

Contaminación por micotoxinas de la leche y derivados lácteos

Contamination by micotoxins of milk and milk products

JORGE LUIS RUIZ ROJAS^{1*}, REY GUTIÉRREZ TOLENTINO²,
MIGUEL A. ORANTES ZEBADUA¹ Y ALBERTO MANZUR CRUZ¹

¹ Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
Rancho San Francisco, Km 8 Carretera Ejido Emiliano Zapata, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

² Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Departamento de Producción Agrícola y Animal.
Calzada del Hueso No. 1100, Colonia Villa Quietud, Delegación Coyoacán. Ciudad de México.

*Correo electrónico: jlrojas89@hotmail.com

RESUMEN

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos capaces de causar enfermedad y muerte en humanos, animales y cultivos. Debido a su actividad farmacológica, algunas micotoxinas o sus derivados son utilizados como antibióticos, promotores del crecimiento y otros medicamentos. Algunos hongos pueden producir más de una micotoxina y algunas micotoxinas son producidas por más de una especie de hongo. Actualmente se conocen más de 300 micotoxinas; sin embargo, la atención científica se ha centrado principalmente en aquellas que han probado ser carcinogénicas o causar otro tipo de toxicidad. La gravedad depende de la toxicidad de la micotoxina, el grado de exposición, la edad y el estado nutricional del individuo. La micotoxicosis aparece cuando existen condiciones ambientales, sociales y económicas las cuales, combinadas con las condiciones meteorológicas (humedad y temperatura), favorecen su crecimiento. La exposición humana ocurre al consumir alimentos derivados de vegetales, en productos animales como la carne y huevos o cuando las vacas lecheras han ingerido un alimento que está contaminado con toxinas y por lo tanto aparecen en la leche; también puede contaminarse por la inhalación de aire y polvo que contenga toxinas. El objetivo de este artículo es presentar la información bibliográfica más relevante y actual que existe sobre la importancia que tienen las aflatoxinas como contaminantes de la leche y sus derivados.

Palabras clave: Importancia, aflatoxinas, leche, derivados lácteos.

INTRODUCCION.

Actualmente la calidad e inocuidad alimentaria son factores cada vez más relevantes en prácticamente todos los países (FAO, 2004). Dentro de los alimentos disponibles, la leche es considerada como uno de los alimentos más completos que existe en la naturaleza, debido a su alto nivel nutritivo, ya que contiene Ca, P, vitamina B₂, grasa y proteínas de alto valor biológico para el humano; además es relativamente accesible y por sus características sensoriales tiene una gran aceptación en todos los estratos de la población (Trujillo, 2002; Valdés, 2006). Cada día se estudian más las cualidades de este producto en la alimentación de niños, adultos y personas de la tercera edad. Pero, para que la leche cumpla con estas expectativas debe reunir una serie de requisitos

ABSTRACT

Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi that are capable of causing disease and death in humans, animals and crops. Because of their pharmacological activity, some mycotoxins or mycotoxin derivatives have found use as antibiotics, growth promoters, and others drugs. Some molds can produce more than one mycotoxin and some mycotoxins are produced by more than one fungal species. Currently, more than 300 mycotoxins are known; however, scientific attention is focused mainly on those that have proven to be carcinogenic or produce another type of toxicity. The severity depends on the toxicity of the mycotoxin, the extent of exposure, and age and nutritional status of the individual. Mycotoxicoses arise when environmental, social and economic conditions combine with meteorological conditions (humidity and temperature) which favor their growth. Human exposure results from consumption of plant-derived foods, in animal products such as meat and eggs or when the dairy cows have ingested feed contaminated with toxins and then these appear in the milk; also because of inhalation of air and dust containing toxins. The aim of this article is to present the current and more relevant bibliographical information about the importance of aflatoxins as contaminants of milk and milk products.

Key words: Importance, aflatoxins, milk, milk products

que definen su calidad, entendiéndose como calidad al conjunto de propiedades físicas y químicas inherentes a la leche (Vega et al., 2006; Lairon, 2010).

A fin de asegurar la calidad de la leche, se deben considerar todos los niveles de la cadena alimentaria, donde cada eslabón influye sobre las características finales del producto. Debido a lo anterior, existe una serie de lineamientos oficiales que pretenden preservar la inocuidad y por ende la calidad de los alimentos, lo cual tiene un efecto positivo en la salud del consumidor y en general de la producción pecuaria. La inocuidad implica la ausencia de sustancias extrañas (plaguicidas, hidrocarburos aromáticos, bifenilos policlorados, aflatoxinas, entre otras) que puedan ser dañinas para la salud humana. Numerosos factores relacionados con la producción en la explotación lechera pueden afectar la inocuidad de la leche,

por lo que deben aplicarse buenas prácticas ganaderas, el cuidado de la salud y estado de los animales, así como buenas prácticas de higiene durante el ordeño (Mercado, 2007).

Existen numerosos riesgos que pueden afectar la inocuidad de la leche, principalmente las debidas a la presencia de bacterias causantes de las llamadas Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs); al respecto, se han logrado disminuir considerablemente los riesgos de infecciones humanas mediante los tratamientos térmicos de pasteurización y ultrapasteurización; sin embargo, estos tratamientos no eliminan otros peligros como son los residuos tóxicos, dentro de los cuales se encuentran los antibióticos y las aflatoxinas (Ortega, 1998).

Las aflatoxinas son sustancias tóxicas para la salud humana y animal producidas en el metabolismo secundario de los hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Penicillium puberulum*; los cuales aparecen como contaminantes naturales en casi la totalidad de las materias primas utilizadas en la alimentación de los animales cuando las condiciones ambientales son propicias para su desarrollo (Bennet y Klich, 2003).

Las aflatoxinas se pueden encontrar en cualquier punto de la cadena alimentaria, desde la siembra y cosecha, hasta en la carne, leche y derivados lácteos disponibles para su consumo originando un grupo de enfermedades y trastornos denominados micotoxicosis, la cual está relacionada con la inducción de tumores con efectos mutagénicos, carcinogénicos, teratogénicos y que provocan inmunosupresión (Bennet y Klich, 2003; Bolet y Socarrás, 2005).

Por lo anterior, el objetivo de la presente revisión bibliográfica es la de presentar la información más relevante y actual que existe sobre la importancia que tienen las aflatoxinas como contaminantes de la leche y sus derivados, lo cual puede tener un enorme impacto tanto en la salud de las personas, como de los animales que consuman alimentos contaminados por este hongo.

Aspectos generales de las micotoxinas

El término *micotoxina*, deriva de las palabras griegas *mikes* y *toxina* que significan hongo

y veneno, respectivamente. Son sustancias tóxicas originadas por el crecimiento de cinco tipos de hongos (Cuadro 1), los cuales aparecen como contaminantes naturales de las materias primas utilizadas en la alimentación de los animales (Méndez y Moreno, 2009.).

Se pueden encontrar en cualquier punto de la cadena alimentaria desde la siembra y cosecha hasta en la carne, leche y derivados, originando un grupo de enfermedades y trastornos denominados micotoxicosis, las cuales afectan tanto al hombre como a los animales (Bolet y Socarrás, 2005).

Los hongos utilizan para su crecimiento una serie de sustancias químicas denominadas metabolitos primarios, como ácidos nucleicos, proteínas, hidratos de carbono y lípidos, principalmente. Cuando la fase de crecimiento llega a su etapa final y durante la fase estacionaria, los procesos de síntesis del hongo se encaminan hacia la producción de metabolitos secundarios como pigmentos, antibióticos y micotoxinas (Díaz, 1996).

La formación de micotoxinas depende de la composición del sustrato, la capacidad genética de los hongos para producirlas y de factores ecológicos. Las condiciones que favorecen su producción, según Probots et al., 2010 y Sugita et al., 2010, son:

- Agua disponible. Normalmente esta es designada como “Actividad del Agua” (AW), la cual indica la cantidad de agua dispo-

Cuadro 1. Tipos de hongos productores de micotoxinas

Hongo	Toxina
<i>Aspergillus</i>	Aflatoxinas
	Sterigmatocistina
	Ocratoxina A
	Tricotecenos
<i>Fusarium</i>	Zearalenonas
	Fumonisinias
	Fusarina
	Moniliformina
<i>Penicillium</i>	Patulina
	Citrina
	Ocratoxina A
<i>Alternaria</i>	Alternariol
	Ácido tennazónico
<i>Claviceps</i>	Alcaloides

(Constane et al., 2010)

nible para el desarrollo de los microorganismos, una vez que se ha alcanzado el equilibrio hídrico en el sistema alimento/medio ambiente. Los hongos que contaminan los cereales necesitan valores de AW superiores a 0.7

- Composición del sustrato (presencia de hidratos de carbono).
- Condiciones climáticas. Las zonas tropicales, por el calor y la humedad, favorecen la formación de micotoxinas; sin embargo, también pueden producirse en zonas templadas.
- Humedad en los granos del 10-18%
- Humedad relativa del ambiente del 70% o más.
- pH. La acidez es un elemento negativo para el desarrollo micótico y formación de esporas. Es necesario un pH alcalino.
- Presencia de invertebrados. Los insectos alteran los granos y propician el camino para el desarrollo fúngico.
- Suficiente oxígeno (no es indispensable) y CO₂
- Tamaño pequeño de los hongos, pudiéndose dispersarse por el aire muy fácilmente y establecerse en sustratos diferentes donde pueden crecer.
- Temperatura. Crecimiento del hongo: mínima de 6-8 °C, óptima de 36-38 °C y 44-46 °C, como máxima.
- Tiempo de almacenamiento. A mayor tiempo de almacenamiento se tienen condiciones más favorables para su desarrollo.
- Especie fúngica. En una misma especie existen estirpes productoras de micotoxinas y otras que son incapaces de producirlas; es decir, hay variaciones intra e interespecíficas.

Se conocen cientos de micotoxinas, pero sólo una veintena aparecen como contaminantes en los alimentos. De ellas, las aflatoxinas, la citrinina, las fumonisinas, la ocratoxina A, la patulina, los tricotecenos y la zearalenona se consideran entre las micotoxinas más importantes. De las familias antes mencionadas, las aflatoxinas son las más importantes y en particular dentro de ellas, debido a su alta toxicidad la AFB₁ (Noa et al., 2001).

Las aflatoxinas son producidas principalmente por el género *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. El *Aspergillus* es un moho

que fundamentalmente pertenece a la flora de los productos que se almacenan. Por lo general, la temperatura mínima necesaria para desarrollarse y producir micotoxinas es de 10-12 °C. La actividad del agua (AW) mínima necesaria para iniciar su desarrollo y producir micotoxinas es de 0.75 y 0.83, respectivamente. El *Aspergillus* crece y puede producir micotoxinas de manera óptima a 25 °C y con una actividad del agua de 0.95; sin embargo, existen algunos tipos de *Aspergillus flavus* que en sustratos tales como el arroz, crece entre 6 y 45 °C con un óptimo de 37 °C y la producción de micotoxinas se efectúa entre 11 y 36 °C con un máximo de producción a 30 °C (Gimeno, 2005). Considerando lo anterior, podemos decir que el crecimiento del *Aspergillus flavus* y la producción de aflatoxinas son el resultado de la interacción entre el hongo, el huésped y el medio ambiente (Heydt et al., 2009; Probst et al., 2010). En el Cuadro 2 se presentan los niveles de temperatura óptimos para el crecimiento de algunas especies de *Aspergillus* (Chang et al., 2007).

Las aflatoxinas pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (principalmente maíz, trigo y arroz) y subproductos de cereales, tortas de oleaginosas (algodón, cacahuate, coco, girasol y otros), además de una serie de alimentos para humanos, de los cuales los más importantes son los cereales, frutos secos, productos de salchichonería, especias, vinos, leguminosas, frutas, leche y derivados (Gimeno, 2005), aunque este tipo de hongos también pueden estar presentes en suelos, sobre todo tropicales; sin embargo, la información sobre la ocurrencia de aflatoxina B₁ en suelo es escasa (Abbas et al., 2004; Accinelli et al., 2008). El suelo y el tejido de las plantas es considerado el hábitat natural para estos hongos

Cuadro 2. Temperatura y actividad del agua requeridas para el crecimiento de algunas especies de *Aspergillus*

Especies de <i>Aspergillus</i>	Temperatura °C		Actividad de Agua	
	Intervalo	Óptimo	Mínimo	Óptimo
<i>A. flavus</i> y <i>A. parasiticus</i>	6-45	35-37	0.78	0.95
<i>A. candidus</i>	3-44	35-32	0.75	0.90-0.98
<i>A. fumigatus</i>	10-55	40-42	0.85	0.98-0.99
<i>A. restrictus</i>	9-40	30	0.71	0.96
<i>A. versicolor</i>	4-39	25-30	0.78	0.95

Probst et al., 2010

(Geiser et al., 2000, Horn 2003, Jaime y Cotty 2010) el cual, sirve como reservorio del inóculo primario para la infección del cultivo susceptible (Skládanka et al., 2011).

La exposición a las aflatoxinas también se produce por el polvo suspendido en el aire generado durante la cosecha en el campo (67 ng.m³), la descarga de los granos (92 ng.m³), la limpieza de los silos (4849 ng.m³) y las operaciones de alimentación animal (421 ng.m³). Los polvos contaminados están asociados a un aumento de la incidencia de tumores de las vías respiratorias superiores. Los valores de la dosis letal media (DL₅₀) oral para perro, rata, mono, trucha y pollo son 1, 5-7, 2-8, 3-9 y 7-8 mg de aflatoxina B₁/kg de peso corporal, respectivamente (Hussein y Brasel, 2001).

Aflatoxinas

El nombre de las aflatoxinas hace referencia al hecho de ser biosintetizadas por el hongo *Aspergillus flavus*. La primera letra A, hace referencia al género *Aspergillus*, las tres siguientes letras FLA, debido a que proceden de la especie *flavus* y el termino TOXINA se refiere a su efecto tóxico (Ellis et al., 1991).

Las dos principales especies de *Aspergillus* que producen aflatoxinas son *Aspergillus flavus* que origina aflatoxinas B₁ y B₂; y *Aspergillus parasiticus* que producen las aflotoxinas B y G (Bogantes- Ledezma et. al., 2004). Todas las aflatoxinas son fluorescentes, bastante termo resistentes, se establecen en un rango de pH entre 3 y 10, sus puntos de fusión son superiores a los 250 °C (Vega y León, 1998). Se han identificado 18 tipos de aflatoxinas caracterizados con las letras B y G, distinguidos por su color fluorescente bajo la luz ultravioleta (B: "Blue", azul y G: "Green", verde); y los subíndices 1 y 2 para cada molécula química relativa a su movilidad cromatográfica. No presentan olor ni sabor, y de los 18 tipos de aflatoxinas solo 6 tienen significación como contaminantes de los alimentos: B₁, B₂, G₁, M₁ y M₂ (Vega y León, 1998).

Las aflatoxinas se pueden encontrar dentro del organismo animal, ya sea en su estructura química original, transformada o bien ambas. El organismo de los animales tienen la capacidad para transformar las aflatoxinas origi-

nales en derivados de estas, los cuales pueden ser también tóxicos (Gimeno y Martin, 2001).

Aflatoxina B₁ (AFB₁)

Es la más carcinogénica y toxica, es procarcinogénica, es decir la molécula original en si no es cancerígena sino su metabolito. Su fórmula estructural es: C₁₇ H₁₂ O₆; su peso molecular es de 312 y su punto de fusión es de 268-269 °C (Redy et al., 2003).

Aflatoxina M₁ (AFM₁)

Es un metabolito hidroxilado de la AFB₁ secretada en la leche y orina de los animales que consumen alimentos contaminados con AFB₁ (se utiliza la letra M de "Milk Aflatoxin", aflatoxinas aislada de la leche). La cantidad de AFM₁ secretada es proporcional a la cantidad de AFB₁ ingerida. La tasa de conversión de AFB₁ en AFM₁ oscila entre 0.4 % y 3% (Redy et al., 2003).

Toxicocinética

Las aflatoxinas son absorbidas en el tracto gastrointestinal debido a su alta liposolubilidad y son biotransformadas en el hígado (Gross y Eaton, 2012). Aproximadamente el 80% de la dosis total de AFB₁ se excreta en una semana. La AFM₁ se excreta en las 48 h siguientes a la ingestión y representa el 1-4% de la AFB₁ ingerida (IARC, 2002).

Las aflatoxinas tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. El principal síndrome que producen es el hepatotóxico, pudiendo también provocar problemas renales. Los principales órganos afectados son: el hígado, riñón y cerebro. Las aflatoxinas son inmunosupresoras ya que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica interrumpiendo la formación del ADN, ARN y proteínas en el ribosoma; la absorción de los aminoácidos se ve alterada y su retención hepática aumenta (Sharma, 1993).

La AFB₁ requiere ser activada para producir mutaciones. La ruta de activación es la conversión de AFB₁ en el metabolito electrofílico AFB₁-8. 9-epóxido (Fernández et al., 1997). La formación del epóxido requiere de la presencia de un doble enlace entre los carbonos C8-

C9. La AFM₁ aunque presenta el doble enlace entre los carbonos C8 y C9, es 2 veces menos tóxica que la AFB₁ en cuanto a carcinogenicidad se refiere (Díaz, 1996). La AFB₁ - epóxido presenta dos conformaciones: una endo y una exo. La forma endo posee aproximadamente 500 veces más poder mutagénico que la forma exo (Steyn et al., 1999, Klaassen et al., 2001). Una porción de aflatoxina es activada y fijada en los tejidos hepáticos. Otras formas conjugadas solubles en agua, productos de degradación de la AFB₁ y metabolitos no conjugados de esta, son excretadas en el sistema circulatorio sanguíneo y se distribuyen de forma sistémica. Eventualmente, estos residuos van a la leche, huevos, músculo y tejidos comestibles. La AFB₁ es uno de esos derivados metabólicos que va a la leche contaminándola. De la AFB₁ se forman otros metabolitos, entre ellos, el aflatoxicol (18 veces menos tóxico que la AFB₁) y la aflatoxina B₂a (no tóxica). El organismo animal produce generalmente esos productos metabólicos como un sistema de autodesintoxicación (Gimeno, 2005).

Relación entre la cantidad de AFB₁ ingerida y la concentración de AFM₁ excretada en la leche

En vacas lecheras la relación de la concentración de AFB₁ en la ración final y la de AFM₁ excretada en la leche puede ser de 300:1; sin embargo, esa relación es sólo aproximada y el rango oscila entre 34:1 a 1600:1. Así pues, en vacas lecheras Holstein consumiendo raciones finales con 80, 86, 470, 557, 1493 y 1089 microgramos de AFB₁/Kg (ppb sobre la sustancia seca) se encontraron concentraciones de AFM₁ en leche del orden de, 1,5; 0,245; 13,7; 4,7; 12,4 y 20,2 microgramos/litro (ppb), respectivamente.

En otro trabajo con vacas se encontró que cuando la contaminación en la ración fue de 540 ppb de AFB₁, en la leche se encontró 0,92 ppb de AFM₁. Con otros animales, los valores de contaminación en la ración oscilaron entre 64 y 1799 ppb de AFB₁ observándose residuos en leche entre 0,35 y 14,2 ppb de AFM₁. Con una ingesta de AFB₁ correspondiente de 2-60 mg/vaca/día, los residuos de AFM₁ en leche podrían oscilar entre 1 y 50 ppb. Esto represen-

taría raciones finales contaminadas desde 57 hasta 1714 ppb de AFB₁ para consumos de 35 Kg de ración/vaca/día. La vaca puede ya transformar AFB₁ en AFM₁ dentro de las 12-24 horas de ingestión del alimento contaminado. Incluso a las 6 horas ya pueden aparecer residuos de AFM₁ en la leche (Gimeno, 2005).

Algunos estudios refieren que el nivel de residuos de AFM₁/día (mg) en leche, podría ser aproximadamente el 2.2 % de la ingesta diaria de AFB₁ (mg), con un CV entre 42 y 59%. Dividiendo el resultado obtenido por el número de litros de leche producidos/vaca/día y multiplicando por 1000, nos daría la concentración aproximada de AFM₁ (ppb) en la leche (Martínez, 2009). La tasa media de conversión de AFM₁ en la leche con relación a la ingesta de AFB₁, reportado por Magan y Olsen (2004) fue de 1.81% (rango de 0.32 a 6.2%). Estos estudios concluyen que las variaciones en la conversión de AFM₁ son significativas, aún a niveles altos o bajos de contaminación de AFB₁ (Prandini et al., 2009).

La concentración de AFM₁ en la leche puede variar según la raza de la vaca, la concentración de AFB₁ en la ración, la cantidad y la duración del consumo de alimento contaminado y el estado de salud del animal. Sin embargo, a todo esto debemos añadir que las discordancias de correlación que han surgido entre autores podrían ser debidas, entre otras cosas, al sistema metabólico de un animal poligástrico, lo que provoca que las concentraciones de AFM₁ en la leche varíen entre animales, de un día para otro y de una producción de leche a la siguiente (Gimeno, 2005).

Efectos tóxicos de las aflatoxinas

Actualmente, se considera que las aflatoxinas son las micotoxinas que representan el mayor riesgo para la salud, en especial por su actividad mutágena y carcinógena y por lo tanto, su presencia en los alimentos debe de reducirse al mínimo. Entre las aflatoxinas, la AFB₁ es la considerada como la de mayor riesgo porque es la que presenta mayor poder hepatotóxico y cancerígeno de las cuatro aflatoxinas comúnmente encontradas de manera natural en los alimentos. La Aflatoxina G₁ es de toxicidad

dad menor que la AFB₁, la Aflatoxina G₂ no es cancerígena y la Aflotoxina B₂ es poco tóxica (Vega y León, 1998).

La ingesta de micotoxina diaria que puede ser tolerada (TDI) para el AFB₁ está comprendida entre 0.11 y 0.19 ng/kg del peso corporal/día (0.00011 y 0.00019 microgramos/kg del peso corporal/día), con un factor de seguridad de 5000 y un nivel de riesgo de 1/100000. Los valores estimados del nivel de micotoxina con el que no se observan efectos adversos para la AFM₁ y la AFB₁ son <2.5 y 0.75 microgramos/kg del peso corporal/día, respectivamente (Gimeno y Martín, 2001). La AFM₁ y la AFB₁ tienen un TD₅₀ (Dosis de micotoxina con la cual el 50% de los individuos pueden desarrollar tumores malignos) de 10,38 y 1,15 µg/kg pc/día, respectivamente, por lo que se considera que la potencia carcinógena de la AFM₁ es aproximadamente 10 veces inferior a la de la AFB₁ (Cullen et al., 1987).

La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, 2002), clasifica a las aflatoxinas como carcinógenas o posiblemente carcinógenas para el hombre de acuerdo a los siguientes grupos:

Grupo 1: Agente carcinógeno en humanos. En este grupo se encuentra la AFB₁.

Grupo 2B: agente posiblemente carcinógeno; la evidencia en humanos es limitada y tampoco hay suficiente evidencia con animales de experimentación. En este grupo se encuentra la AFM₁.

Los principales factores que determinan la severidad de los efectos de las aflatoxinas en los humanos son:

- Biodisponibilidad y toxicidad de la Aflatoxina
- Sinergismos entre micotoxinas
- Cantidad de aflatoxina ingerida diariamente en función de su concentración y de la cantidad de alimento ingerido
- Continuidad en la ingestión del alimento contaminado
- Peso, estado nutricional y de salud (patologías propias) del individuo
- Edad del individuo. Los niños y los jóvenes son más susceptibles a la toxicidad de las aflatoxinas debido a una mayor variación

del metabolismo basal. Ellos pueden no tener suficientes mecanismos bioquímicos para la desintoxicación (Martínez, 2009; Requena, 2005).

En los niños el cerebro continúa su desarrollo durante muchos años después del nacimiento y esto puede causar una mayor susceptibilidad a las micotoxinas que afectan al sistema nervioso central. De acuerdo con los factores antes mencionados, las aflatoxinas originan 2 tipos de toxicidad:

- Aguda: Está asociada con el consumo de elevadas concentraciones de aflatoxinas y que pueden acabar con la vida.
- Crónica: Se asocia con el consumo de bajas concentraciones de aflatoxinas durante periodos prolongados (Wood, 1992).

Según Martínez (2009) y Requena (2005), los efectos que pueden causar las aflatoxinas son:

- Disminución de defensas y por consiguiente, aumento de susceptibilidad a enfermedades infecciosas. La inmunosupresión producida por las aflatoxinas se manifiesta como una disminución de los linfocitos T o B, supresión de los anticuerpos y retraso en la actividad de los macrófagos y neutrófilos.
- Cáncer de colon
- Cáncer de pulmón
- Carcinoma hepatocelular
- Cirrosis
- Congestión pulmonar
- Disturbios reproductivos: descenso de la fertilidad, abortos, partos prematuros
- Efectos dermonecróticos con ulceración
- Fibrosis hepática
- Hematomas
- Hemorragias gastroentéricas
- Hepatitis aguda
- Mutagenicidad
- Sistema Nervioso Central (incoordinación, temblores, convulsiones)
- Teratogenicidad
- Muerte.

En el caso de los animales, además de los efectos antes mencionados, la toxicidad crónica es la que más importancia tienen en la economía de los animales de granja; ya que puede haber reducción del consumo de alimentos, disminución en la ganancia de peso,

menor índice de conversión, disminución de la producción de leche, depresión y mayor susceptibilidad a enfermedades infecciosas.

La AFM₁ se detecta en la leche del animal de 12 a 24 horas después de la ingestión de AFB₁, alcanzando los niveles más elevados a los 2 o 3 días, y disminuyendo hasta desaparecer totalmente 4 o 5 días después de su última ingesta (Soriano et al., 2007; Battacone et al., 2011).

Métodos de análisis de las aflatoxinas

La importancia del análisis de micotoxinas en los alimentos, reside en el cumplimiento de las reglamentaciones y en la verificación de los sistemas de control de seguridad alimentaria. Los métodos normalizados de análisis para diferentes micotoxinas han sido recomendados por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) y el Comité Europeo de Normalización (Soriano et al., 2007).

Los métodos para determinar la presencia de las aflatoxinas en diversos sustratos se clasifican en:

- Físico-Químicos. Requieren de un elevado consumo de reactivos para la extracción y purificación de las aflatoxinas presentes en la muestra y en algunos casos, el costo del equipamiento es elevado. En esta categoría se encuentra: la Cromatografía en capa fina, cromatografía de gas-líquido y la Cromatografía de alta resolución.

—Cromatografía en capa fina (CCF). El éxito de su aplicación depende del tipo de absorbente (silica gel G60 y F 254), del sistema de solventes (cloroformo, metanol, benceno, acetona y éter etílico) y del método de detección (fluorescencia). La sensibilidad, exactitud y resolución del análisis de este método se vieron mejoradas con la introducción de la Cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC).

—Cromatografía de gas-líquido (CGL). La alta polaridad, baja volatilidad e inestabilidad térmica de las moléculas de aflatoxinas han limitado el uso de CGL para la determinación de estas sustancias. Sin embargo, el uso de columnas capilares de sílice fundida y detectores como Espectrometría de Masas ha permitido detectar

AFB₁ en maíz y crema de cacahuete por este método, no así en la leche (Noa et al., 2001).

—Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). La cromatografía se define como la separación de los componentes de una muestra, distribuyéndose en 2 fases: estacionaria y móvil (Quattrocchi et al., 1992). Es uno de los métodos físico-químicos de separación de más amplia utilización en el mundo, ya que cubre prácticamente todos los campos de análisis en las ciencias. La separación se puede aplicar en el análisis químico o la detección cualitativa y/o cuantitativa de los componentes separados a partir de una mezcla, siendo esta la “Cromatografía analítica”. Mientras que, si se colectan las fracciones por separado con otro fin se le denomina “Cromatografía preparativa” (Noa et al., 2005).

La cromatografía líquida de alta resolución, conocida hoy en día como HPLC, se desarrolló a mediados de los años 70’s y rápidamente adquirió un gran número de aplicaciones gracias a la generación de nuevas fases estacionarias. Hacia finales de los años 70’s apareció la cromatografía líquida de fase reversa, que permitió la separación de compuestos muy similares entre sí (Noa et al., 2005). Este es el método más habitual para el análisis de micotoxinas, acoplada a distintos detectores. Entre las ventajas más importantes que presenta se encuentra la posibilidad de separar sustancias termolábiles, no volátiles, polares y apolares con aceptable resolución entre sustancias químicamente similares, de manera rápida y reproducible. (Soriano et al., 2007).

- Biológicos. Son métodos inespecíficos y su realización consume mucho tiempo. En esta categoría se encuentran: pruebas de bioensayos en embriones de pollo y microorganismos y los ensayos inmunológicos (Radioinmunoensayo y ELISA).

—Análisis inmunoenzimáticos. Superan las dificultades de las técnicas cromatográficas convencionales y de los bioensayos, ya que tienen mejor sensibilidad y especificidad, unido a un menor tiempo de ejecución. Por estos motivos, en 1990 la AOAC incluyó al prueba de ELISA como método oficial para el análisis de aflatoxinas en alimentos, cuando la concentración sistemática de estos procesos es limitada

y tienen que reconfirmar los resultados positivos ya que ELISA puede dar “falsos positivos” (Gimeno y Martín, 2001).

—Radioinmunoensayo. Presenta la desventaja que los juegos de reactivos tienen una vida limitada en dependencia del isótopo y además, el costo de equipamiento es alto y se requiere de regulaciones especiales para el personal que trabaja con isótopos radiactivos (Noa et al., 2001).

Aflatoxina B₁ en alimentos

La salud y la productividad de un animal, junto con la calidad e inocuidad de su leche producida, dependen básicamente de la calidad y el manejo del alimento que consumen. Ningún alimento destinado a la nutrición de los animales productores de leche debe presentar algún riesgo de contaminación: física, química o microbiológica. Tanto el alimento comercial, como el producido en la granja, deben considerarse como potencial de riesgo para la salud. Todo el alimento, incluyendo forrajes, deberá ser examinado cuidadosamente antes de proporcionarlo a los animales, para cerciorarse de que no exista presencia de contaminantes (tierra, cuerpos extraños, alambre, hongos, entre otros), ya que si estos están contaminados con AFB₁ en consecuencia la leche y sus derivados también estarán contaminados con AFM₁ (Trujillo, 2002).

La contaminación de alimentos por hongos es un fenómeno muy frecuente, debido a que sus esporas se encuentran ampliamente distribuidas en el medio ambiente (aire, agua, suelo); de tal modo que en la producción agrícola podemos encontrar frecuentemente la presencia de algún tipo de micotoxinas adquiridos naturalmente en el campo (Escobar et al., 2005). Los hongos son capaces de desarrollarse como ya lo señalamos en cualquier punto de la cadena alimentaria, pudiendo contaminar los alimentos cuando estos son cultivados, transportados, procesados, transformados o almacenados en condiciones que favorezcan su desarrollo (pH, humedad relativa, humedad del grano, tiempo de almacenamiento, presencia de microflora).

Como lo mencionamos, uno de los factores que condiciona el nivel y la síntesis de aflatoxinas es el sustrato. De esta manera, alimentos

con elevadas concentraciones de hidratos de carbono y de ácidos grasos favorecen la producción de toxinas. Sustratos ricos en proteínas y bajos en hidratos de carbono no incrementan la producción de aflatoxinas (Martínez, 2009).

Los alimentos considerados más susceptibles a la contaminación fúngica y la consiguiente producción de aflatoxinas son: cacahuate, maíz, sorgo, trigo, cebada, avena, arroz, frijoles, semillas del algodón, oleaginosas como el girasol y la soja, coco, frutos secos (almendras, avellanas, nueces), frutas deshidratadas (higos, pasas), hierbas, especias (pimentón y pimienta), café, cacao, piensos, ensilados, aceites vegetales sin refinar, cerveza, leche, queso y otros derivados lácteos (Bolet y Socarrás, 2005).

Aflatoxina M₁ en la leche y derivados lácteos

Entre las propiedades de las aflatoxinas destaca su gran termo resistencia, ya que su punto de fusión está por arriba de los 200 °C. Debido a esto la AFM₁ resiste a la pasteurización y la

Cuadro 3. Presencia de aflatoxinas en algunos alimentos encontrados en diferentes países

Alimento	País	Incidencia (%)	Aflatoxina	Concentración (µg/kg)
Cacahuate	Brasil	90	B/G	30-5000
	E.E. U.U.	90	B/G	24
	Egipto	82	B1	Positiva
	Brasil	67	B1	43-1099
	Filipinas	57	B/G	3-2888
	Chipre	56	B1	>10
	Ghana	12-32,7	B1	Positiva
	Uganda	12	B1	>100
Maíz	E.E. U.U.	90	B/G	10-700
	México	89	B/G	2,3-30
	Costa Rica	80	B1	>20
	China	76	B1	>20
	Bangladesh	67	B1	33
	Nigeria	45	B1	25-770
	Brasil	38,3	B1	0,2-129
	Uganda	29	B1	1-100
	India	26	B1	>30
	Nigeria	25	B1	19
	Corea	12	B1	26
Arroz	India	100	B1	20
	China	13	B1	5-50

Moss (2002)

ultrapasteurización, por lo que es posible encontrarla en la leche y derivados lácteos obtenidos de animales que consumen alimentos contaminados con AFB₁ (Vega y León, 1998).

La AFM₁ es, en general, estable en algunos quesos, yogures, leche pasteurizada, leche desnatada o entera y helados. En procesos de pasteurización a 63 °C durante 30 minutos, pasteurización a 77 °C durante 16 segundos, calentamientos a 64-100 °C durante 15 – 20 minutos, calentamientos directos durante 3 – 4 horas y en algunos procesos de pasteurización y esterilización, la contaminación original de la leche permanece prácticamente inalterada. En algunos quesos y dentro de su proceso de elaboración y con calentamientos a 82 – 100 °C entre 5 a 30 minutos no se han conseguido reducir las tasas de contaminación. Por lo anterior, la mejor prevención para evitar la contaminación con AFM₁ es la de no suministrar al animal raciones contaminadas con AFB₁. Los métodos de selección de granos de cereales y los descascarados y posterior separación mecánica de la cascara y el polvo del resto del cereal, resultan adecuados para una descontaminación; lo anterior se debe a que habitualmente la mayor concentración de micotoxinas ocurre en el pericarpio de los granos y en el polvo del cereal. Estas prácticas pueden ser utilizadas tanto en los alimentos destinados a los animales como para los humanos.

Con la finalidad de conocer la presencia de este contaminante numerosos estudios se han realizado para intentar identificar el nivel de contaminación por AFM₁ en la leche y productos lácteos. En muchos de ellos, sobre todo en los países en vías de desarrollo, se observa que la presencia de AFM₁ está relacionada con determinadas condiciones ambientales de humedad y temperatura que facilitan el crecimiento de los hongos en los alimentos. Además, durante el buen tiempo, en muchas zonas el ganado se alimenta de pastos, pero en época de frío y/o sequías existe el riesgo de que los piensos que se utilizan para alimentarlos hayan estado almacenados durante un largo periodo y por lo tanto estar contaminados. Lo anterior resulta muy importante en Chiapas, en donde comúnmente se utilizan grandes cantidades de pollinaza para alimentar al ganado, la cual al almace-

narse podría contaminarse por este hongo. La experiencia empírica al respecto, ha reportado reiteradamente la presencia de hongos en este subproducto de la avicultura (Ruiz, 2016).

La mayoría de los estudios publicados sobre la leche analizan leche de vaca, pero la AFM₁ puede también aparecer en la leche de oveja, cabra, búfala y camella. En la dieta de determinadas poblaciones, estas leches son más habituales que la leche de vaca por lo que es importante extender los análisis a leches de otros animales (Soriano et al., 2007). Desafortunadamente, en muy pocos países existen programas de supervisión constante de aflatoxinas en la leche, por lo que pueden estarse ingiriendo micotoxinas a través de la leche y de sus derivados sin que exista control alguno de su contenido en dichos productos (Ortega, 1998).

En un estudio realizado en el estado de Jalisco, México, demostró la presencia de AFM₁ en la leche de vaca, aunque los niveles observados estuvieron por debajo de lo establecido por la Normatividad Mexicana (Reyes et al., 2009).

Recientemente se realizó una investigación para identificar la presencia de aflatoxina M₁ en la leche orgánica producida en el municipio de Tecpatán, Chiapas. Se analizaron mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) muestras de forraje, suelo, agua y leche provenientes de diversas unidades de producción en las cuales no se identificó la presencia de aflatoxina B₁ ni de aflatoxina M₁. Lo anterior podría haberse debido a la presencia de ciertos inhibidores biológicos naturales como es el caso de los flavonoides presentes en frutas, hortalizas, flores y en algunos forrajes; en el caso de estos últimos, existen especies, como la grama de los prados (*Poa pratensis*) que presentan mayor resistencia a la infección por hongos (Mishra y Das, 2003; Holmes et al., 2008; Skládanka et al., 2011; Murga, 2014).

La distribución de la AFM₁ en algunos alimentos elaborados con leche contaminada es aproximadamente la siguiente: 40-60% en quesos, 10% en crema y menor del 2% en mantequilla (López et al., 2001). En la fabricación de yogur se observa una disminución de la concentración de AFM₁ en función del pH y de las condiciones de almacenamiento (Gimeno y Martíns, 2001).

Prevención y control de las micotoxinas

La prevención y control de las micotoxinas en los alimentos, radica en la rastreabilidad de todas las etapas de producción, transformación y distribución de un alimento, es lo que se conoce como la ruta “desde la granja a la mesa” (López et al., 1999); y está sustentada básicamente por tres elementos:

—Buenas prácticas agrícolas. Es una herramienta que identifica los principios esenciales de higiene y manejo del cultivo para productos frescos en la producción primaria desde el campo hasta la cosecha reduciendo la contaminación de micotoxinas del cultivo que pueda poner en riesgo la inocuidad del producto en etapas posteriores de la cadena alimentaria. Entre las buenas prácticas agrícolas cabe destacar:

1. Control de los insectos y parásitos, debido a que su presencia puede causar daños físicos en el cultivo que favorezca el crecimiento de hongos micotoxigénicos
2. Control de la infección fúngica, mediante el empleo de fungicidas de acuerdo a una práctica de aplicación correcta
3. El uso de variedades resistentes a hongos y plagas
4. La separación física de granos dañados, inmaduros o infestados por hongos
5. Una de las características habituales de la contaminación de micotoxinas en cereales, como lo comentamos, es que la mayor concentración de ellas se encuentra en el pericarpio de los granos y en polvo del cereal: por esta razón, se deben separar mecánicamente la cáscara y el polvo del resto del cereal (Martínez, 2009).

—Buenas prácticas de almacenaje y manufactura. Se centralizan en la higiene y la forma de manipulación durante el empaquetamiento, almacenamiento, transporte y su industrialización en caso de así requerirlo. Es importante mantener unas correctas condiciones de almacenamiento y manufactura, mediante la vigilancia de varios parámetros como:

1. Los almacenes deben estar secos y que no permitan la entrada de agua
2. Humedad no superior a 12%
3. Actividad de agua inferior a 0.7
4. Temperatura de 20 a 22 °C

5. Ventilación
6. Medidas de desinfección, sanitización y desratización que eviten proliferar hongos micotoxigénicos
7. Cumplir las especificaciones sanitarias de las normas de almacenamiento (las estibas, no deben estar en el suelo los granos, etc.)
8. Inspección periódica del producto almacenado
9. En la elaboración de ensilados, debido a las excelentes condiciones de humedad y actividad de agua que la materia prima tiene de una forma natural y que son ideales para el crecimiento fúngico; se debe asegurar que la materia prima este bien empacada, con la menor cámara de aire posible y que el silo este bien cerrado para conseguir una atmósfera anaerobia. (Gimeno y Martín, 2001).

—Sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC). Se identifican los puntos donde aparecen los peligros más importantes para la seguridad del alimento (biológico, físico o químico) en las diferentes etapas del procesado, con un objetivo claro: adoptar medidas precisas y evitar que se desencadenen riesgos y se presenten peligros. Esta metodología permite, a partir de las fallas, hacer un análisis de las causas que los han motivado y adoptar medidas que permitan reducir o eliminar los riesgos asociados a estas fallas.

En nuestro estado, es altamente recomendable evitar el suministro de pollinaza en la dieta de las vacas, por el riesgo de que este subproducto avícola está contaminado con hongos, lo cual suele ocurrir, estos puedan aparecer en la leche y sus derivados. En este subproducto también podemos encontrar otros tóxicos potencialmente dañinos para la salud de las personas.

Diversos autores mencionan que una estrategia práctica para prevenir las aflatoxinas en los alimentos es la adición de adsorbentes no nutritivos en el alimento, los cuales se unen a las aflatoxinas en el tracto gastrointestinal y reducen su biodisponibilidad y distribución en la sangre, hígado, otros órganos y a la leche (Avantaggiato et al., 2005; Spotti et al., 2005; Phillips et al., 2008).

Rojo et al., (2014) en una evaluación de tres adsorbentes utilizados para la reducción de aflatoxina M_1 en leche de vacas alimentadas con dietas contaminadas artificialmente con AFB, encontraron una disminución significativa en los niveles de AFM_1 en la leche y concluyen que la exposición artificial de AFB_1 , en raciones totalmente mezcladas (RTM), es un método confiable para evaluar la eficiencia de adsorbentes comerciales de micotoxinas en vacas productoras de leche.

Aspectos legislativos de las aflatoxinas y normativa vigente

Desde el descubrimiento de las aflatoxinas en los años sesenta, los gobiernos de la mayoría de los países del mundo han ido fijando límites máximos aceptables para distintas micotoxinas en los alimentos, mediante la promulgación de una reglamentación particular. Lo anterior ha ocasionado la aparición de una amplia legislación en el ámbito internacional que, para una misma micotoxina, difiere en los niveles de aceptación según el país considerado. Instituciones nacionales y organizaciones internacionales, como la Comisión Europea, la Food and Drug Administration (FDA) de E.E.U.U., la Organización Mundial de la Salud (WHO) y la Food and Agriculture Organization (FAO) han reconocido los potenciales riesgos para la salud de los animales y la especie humana que plantea la contaminación de alimentos por micotoxinas, abordando este problema mediante la adopción de límites reglamentarios. De esta manera, a finales de 2003 aproximadamente 100 países contaban ya con límites específicos para las micotoxinas y este número continúa incrementándose poco a poco (FAO, 2004). Las aflatoxinas son las micotoxinas más frecuentemente legisladas.

Así, mientras en los Estados Unidos el máximo de aflatoxina B_1 es de 15-20 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en la mayoría de productos y de aflatoxina M_1 0.5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ en leche, la Unión Europea considera que debe haber un máximo de 5 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ y 0.05 $\mu\text{g.kg}^{-1}$, respectivamente. La mayoría de países latinoamericanos no tienen regulaciones o son muy laxos en la aplicación de estos reglamentos y se acepta hasta 50 $\mu\text{g.kg}^{-1}$ (Arroyo et al., 2014).

Cuadro 4. Límites Máximos Permisibles (LMP) establecidos en distintos países para AFB_1 y AFM_1

Alfatoxina	Producto	País	LMP
B_1	Alimentos	UE (Official Journal of the European Union, 2003)	5 $\mu\text{g/kg}$
		México (NOM-188-SSA1-2002), América	20 $\mu\text{g/kg}$
M_1	Leche	Latina UE (Official Journal of the European Union, 2003a)	0.05 $\mu\text{g/L}$
		México (NMX-F-728-CO-FOCALEC-2007), Estados Unidos (FDA, 2000), 21 países de África; Asia/Oceanía, América Latina y Europa	05 $\mu\text{g/L}$
M_1	Queso	Holanda	0.2 $\mu\text{g/kg}$
		Austria, CODEX ALIMENTARIUS (2001)	0.25 $\mu\text{g/kg}$

(FAO, 2004; Arroyo et al., 2014)

La legislación de los Estados Unidos establece para alimentos completos y alimentos complementarios destinados al ganado bovino, ovino y caprino lechero una concentración máxima permitida de 0.005 mg de AFB_1/kg de alimento (5ppb) con una humedad de 12%. Para leche cruda, leche destinada a la fabricación de productos a base de leche y leche de consumo térmicamente, la concentración máxima permitida de AFM_1 es de 0.05 microgramos/litros o Kg (0,05 ppb) (OJEU, 2003). En el caso de productos preparados para lactantes, preparados de continuación (incluidas la leche para lactantes) y alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes, la concentración máxima permitida de AFM_1 es de 0.025 microgramos/kg (0.025 ppb) (OJEU, 2003).

Existe escasa legislación para los quesos y para la mantequilla; en algunos países de Europa como Holanda y Austria, la concentración máxima permitida de AFM_1 es de respectivamente de 0.200 y 0.250 ppb para quesos y de 0.02 ppb para mantequilla (CAST, 2003). La FDA (2000), establece que la cantidad máxima permitida AFM_1 en leche entera, semidescremada y descremada es de 0.5 ppb.

Esta norma ha sido también adoptada por algunos países de la América Latina, entre ellos los que forman parte de MERCOSUR (Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay). Como podemos observar, el nivel de concentración máximo permitido en USA y otros países del

continente americano es de 10 veces superior a lo permitido por la UE.

En México, los límites que se han establecido en las normas para aflatoxina B₁ en alimentos son de 0-50 µg.kg⁻¹ y de 0-1 µg.kg⁻¹ para aflatoxina M₁ en leche y derivados. También se menciona que el límite máximo permitido es de 20 mg/ kg de alimento de AFB₁ y en la leche de 0.5mg/litro de leche de AFM₁ (Norma Oficial Mexicana, 2002; Norma Oficial Mexicana, 2008; Norma Oficial Mexicana, 2010)

CONCLUSIONES

Debido a que las aflatoxinas son unos contaminantes ampliamente difundidos y que están presentes en muchos alimentos, incluyendo a la leche y sus derivados, se hace necesario conocerlas, investigarlas y desarrollar programas de detección permanentes en las explotaciones ganaderas a fin de evitar que los alimentos que consume el ganado se contaminen y como consecuencia produzcan un producto con riesgos a la salud del consumidor.

Actualmente tanto en el mercado de la industria lechera nacional como en el de los consumidores directos de los productos lácteos están demandando alimentos frescos, inocuos y de calidad; con este tipo de contaminación no es posible lograrlo, además tienen un gran impacto en la salud pública ya que como vimos anteriormente las aflatoxinas generan metabolitos que tienen una gran actividad cancerígena, teratogénica y mutagénica. En México existe poca información sobre la presencia de aflatoxinas en los alimentos, en la leche y sus derivados, por lo que resulta muy importante y urgente realizar estudios sobre la magnitud de la presencia de esos tóxicos, debido a que el mercado de los lácteos tienen un alto y creciente consumo en la población, principalmente en niños, mujeres embarazadas y adolescentes quienes pudieran resultar los más afectados. Como vimos anteriormente, los niveles permitidos por la Norma Internacional varían entre países, pero debemos impulsar por mantener el nivel de riesgo lo más bajo posible de estos tóxicos, aunque la ausencia total tanto en los alimentos que consume el ganado como los productos que generan es prácticamente imposible.

Actualmente en la cadena producción -consumo de la leche y sus derivados se corre el riesgo de que este alimento este expuesto a la contaminación por micotoxinas, metales pesados, hidrocarburos, dioxinas, bacterias, parásitos, virus etc. los cuales representan un riesgo importante para la salud y nuestra obligación como profesionistas relacionados con los alimentos es ofrecer a la población los alimentos más sanos posibles, un difícil reto que debemos de enfrentar y lograr. Por lo anterior, esperamos que este trabajo contribuya a lograr el objetivo antes planteado.

REFERENCIAS

- Abbas, H.K., Zablutowicz R.M. & Locke, M.A. (2004). Spatial variability of *Aspergillus flavus* soil population under different crops and corn grain colonization and aflatoxins. Canadian Journal of Botany, 82, 1768-1775
- Accinelli, C., Abbas H.K., Zablutowicz, R.M., & Wilkinson J.R. (2008). *Aspergillus flavus* aflatoxin occurrence and expression of aflatoxin biosynthesis genes in soil. Canadian Journal Microbiology, 54, 371-379
- Arroyo, N., Huertas, J., Gámiz, L., y García, A. (2014). Control de micotoxinas en alimentos. Boletín Graseqa. Granada, España. 7, 16-31
- Avantaggiato, G., Solfrizzo, M., and Visconti, A. (2005). Recent advances on the use of adsorbents materials for detoxification of *Fusarium* mycotoxins. Food Addit Contam, 22(4), 379-388
- Battacone, G., Nudda, A., Palomba, M., Rassu, SP., Decandia, M. & Pulina, G. (2011). Excretion pattern of aflatoxin M₁ in milk of goats fed a single dose of aflatoxin B₁. Journal of Dairy Science, 95, 2656-2661
- Bennett, J.W., & Klich, M. (2013) Mycotoxins. Clinical Microbiology Review, 16(3): 497-516
- Bolet, M., y Socarrás M. (2005). Micotoxinas y Cáncer. Revista Cubana de Investigación Biomédica Veterinaria. No 1. Ciudad de la Habana, Cuba
- Bogantes- Ledezma, P., Bogantes-Ledezma, D., y Bogantes- Ledezma S. (2004). Aflatoxinas. Acta Médica Costarricense. 46(4). Recuperado en Abril 2016, proviene de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022004000400004
- CAST (Council for Agricultural Science Technology). (2003). Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, Human Systems". Task Force Report, n°139. pp. 1-199. Ames. Iowa. USA
- Chang, P., Matsushima, K., Takahashi, T., Yu, J., Aber, K., Bhatnagar, D., Yuan, G. & Cleveland, T. (2007). Understanding nonaflatoxigenicity of *Aspergillus sojae*: a windfall of aflatoxin biosynthesis research. Applied Microbiology Biotechnology, 76:977-984
- Constans, A.A., Solans, L.X. & Alonso, E.R.M.. (2010). Micotoxinas En Ambientes Laborales. Ministerio de trabajo e investigación. Instituto Nacional de seguridad e higiene en el trabajo. Valencia España. Recuperado en Abril 2016, proviene de <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/postersTecnicos/ficheros/Micotoxinas%20en%20ambientes%20laborales.pdf>
- Cullen, J.M., Ruebner, B.H., Hsieh, L.S., Hyde, D.M. & Hsieh, D.P.H. (1987). Carcinogenicity of dietary aflatoxin M₁ in male Fisher rats compared to aflatoxin B₁. Cancer Research, 47: 1913-1917

- Díaz, G.J. (1996). Micotixinas y Miconotxicosis en Salud Humana y Animal. Primera Parte. Revista Veterinaria al Día. 2:28-34
- Ellis, W.O., Smith, J.P., Simpson, B.K., and Oldham, J.H. (1991). Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection and methods of control. Rev. Food Science. Nutrition. 30, 403-439
- Escobar, A. S., Vega, R., Gutiérrez, M. C., y Díaz, G. (2005). Aflatoxina M₁ en Leche y Derivados Lácteos. Revista Actualidad y Perspectiva en América Latina. CARNILAC. Industrial. México, D.F.
- FAO (2004). Statistical database. Recuperado en Mayo 1, 2015, proviene de <http://faostat.fao.org>.
- FDA U.S. (Food and Drug Administration). (2000). Action Levels for Poisonous or Deleterious Substances in Human Food and Animal Feed. Recuperado en Mayo 1, 2015, proviene de <http://vm.cfsan.fda.gov/~Ird/fdaact.html>.
- Fernández de Oliveira, C.A. & Leal, G.M.P. (1997). Aflatoxinas: Conceptos de Mecanismos de Toxicidad y su Relación con la etiología del Cáncer Hepático. Revista Salud Pública, No 31, 417-424
- Geiser, D.M., Doner, J.W., Horn, B., and Taylor, J. (2000). The phylogenetics of micotoxin and sclerotium production in *Aspergillus flavus* and *Aspergillus oryzae*. Fungal Genetics and Biology, 31, 169-179
- Gimeno, A., y Martins, M.L. (2001). Residuos de Aflatoxina M₁ y otras Micotoxina en Leche y Derivados, control y recomendaciones. Recuperado en Enero 7, 2016, proviene de <http://www.ergomix.com>.
- Gimeno A. (2005). Aflatoxina M₁ en la Leche. Riesgos para la salud pública, prevención y control. Revista de la Asociación Portuguesa de la Industria de los Alimentos Preparados para Animales. (IACA-LISBOA-PORTUGAL). No 49. Lisboa, Portugal
- Gross, K., and Eaton, D. (2012). Dietary modulation of the biotransformation and genotoxicity of aflatoxin B₁. Toxicology, 299, 69-79
- Haydt, M., Hadi, A., Magan, N., and Geisen, R. (2009). Complex regulation of the aflatoxina biosynthesis gene cluster of *Aspergillus flavus* in relation to various combinations of water activity and temperature. International Journal of Food Microbiology
- Holmes, R., Boston, R., and Payne G. (2008). Diverse inhibitors of aflatoxina biosynthesis. Applied Microbiology and Biotechnology, 78(4), 559-572
- Horn, B. (2003). Ecology and population biology of aflatoxigenic fungi soil. Journal Toxicology Toxin, 22, 355-383
- Hussein, H., and Brasel, J. (2001). Toxicity, metabolism and impact of mycotoxins on humans and animals. Toxicology. 167: 101-104
- IARC (International Agency for Research on Cancer). (2002). Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC Expert Committee. Lyon, 82, 171
- Jaime, R., and Cotty, P. (2010). Crop rotation and soil temperature influence the community structure of *Aspergillus flavus* in soil. Soil Biology and Biochemistry. 42:1842-1847
- Klaassen, C.D., Watkins, J.B., and Casarett, D. (Ed). (2001). Essentials of toxicology. Mc Graw Hill. New York. U.S.A.
- López, C.R. L., Ramadam, S.B.L., and Pérez, J. (2001). Distribution of aflatoxin M₁ in cheese obtained from milk artificially contaminated. Int. J. Food Microbiol. 64:211, 215
- Lairon, D. (2010). Nutritional quality and safety of organic food. A review. Agronomy Sustainable Development. 30:33-41
- Lopez, R., Park, D., and Phillips, T. (1999). Integrated mycotoxin management systems. En FAO. Food and Nutrition Division Preventing Mycotoxin Contamination. FNA/NA, No 23, 38.47
- Magan, N., and Olsen, M. (2004). Mycotoxins in food. Detection and control. CRC Press. Boca Raton. Boston. New York, Washington, D.C.
- Martínez, S.F.I. (2009). Evaluación del contenido de Aflatoxina B₁ en alimentos para cabras y Aflatoxina M₁ en leche cruda y queso de cabra. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. México
- Méndez A. A. y Moreno M. E. 2009. Las micotoxinas: contaminantes naturales de los alimentos. Ciencia. Revista de la Academia Mexicana de Ciencias. Recuperado en Febrero 25, 2016, proviene de www.revistaciencia.amc.edu.mx/
- Mercado, C. (2007). Los ámbitos normativos, la gestión de la calidad y la inocuidad alimentaria: una visión integral. Agroalimentaria, 13(24), 119-131
- Mishra, H.N., and Das, C. (2003). A review on biological control and metabolism of aflatoxin. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 43(3), 245-264
- Murga, J.M.N. (2014). Identificación de fuentes contaminantes de aflatoxina M₁ y plaguicidas organoclorados en la leche orgánica que se produce en Tecpatán, Chiapas. Tesis de maestría. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Xochimilco. México, D.F.
- Noa, M., Pérez, N., Gutiérrez, R., & Escobar, A. (2001). Los residuos químicos en la leche: importancia y problemática actual en México y en el Mundo. Edit: Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. México
- Noa, M., Pérez, N., Díaz, G., y Vega, S. (Ed). (2005). Cromatografía de gases y de líquidos de alta resolución. Aplicación en el análisis de alimentos. Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. México
- Norma Oficial Mexicana. NOM-247-SSA1-2008. Productos y Servicios. Cereales y sus productos. Cereales, Harinas de Cereales. Sémolas o Semolinas. Alimentos a base de: Cereales, Semillas Comestibles, de Harinas, Sémolas o Semolinas o sus mezclas. Productos de Panificación. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias y Nutrimientales. Métodos de Prueba. 2008. Guadalajara, Jalisco
- Norma Oficial Mexicana. NOM-243-SSA1-2010. Productos y Servicios. Leche, Formula Láctea, Producto Lácteo combinado y derivados. Lácteos. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias. Métodos de Prueba. Guadalajara, Jalisco
- Norma Oficial Mexicana. NOM-188-SSA1-2002. Productos y servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Disposiciones y Especificaciones Sanitarias. Métodos de Prueba. Guadalajara, Jalisco
- OJEU (Official Journal of the European Union). 2003. Amending annex 1. 2002/32/EC of the European Parliament of the council on undesirable substances in animal feed. Commission Directive 2003/100/EC.L285/33
- Ortega C.M.E. (1998). Bacterias, Antibióticos, Toxinas y Micotoxinas en Leche de Vaca. Agrociencia. 32(1):87-92
- Phillips, T.D., Afriyie-Gyawu, E., Williams J., Huebner, H., Ankrah, N.A., and Ofori-Adjei, D. (2008). Reducing human exposure to aflatoxin through the use of clay: A review. Food Additives Contaminants, 25(2),134-145
- 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 Chemical Toxicology. 47(5):984-991
- Probst, C., Schulthess, F., and Cotty, P.J. (2010). Impact of *Aspergillus section flavus* community structure on the development of the lethal lesions of the aflatoxins in keyan maize (*Zea mays*). Journal of Applied Microbiology. 108(2):600-610
- Quattrocchi, O., Abelaira, S., y Laba, R. (1992). Introducción a la HPLC. Aplicación y práctica. Edit. Artes Gráficas Farro S.A. Buenos Aires, Argentina
- Redy, S.V. and Waliyar, F. (2003). Properties of Aflatoxin and its producing fungi. *Aspergillus* and Aflatoxin in Groundnut. Recuperado en Mayo 5, 2016, proviene de <http://www.aflatoxin.com>.

- Requena, F. (2005). Micotoxinas: riesgos y prevención. *Zootecnia Tropical*, 23(4), 393-410
- Reyes, W., Patricio, M.S., Isaías, E.V., Nathal, V.M.A., De Luca, P.E., & Rojo, F. (2009). Aflatoxinas totales en alimento y AFM₁ en leche en establos lecheros del estado de Jalisco, México. *Revista Técnica Pecuaria México*. 47(2):134-145
- Rojo, F., Martínez, S. P., Isaías, V.H., Nathal, V. M. A., De Lucas, P. E. y Reyes, V. W. P. (2014). Evaluación de adsorbentes para la reducción de aflatoxina M₁, en la leche de vacas alimentadas con dietas contaminadas artificialmente con AFB₁. *Revista. México de Ciencias. Pecuarias*. 6(1):1-15
- Ruiz, R.J.L. (2016). Presencia de hongos en la pollinaza destinada a la alimentación del ganado. Documento Interno. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Chiapas, México
- Skládanka, J., Nedelnik, J., Adam, V., Dolezal, P., Moravcová, H., & Dohnal, V. (2011). Forrage as a primary source of micotoxins in animal diets. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8, 37-50
- Sharma, R.P. (1993). Immunotoxicity of micotoxins. *Journal of Dairy Science*, 76, 892-897
- Soriano, J. (2007). Micotoxinas en los alimentos. Ediciones Díaz de Santos. Madrid, España
- Spotti, M., Fracchioll, M., Arioli, F., Caloni, F., and Pompa, G. (2005). Aflatoxin B₁ binding to sorbent in bovine ruminal fluid. *Veterinary Research Communications*, 29(6), 507-515
- Sugita, Y., Sato, T., Saito, S., Nakajima, M., Tabata, S., Tanaka, T., Norizuki, H., Itoh, Y., Kai, S., Sugiyama, K., Kamata, Y., Yoshiike, N., and Kumagai, S. (2010). Exposure to aflatoxins in Japan: Risk assessment for aflatoxin B₁. 27(3):365-372
- Steyn, P.S., and Stander, M.A. (1999). Mycotoxins as causal factors of disease in humans. *Journal Toxicology Toxin Review*, 18, 229-243
- Trujillo, J. (2002). Lineamientos para el Reconocimiento de las Buenas Prácticas en Producción de Leche Caprina. Servicio Nacional de Inocuidad y Calidad Agroalimentaria. SAGARPA. México D.F.
- Valdés, S.E. (2006). ¿Qué productos lácteos hay en el mercado? ¿Qué exige el consumidor actual? Tendencias y recomendaciones. Noveno congreso panamericano de la leche. Recuperado en Julio 19, 2015, proviene de <http://www.fepale.org>.
- Vega, S., León, J.S. y León, J.S. (1998). Residuos Tóxicos en Alimentos. Conceptos y Métodos. Universidad Autónoma Metropolitana – Xochimilco. México
- Vega, S., Gutiérrez, R., Coronado, M., Díaz, G., y Pérez, J. (2006). Leche orgánica posibilidad y realidades. Alfa editores técnicos. México
- Wood, G. E. (1992). Mycotoxins in foods and feeds in the United States. *Journal of Animal Science*. 70:3941–3949