

NOTA CORTA
AFLATOXINA M₁ EN LECHE COMERCIALIZADA
EN HERMOSILLO, SONORA, MÉXICO

por Martín Esqueda Valle¹
Inocencio Higuera-Ciapara² y
José Nieblas²

SHORT COMMUNICATION
AFLATOXIN M₁ IN MILK COMMERCIALIZED IN
HERMOSILLO, SONORA, MEXICO

ABSTRACT

Thirty six dry milk powder samples of six different brands and forty nine pasteurized fluid milk samples of four different brands purchased in retail stores located in Hermosillo, Sonora were analyzed to determine the contents of aflatoxin M₁ (AFM₁). The AFM₁ was isolated by antibody affinity columns and quantified using a fluorometric technique. In the range of 0.05 to 0.5 µg/kg a 97% recovery was obtained with a detection limit of 0.05 µg/kg. The average AFM₁ content ranged from 0.13 ± 0.01 to 0.2 ± 0.07 µg/kg in dry milk powder and 0.13 ± 0.07 to 0.27 ± 0.12 µg/kg in fluid milk. High levels of AFM₁ were found in both dry milk powder and fluid milk samples. 0.33 and 0.49 µg/kg respectively. The majority of the samples, 76%, had levels of AFM₁ < 0.2 µg/kg and 24% of the samples varied from 0.2 to 0.5 µg/kg. None of the samples exceeded the maximum level of 0.5 µg/kg permitted by FDA.

KEY WORDS: Milk; aflatoxin M₁; Hermosillo; Sonora.

RESUMEN

Se analizaron 36 muestras de leche en polvo de seis marcas y 49 de leche fluida pasteurizada de cuatro marcas comercializadas en Hermosillo, Sonora para determinar el contenido de aflatoxina M₁ (AFM₁). La extracción de AFM₁ se hizo empleando columnas de afinidad con anticuerpos y la cuantificación por una técnica de fluorometría. Este método proporciona una recuperación mayor al 97% de AFM₁ en un rango de 0.05 a 0.5 µg/kg y un límite de detección de 0.05 µg/kg. El contenido promedio de AFM₁ por marca de leche en polvo varió de 0.13 ± 0.01 a 0.2 ± 0.07 µg/kg y de 0.13 ± 0.07 a 0.27 ± 0.12 µg/kg en leche fluida. La concentración más alta de AFM₁ registrada en la leche en polvo fue de 0.33 µg/kg y en la fluida de 0.49 µg/kg. El 76% de todas las muestras contenían < 0.2 µg/kg de AFM₁ y el 24% entre 0.2 y 0.5 µg/kg. Ninguna muestra rebasó el nivel máximo de 0.5 µg/kg permitido por la FDA.

PALABRAS CLAVE: Leche; aflatoxina M₁; Hermosillo; Sonora.

¹ Unidad Académica Hermosillo, CESUES. A. Postal A-126. Hermosillo, Sonora, 83200.

² CIAD, A.C. A. Postal 1735. Hermosillo, Sonora, 83000.

Recibido: 30 de agosto, 1995. Aceptado: 15 de noviembre, 1995.

Solicitud de sobretiros: Inocencio Higuera-Ciapara².

Cuando el ganado es alimentado con forraje contaminado con aflatoxina B₁, el 1-2% de ésta es metabolizada en aflatoxina M₁ (AFM₁) por el sistema oxidativo de los microcuerpos del hígado de la vaca y excretada en la leche (Price *et al.*, 1985). Aunque entre las aflatoxinas, la AFM₁ es una de las menos tóxicas, puede provocar alteraciones bioquímicas y biológicas (Ciegler, 1975) por lo que su presencia en la leche representa un riesgo para la salud, más aún considerando que es un producto básico para la población infantil.

En los Estados Unidos, a raíz de que en 1978 fueron desechadas aproximadamente un millón de libras de leche con concentraciones de AFM₁ de hasta 10 µg/kg, se establecieron niveles de tolerancia tanto en la leche como en el alimento consumido por el ganado, así como programas permanentes de monitoreo (Park, 1993). El límite máximo permitido de AFM₁ en leche sólo se ha establecido en 15 países y varía de 0.05 a 1 µg/kg; para las naciones europeas es de 0.05; mientras que, para Norteamérica y Sudamérica es 0.5 µg/kg (Van Egmond, 1989, Park, *op. cit.*).

Se han realizado diversas investigaciones con la finalidad de remover o inactivar la AFM₁ en la leche. Sin embargo, sólo en algunos estudios se han obtenido resultados positivos en los que se ha logrado reducir su concentración a niveles aceptables (Applebaum y Marth, 1982; Yousef y Marth, 1986; Higuera-Ciapara *et al.*, 1995). Actualmente se recomienda que el forraje destinado al consumo del ganado lechero contenga menos de 20 µg/kg de aflatoxinas; en caso contrario, es necesario tratarlo con amonio para reducir la concentración de las toxinas y así disminuir o evitar su presencia en la leche (Park, 1993).

Con el objeto de conocer la concentración de AFM₁ en leches comercializadas en Hermosillo, Sonora, se seleccionaron arbitrariamente seis marcas de leche en polvo: tres de leche entera, una de leche descremada y dos tipos de leche para consumo infantil. Se analizaron tres lotes por duplicado para cada marca. El criterio principal para la selección de marcas fue el alto consumo en la región. En relación con la leche fluida pasteurizada se analizaron por duplicado de 10 a 14 muestras de cada una de las cuatro marcas existentes en el mercado local. Los muestreos se realizaron durante Enero-Abril de 1993.

La unidad de muestreo se constituyó por envases de 1 lt de leche pasteurizada y latas de leche en polvo con un contenido neto de 350 a 450 g. El número de muestras se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula: $N=(ZS/E)^2$, donde Z es el valor correspondiente a una confiabilidad del 95%; S es la desviación estándar en base a un número pequeño de muestras; y E es el error de la media. Aunque el número de muestra fue menor a 30 en los dos tipos de leche, la cantidad se ajustó a este valor debido a que se asume una distribución normal (Zar, 1984).

La extracción y cuantificación de AFM₁ se llevó a cabo mediante la técnica de Hansen (1990) con ligeras modificaciones. La extracción se hizo utilizando muestras de 50 ml de leche, a las cuales se les añadió 2 g de NaCl y se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 min. a 10 C. Posteriormente, la muestra se filtró y 25 ml de ésta se pasaron a través de una columna que contenía anticuerpos para la AFM₁ (AflatestTM, Vicam, Somerville, MA). Después se lavó la columna con 20 ml de metanol al 10% y se eluyó la AFM₁ con 1 ml de metanol al 80%. La lectura se realizó en un fluorómetro TorBex FX-100 Serie 3 (Vicam, Somerville, MA) después de agregar a la elución 1 ml de solución acuosa de bromina al 0.001%. Todas las determinaciones se hicieron por duplicado y el límite de detección fue de 0.05 µg/kg.

Hansen (1990) reportó que esta técnica permite una recuperación mayor al 97% de AFM₁; lo cual fue corroborado al analizar estándares de AFM₁ (Sigma, St. Louis, MO) reconstituidos

con leche libre de aflatoxinas (Penicillin Assays Inc., Malden, MA). Este análisis se hizo por duplicado. Las concentraciones de AFM₁ se sometieron a un análisis de varianza y para comparar los promedios se aplicó la prueba de Tukey dando un margen de error experimental del 5% (Zar, 1984).

El contenido promedio de AFM₁ de las seis marcas de leche en polvo varió de 0.13 ± 0.01 a 0.2 ± 0.07 $\mu\text{g}/\text{kg}$. La variabilidad en el contenido de aflatoxina fue baja en todas las marcas, con excepción de la que presentó el promedio más alto, con un coeficiente de variación del 35%. Esta concentración fue estadísticamente diferente ($p < 0.05$) de las marcas restantes. La concentración más alta para una muestra fue de 0.33 $\mu\text{g}/\text{kg}$; ésta pertenecía a la marca con el contenido promedio más elevado, la cual estaba destinada a la población de infantes.

Con relación a la presencia de AFM₁ en leche fluida pasteurizada, el contenido medio de aflatoxina de las cuatro marcas estudiadas varió de 0.13 ± 0.07 a 0.27 ± 0.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Las concentraciones más elevadas se presentaron en la marca A (0.48 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y D (0.49). La concentración de AFM₁ varió significativamente ($p < 0.05$) entre marcas y dentro de una misma marca. Esto puede ser debido al origen diverso de la leche y a que el muestreo abarcó dos estaciones del año. Sin embargo, esto último no ha sido consistente en las diferentes investigaciones; en unos estudios no se ha observado variación significativa estacional o regional en el contenido de AFM₁ (Rasmussen, 1988) mientras que en otros ha sido muy claro este efecto (Maxwell *et al.*, 1989). Debido a que las condiciones ambientales afectan el crecimiento y desarrollo de los mohos sobre los esquilmos, generalmente se acepta que potencialmente existe una variación estacional en la producción de aflatoxinas.

Las concentraciones observadas difieren de las obtenidas en un estudio realizado en la Cd. de Hermosillo en 1980, en el cual se analizaron 20 muestras de leche pasteurizada pero no se detectaron residuos de AFM₁ (Rayas, 1980). En este trabajo, el 67% de las leches fluidas contenían menos de 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el 33% restante de 0.2 a 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Tabla 1). Esta incidencia de contaminación por AFM₁ es similar a la reportada para Arizona, Estados Unidos, donde de las 4149 muestras analizadas en el transcurso de 10 años, el 18% contenía de 0.2 a 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ y el 82% restante menos de 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Asimismo, ninguna muestra rebasó el nivel máximo permitido por la FDA.

El 76% de las muestras de leche en polvo y fluida comercializadas en la Cd. de Hermosillo, Sonora presentó una incidencia de contaminación por AFM₁ menor que 0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mientras que el 24% restante entre 0.2 y 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (Tabla 1).

LITERATURA CITADA

- Applebaum, R.S., E.H. Marth, 1982. Inactivation of aflatoxin M₁ in milk by hydrogen peroxide and hydrogen peroxide plus riboflavin or lactoperoxidasa. *J. Food Prot.* 45: 557-560.
- Ciegler, A., 1975. Mycotoxins: occurrence, chemistry, biological activity. *Lloydia* 38: 21-35.
- Hansen, T.J., 1990. Affinity column cleanup and direct fluorescence measurement of aflatoxin M₁ in raw milk. *J. Food Prot.* 53: 75-77.
- Higuera-Ciapara, I., M. Esqueda-Valle, J. Nieblas, 1995. Reduction of Aflatoxin M₁ from Artificially Contaminated Milk Using Ultrafiltration and Diafiltration. *J. Food Sci.* 60: 645-47.
- Maxwell, S.M., F. Apeagyei, H.R. De Vries, D.D. Mwanmut, R.G. Hendrickse, 1989. Aflatoxins in breast milk, neonatal cord blood and sera of pregnant women. *J. Toxicol. Toxin Reviews* 8: 19-29.
- Park, D.L., 1993. Controlling aflatoxin in food and feed. *Food Technol.* 47: 92-96.

- Price, R.L., J.H. Paulson, O.G. Lough, C. Gingg, A.G. Kurtz, 1985. Aflatoxin conversion by dairy cattle consuming naturally contaminated whole cottonseed. *J. Food Prot.* 48: 11-15.
- Rasmussen, G., 1988. Aflatoxin M₁ in Danish dairy products, 1981-1985. *Publikation-Statens Levnedsmiddelinstitut* 165: 1-28.
- Rayas Solís, P., 1980. Determinación de aflatoxinas en mazapán, harinolina, leche y trigo consumidos en Hermosillo, Sonora, México. Tesis de Licenciatura, Escuela de Ciencias Químicas, UNISON, Hermosillo, Sonora.
- Van Egmond, H.P., 1989. Current situation on regulations for mycotoxins. Overview of tolerances and status of standard methods of sampling and analysis. *Food Addit. Cont.* 6: 139-188.
- Yousef, A.E., E.H. Marth, 1986. Use of ultraviolet energy to degrade aflatoxin M₁ in raw or heated milk with and without added peroxide. *J. Dairy Sci.* 69: 2243-2247.
- Zar, J.H., 1984. *Biostatistical Analysis*, 2nd ed., Prentice-Hall, Englewood Cliffs.

Tabla 1. Aflatoxina M₁ en leche comercializada en Hermosillo, Sonora.

Tipo de Muestra	Número de Muestras	Número de Muestras		
		Concentración de AFM ₁ (g/kg)		
		< 0.2	0.2-0.5	> 0.5
Leche en Polvo	36	32	4	0
Leche Fluida	49	33	16	0