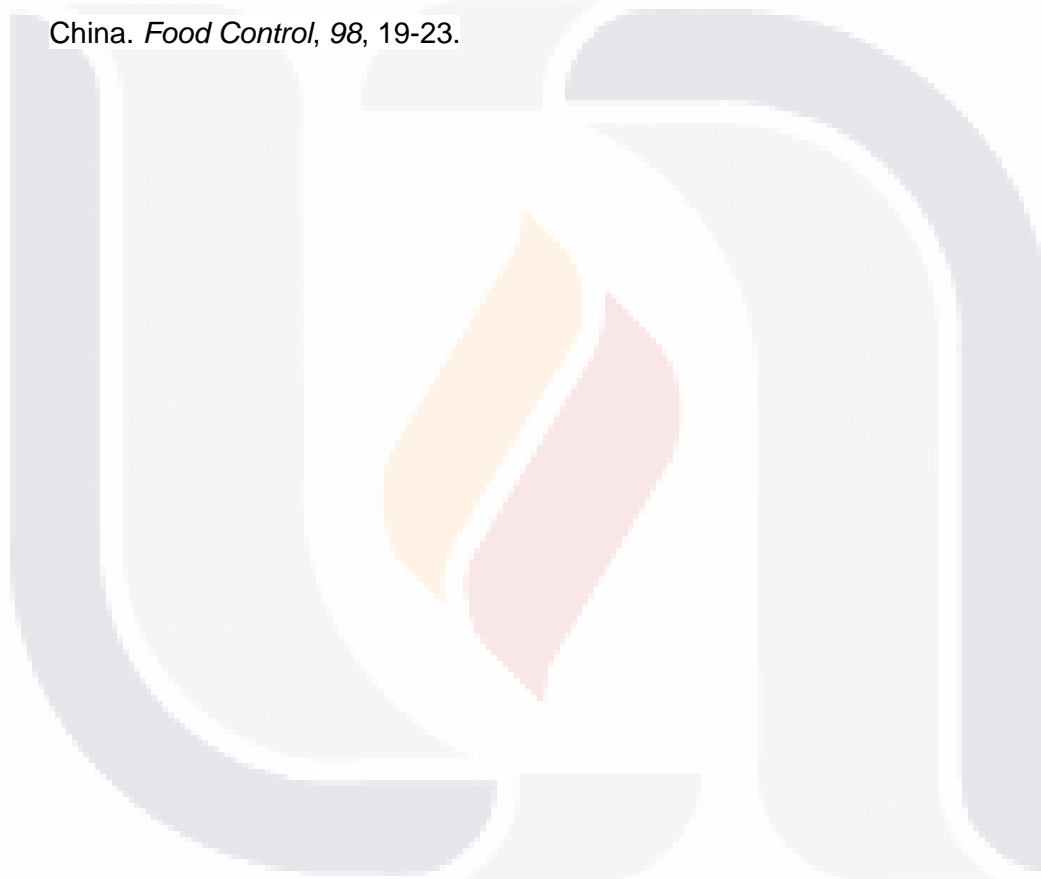
- NOM-188-SSA1-2002. Norma Oficial Mexicana, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación, 15 de abril de 2021.
- NOM-243-SSA1-2010. Norma Oficial Mexicana, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias. Diario Oficial de la Federación, 15 de abril de 2021.
- Omar, S. (2016). Aflatoxin M₁ levels in raw milk, pasteurised milk and infant formula. *Italian journal of food safety*, 5(3).
- Padrón, M., Yuef, H., Hernández Delgado, S., Reyes Méndez, C. A., & Vázquez Carrillo, G. (2013). El género *Aspergillus* y sus micotoxinas en maíz en México: problemática y perspectivas. *Revista mexicana de fitopatología*, 31:126-146.
- Peña, O. Martínez, R. and Hernández, R. (2018). Occurrence of aflatoxin M₁ in cow milk in el Salvador: results from a two-year survey. *Toxicology Reports* 5: 671-78.
- Pérez, J. Gutiérrez, R. Vega, S. Díaz, G. Urbán, G. Coronado, M. & Escobar, A. (2008). Ocurrencia de aflatoxina M₁ en leches cruda, ultra pasteurizada y orgánica producida y comercializada en el altiplano mexicano. *Revista de Salud Animal*, 30(2), 103-109.
- Prandini, A. Tansini, G. Sigolo, S. Filippi, L. Laporta, M. and Piva, G. (2009). On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*. 47:984-991. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.10.005>
- Qazi, J. and Fayyaz, Z. (2006). Aflatoxin Contaminated Foods and Health Risk Perspective for Pakistani Population. *Mycopath*. 4:27-34
- Quevedo, G. Amador, E. Salas, G. Ramos, P. & Trujillo, A. (2020). Aflatoxin M₁ determination in infant formulae distributed in Monterrey, Mexico. *Toxins*, 12, 100.
- Quevedo, G., Amador, E., Cantú, M., & Trujillo, M. (2018). Aflatoxin M₁ occurrence in fluid milk commercialized in Monterrey, Mexico. *Journal of Food Safety*. DOI: 10.1111/jfs.12507
- Rahimi, E., Bonyadian, M., Rafei, M., & Kazemeini, H. R. (2010). Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk of five dairy species in Ahvaz, Iran. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 129e131
- Rangel, M. Valdivia, F. Moreno, R. Hernández, D. Cruz, V. Luna, L. Máyek, P. (2020). Caracterización de *Aspergillus flavus* y cuantificación de aflatoxinas en pienso y leche cruda de vacas en Aguascalientes, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 11: 435-454.

- Requena, F. Saume, E. y León, A. (2005). Micotoxinas: Riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical*, 23:393-410.
- 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*. 47:223-230.
- Rice, B. Quann, E. Miller G. (2013). Meeting and exceeding dairy recommendations: effects of dairy consumption on nutrient intakes and risk of chronic disease. *Nutr Rev*. 71:209-223.
- Rodrigues, I., Handl, J., & Binder, E. M. (2011). Mycotoxin occurrence in commodities, feeds and feed ingredients sourced in the Middle East and Africa. *Food additives & contaminants. Part B, Surveillance*, 4(3), 168–179. <https://doi.org/10.1080/19393210.2011.589034>
- Rychlik, M. Humpf, H. Marko, D. Danicke, S. Mally, A. Berthiller, F. Klaffke, H. Lorenz, N. (2014). Proposal of a comprehensive definition of modified and other forms of mycotoxins including “masked” mycotoxins. *Mycotoxin Res*. 30:197-205.
- SADER, Secretaria De Agricultura y Desarrollo Rural. (2017). Panorama de la leche en México. Diciembre del 2017.
- SAGARPA. (2010). *Diagnóstico Sectorial del Estado de Aguascalientes 2010* (p. 147). p. 147. Consultado en [http://www.aguascalientes.gob.mx/sedrae/see/info-estatales/Otrostrabajosrealizados/Diagnostico AGS_mat_2010.pdf](http://www.aguascalientes.gob.mx/sedrae/see/info-estatales/Otrostrabajosrealizados/Diagnostico%20AGS_mat_2010.pdf)
- SE. Secretaría de Economía. (2012). *Análisis del sector lácteo en México*. SE, Dirección General de Industrias Básicas. Disponible (5 junio 2019) en: https://www.economia.gob.mx/files/comunidad_negocios/industria_comercio/informacionSectorial/analisis_sector_lacteo.pdf.
- Segura, J., y Honhold, N. (2000). Métodos de muestreo para la producción y la salud animal. Mérida, Yucatán.
- Shad, Z. M., Ghavami, M., & Atungulu, G. G. (2019). Occurrence of Aflatoxin in Dairy Cow Feed Ingredients and Total Mixed Ration. *Applied Engineering in Agriculture*, 35: 679-686.
- Sharma, H. Jadhav, V. & Garg, S. (2020). Aflatoxin M₁ in milk in Hisar city, Haryana, India and risk assessment. *Food Additives & Contaminants: Part B*, 13, 59-63.

- Shuib, N. Makahleh, A. Salhimi, S. & Saad, B. (2017). Determination of aflatoxin M₁ in milk and dairy products using high performance liquid chromatography-fluorescence with post column photochemical derivatization. *Journal of Chromatography A*, 1510, 51-56.
- SIAP (2004) Producción nacional forrajera. Tomado el 6 de marzo del 2019 de http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/ResumenProducto.do
- Sifuentes dos Santos, J. França, V. Katto, S. & Santana, E. (2015). Aflatoxin M₁ in pasteurized, UHT milk and milk powder commercialized in Londrina, Brazil and estimation of exposure. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 65, 181-185.
- Silva, M. V., Janeiro, V., Bando, E., & Machinski Jr, M. (2015). Occurrence and estimative of aflatoxin M₁ intake in UHT cow milk in Paraná State, Brazil. *Food Control*, 53, 222-225.
- Singh, P., & Cotty, P. J. (2017). Aflatoxin contamination of dried red chilies: Contrasts between the United States and Nigeria, two markets differing in regulation enforcement. *Food control*, 80, 374-379.
- Škrbić, B., Živančev, J., Antić, I., Godula, M. (2014): Levels of aflatoxin M₁ in different types of milk collected in Serbia: Assessment of human and animal exposure, *Food Control* 40, 113-119. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.11.039
- Spanjer, M. C. (2018). Occurrence & risk of aflatoxins in food and feed. In: 424-427 Melton L., Shahidi F. and Varelis P. *Encyclopedia of food chemistry*. Elsevier: Canada. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21804-0>.
- Sumantri, I. Purwanti, F. Nuryono, N. & Agus, A. (2019). Estimation of aflatoxin M₁ exposure through consumption of various dairy milk products in yogyakarta, Indonesia. *J. Vet*, 20, 58-64.
- Tadesse, S. Berhanu, T. & Woldegiorgis, A. (2020). Aflatoxin M₁ in milk and milk products marketed by local and industrial producers in Bishoftu town of Ethiopia. *Food control*, 118, 107386.
- Theumer, M.G. Henneb, Y. Houry, L. Snini, S.P. Tadrist, S. Canlet, C. Puel, O. Oswald, I.P. Audebert, M. (2018). Genotoxicity of aflatoxins and their precursors in human cells. *Toxicology Letters* 287:100-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.02.007>
- Toso, R. Toribio, M. Dieser, M. Borrello, A. & Ardoino, S. (2016). Presencia de micotoxinas en alimentos balanceados para ponedoras. *Ciencia veterinaria*, 18:39-48.

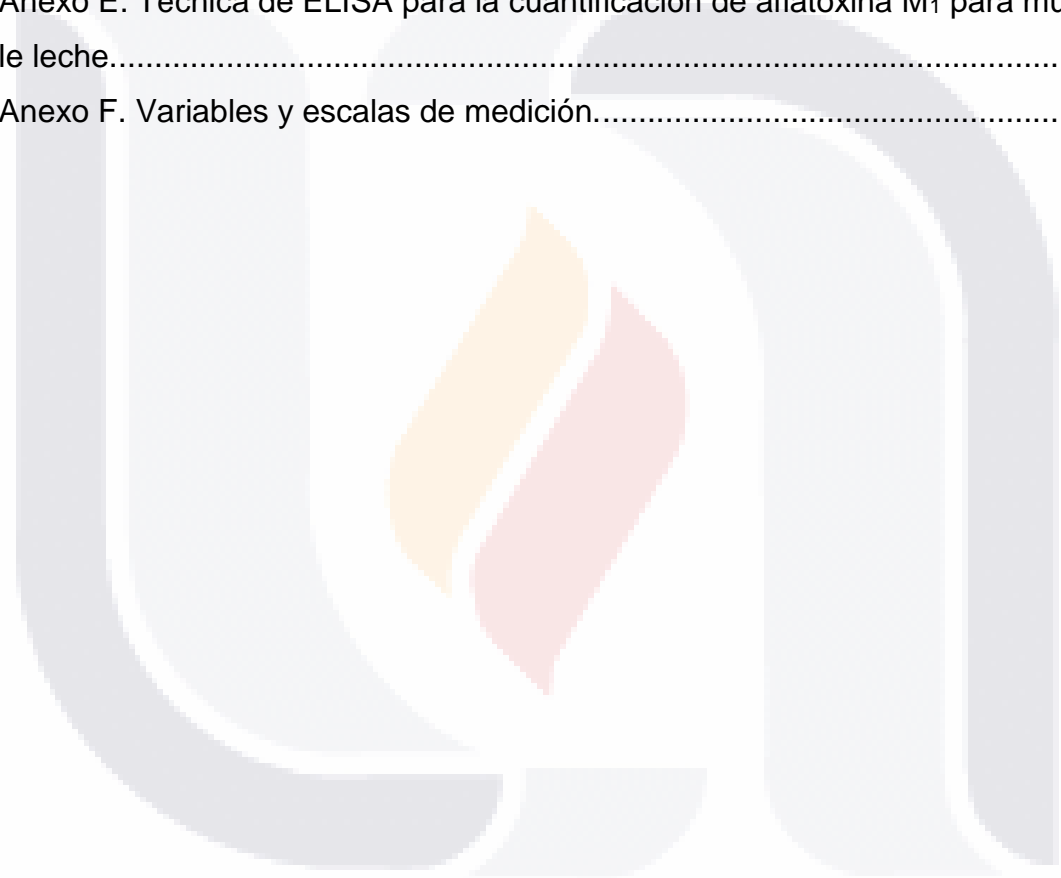
- Urrego Novoa, J. R., & Díaz, G. J. (2006). Aflatoxins and its mechanisms of toxicity in hepatic cancer. *Revista de la Facultad de Medicina*, 54:108-116.
- Valdivia, A. G., Muñoz, E. J. R., Miranda Castañeda, C. A., Tristán, T. Q., Ortiz, R., Cruz-Vázquez, C. R., & Mora, L. M. O. (2016). Control de la contaminación por aflatoxinas en sistemas intensivos de producción lechera del altiplano central mexicano. *Engormix*.
- Velázquez, W. R., Martínez, S. P., Espinosa, V. H. I., Vera, M. A. N., Velázquez, E. W. R., & Pala, E. D. L. (2009). Aflatoxinas totales en raciones de bovinos y AFM₁ en leche cruda obtenida en establos del estado de Jalisco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 47(2), 223-230.
- Widstrom, N. W., McMillian, W. W., Beaver, R. W., & Wilson, D. M. (1990). Weather-associated changes in aflatoxin contamination of preharvest maize. *Journal of Production Agriculture*, 3: 196-199.
- Xiong, J. Peng, L. Zhou, H. Lin, B. Yan, P. Wu, W. & Qiu, Y. (2020). Prevalence of aflatoxin M₁ in raw milk and three types of liquid milk products in central-south China. *Food control*, 108, 106840.
- Xiong, J. Xiong, L. Zhou, H. Liu, Y. & Wu, L. (2018). Occurrence of aflatoxin B₁ in dairy cow feedstuff and aflatoxin M₁ in UHT and pasteurized milk in central China. *Food Control*, 92, 386-390.
- Xiong, J. Zhang, X. Zhou, H. Lei, M. Liu, Y. Ye, C. & Qiu, Y. (2021). Aflatoxin M₁ in pasteurized, ESL and UHT milk products from central China during summer and winter seasons: Prevalence and risk assessment of exposure in different age groups. *Food Control*, 107908.
- Xiong, J.L., Wang, Y.M., Ma, M.R., Liu, J.X. (2013): Seasonal variation of aflatoxin M₁ in raw milk from the Yangtze River Delta region of China, *Food Control* 34, 703-706. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.06.024
- Yogendrarajah, P. Jacxsens, L. De Saeger, S. De Meulenaer, B. (2014). Co-occurrence of multiple mycotoxins in dry chilli (*Capsicum annum* L.) samples from the markets of Sri Lanka and Belgium. *Food control*. 46:26-34.
- Zahoor, U. H. Roda, A. Fathy, A. Saeed, A. Virgilio, B. Quirico, M. Samir, J. (2018). Evidence of low levels of aflatoxin M₁ in milk and dairy products marketed in Qatar. *Food Control* 92:25-29. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.04.038>.

- Zain Mohamed, E. (2011). Impact of mycotoxins on humans and animals. *Journal of Saudi Chemical Society* 15:129-44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2010.06.006>
- Zhan, Z. Huiyuan, L. Fei, H. Cromie, M. Xuejiao, Y. Yun, W. Xichen, W. Xinru, W. & Shou-Lin, W. (2014). Cytochrome P₄₅₀ 2A13 mediates the neoplastic transformation of human bronchial epithelial cells at a low concentration of aflatoxin B₁. *International Journal of Cancer*. 134:1539-48. DOI 10.1002/ijc.28489
- Zhao, Y., Wang, Q., Huang, J., Chen, Z., Liu, S., Wang, X., & Wang, F. (2019). Mycotoxin contamination and presence of mycobiota in rice sold for human consumption in China. *Food Control*, 98, 19-23.




ANEXOS

Anexo A. Formato de recolección de datos para las muestras de ración total mezclada.....	95
Anexo B. Técnica de ELISA para la cuantificación de aflatoxinas totales.....	96
Anexo C. Descripción de las claves de leches recolectadas.	98
Anexo D. Formato para la recolección de datos de las muestras de leche.....	99
Anexo E. Técnica de ELISA para la cuantificación de aflatoxina M ₁ para muestras le leche.....	100
Anexo F. Variables y escalas de medición.....	102



Anexo A. Formato de recolección de datos para las muestras de ración total mezclada

 MONITOREO							
I. DATOS GENERALES							
NOMBRE DE LA EXPLOTACIÓN:					FECHA:		
UBICACIÓN:							
RESPONSABLE:							
PROPIETARIO:							
II. CARACTERÍSTICAS DE LA EXPLOTACIÓN							
Sistema de Producción:		Estabulado					
Población total:							
Superficie Agrícola:		Ha de riego:		Ha de temporal:			
III. ALIMENTACIÓN							
A) CONSTITUCIÓN DE LA DIETA							
Ingredientes	Cantidad kg/Lote						
	Super altas	Altas	Medias	Bajas	Secas	Preparto	Frescas
Ensilajes							
Concentrado							
Granos y semillas							
Pajas							
Total							
Consumo de RTM/ vaca / día							
Aplica secuestrante:							
Dosis:							
Nombre y marca:							
B) ORIGEN DE LOS INSUMOS							
Producción propia:							
Compra Local:							
Compra Regional (estados vecinos):							
Compra Nacional:							
Compra Internacional:							
IV. PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN							
	Producción	Secas	Vaquilla	Becerras			
N° de animales:							
Producción promedio del Hato:							
Producción promedio (L/vaca/día):							
DESTINO DE LA LECHE (Señalar la cantidad de leche que se vende a cada destinatario)							
Presencia de abortos en los últimos 4 meses?							

Anexo B. Técnica de ELISA para la cuantificación de aflatoxinas totales.

De las muestras secas y molidas, pesar 5 g. posteriormente, agregar 12.5 ml de metanol al 70% y agitar durante 3 minutos, después filtrar sobre papel filtro con porosidad 1, usar 50 µl del filtrado para cada uno de los pocillos de la microplaca. Todos los reactivos usarlos a temperatura ambiente (20-25°C / 68-77°F). Como tampón de lavado utilizar un tampón PBS-Tween, (el sobre completo del tampón se disuelve en un litro de agua destilada, este tampón se mantiene estable entre 4 y 6 semanas a una T° de 2 a 8°C (35-46°F). Los estándares de aflatoxina ya vienen listos para su uso.

Colocar los pocillos suficientes en el soporte de la microplaca para los estándares y las muestras que se analizarán (registrar la posición de los estándares y las muestras en una hoja impresa donde se representa la microplaca). Agregar 50 µl de los estándares y de las muestras a analizar en los pocillos correspondientes, con precaución de usar una punta nueva y estéril para cada estándar y cada muestra. Agregar 50 µl del conjugado aflatoxina-enzima a los pocillos correspondientes. Después Agregar 50 µl del anticuerpo anti-aflatoxina a los pocillos correspondientes, mezclar el contenido de la microplaca suavemente y e incubar durante 10 min a temperatura ambiente. Vaciar el contenido de los pocillos en un recipiente y golpear el marco portapocillos sobre un papel absorbente limpio tres veces consecutivas para eliminar los restos líquidos.

Lavar los pocillos con 250 µl de tampón de lavado utilizando una micropipeta multicanal y Vaciar nuevamente los pocillos de la forma indicada anteriormente. Repetir esta indicación dos veces más. Agregar 100 µl de sustrato/cromógeno a cada pocillo, mezclando el contenido de la microplaca suavemente e incubar 5 min en la oscuridad a temperatura ambiente. Agregar 100 µl de la solución stop a cada pocillo y Mezclar el contenido de la microplaca suavemente, medir la absorbancia a 450 nm, (para tomar esta lectura no se deben dejar pasar más de 10 minutos). (RISASCREEN FAST[®] aflatoxin R-5202, R-Biopharm Alemania).

La lectura de las placas se realiza en un lector de microplacas (ELx800[™], Bio Tek, EUA).

Los resultados de la absorbancia se registran y se calcula usando el software Ridasoft Win versión 1.8, la concentración de AFs correspondiente a la absorción se lee directamente en una curva de calibración.

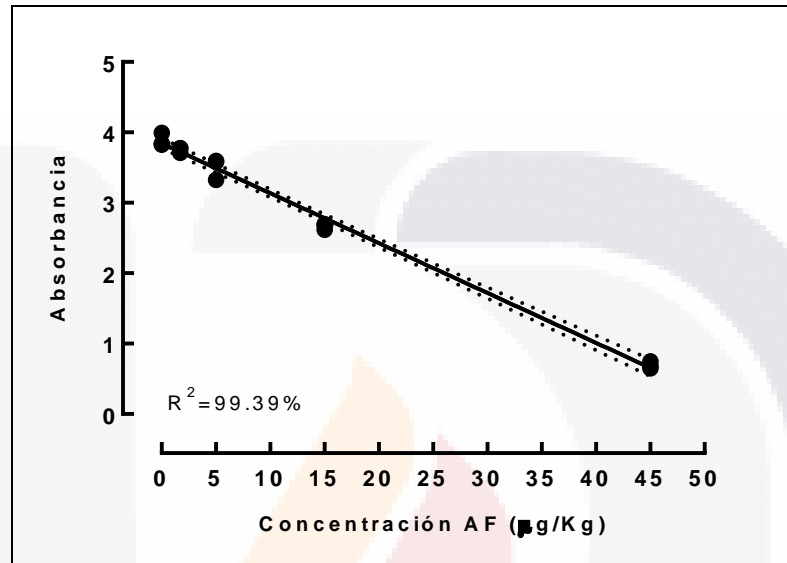


Figura 15. Curva estándar para aflatoxinas totales cuantificadas con ELISA

Anexo C. Descripción de las claves de leches recolectadas.

Clave asignada	Marca
Ags. 3	Liconsá
Edo. Méx. 3	Great Value
N.L. 2	HEB
Dgo. 3	Monarca
Edo. Méx. 1	Alpura
Ags. 6	San Marcos
Jal. 3	Leche y Pan
Jal. 1	19 Hermanos
Ags. 5	Muy Buena
Dgo. 2	Lala
Hgo. 2	Santa Clara
Dgo. 4	Nutry Leche
Jal. 2	Amanecer
Ags. 2	La Granja
Hgo. 1	Precissimo
Gto. 1	Bove
Jal. 4	Sello Rojo
Gto. 2	Leche León
N.L. 1	HCF
Edo. Méx. 2	Forti Leche
Dgo. 1	Borden
Ags. 1	Aguascalientes
N.L. 4	Valley Foods
Ags. 4	Más Leche
SLP 1	Boire
SLP 2	La Escondida
N.L. 3	Hill Country Fare

Anexo D. Formato para la recolección de datos de las muestras de leche.

ID	Marca	Tipo	Conservación	Procedencia	Observaciones

Anexo E. Técnica de ELISA para la cuantificación de aflatoxina M₁ para muestras le leche.

Material necesario:

- Placas de 96 pozos recubiertos con anticuerpos anti- aflatoxina M1.
- Estándares de aflatoxina M1 con las siguientes concentraciones: 0.0 (estándar cero), 5.0, 10.0, 20.0, 40.0 y 80.0 ng/L.
- Conjugado enzimático (peroxidasa) con aflatoxina M1.
- Substrato/cromógeno, contiene tetrametilbencidina.
- Solución stop, contiene ácido sulfúrico 1.0 N.
- Buffer de dilución de la muestra.
- Buffer de dilución del conjugado.

Procedimiento:

1. Homogenizar manualmente las muestras de leche y tomar 1 ml en tubo eppendorf.
2. Centrifugar (10min/ 3500 g/ 10°C)
3. Retirar grasa (parte superior)
4. Agregar 100 µL de anticuerpo diluido e incubar 15 min.
5. Eliminar los líquidos de la placa y lavarla con 250 µL de solución de lavado dos veces. Al final secar la placa con papel absorbente.
6. Agregar 100 µL de cada estándar por duplicado en la placa.
7. Agregar 100 µL de cada muestra por duplicado en la placa.
8. Incubar durante 30 min a temperatura ambiente (20–25o C) en oscuridad.
9. Eliminar los líquidos de la placa y lavarla con 250 µL de solución de lavado dos veces. Al final secar la placa con papel absorbente.
10. Agregar 100 µL de conjugado de enzima diluida a cada uno de los pozos. Agitar la placa e incubar durante 15 min a temperatura ambiente en oscuridad.
11. Eliminar los líquidos de la placa y lavarla con 250 µL de solución de lavado dos veces. Al final secar la placa con papel absorbente.
12. Agregar 100 µL de substrato/cromógeno a cada pozo. Agitar la placa e incubar durante 15 min a temperatura ambiente en oscuridad.
13. Agregar 100 µL de solución stop a cada pozo. Agitar la placa y medir la absorbancia a 450 nm en un lector de microplacas de ELISA (BioTek Instruments, Inc., USA). Leer la placa dentro de los 15 min después de agregar la solución de stop. RIDASCREEN® AFM1

(R1121, R-Biopharm AG, Darmstadt, Alemania). La concentración de AFM₁ correspondiente a la absorción se lee directamente en una curva de calibración.

Donde:

SPAN = 0.007569

K = 0.0009209

PLATEAU = 0.005920

X = concentración de AFM₁

Y = absorbancia

$r^2=0.999$

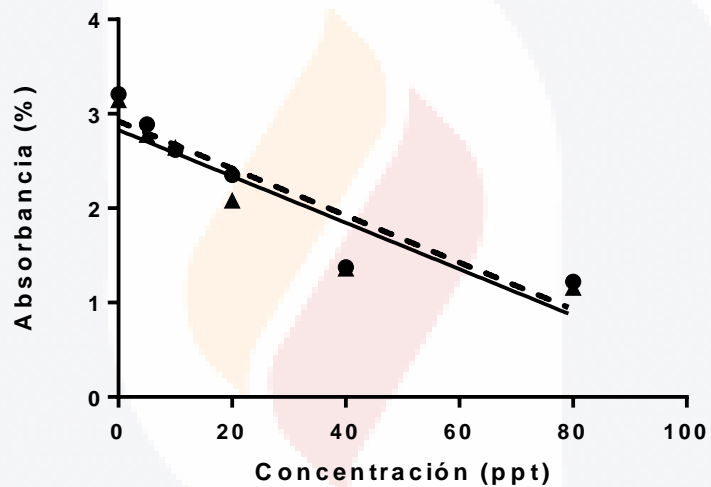


Figura 16. Curva estándar para AFM₁ cuantificadas con ELISA

Anexo F. Variables y escalas de medición.

RTM	CUALITATIVA	CUANTITATIVA	UNIDAD DE MEDICIÓN
N° DE MUESTREO	X		Ordinal
FECHA DE MUESTREO	X		Fecha
UBICACIÓN	X		Nominal
DESTINO DE LA LECHE	X		Pasteurizadoras (Marca) Destino Geográfico de la leche Cremerías Queserías Consumo personal
ORIGEN DE LOS INSUMOS	X		Nominal
CANTIDAD DE AF TOTALES EN RTM		X	Microgramos/ Kilo
LECHE	CUALITATIVA	CUANTITATIVA	UNIDAD DE MEDICIÓN
N° DE MUESTREO	X		Ordinal
FECHA DE MUESTREO	X		Fecha
MARCA	X		Nominal
TIPO	X		Entera Ligera
CONSERVACIÓN	X		Pasteurizada Ultra pasteurizada
PROCEDENCIA	X		Nominal
OBSERVACIONES	X		Nominal
CANTIDAD DE AFM₁ EN LECHE		X	Nano gramos/ Litro