

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA
PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

**DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS Y COMPUESTOS TÓXICOS EN ALIMENTOS
CONSUMIDOS POR POBLACIÓN INFANTIL EN SAN LUIS POTOSÍ**

PRESENTA:

M.C. BEATRIZ ARELI ZUKI OROZCO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

ASESORES:

DRA. BERTHA IRENE JUÁREZ FLORES

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

JURADO:

DRA. CATALINA ALFARO DE LA TORRE

DR. ANTONIO JAVIER RAMOS GIRONA

DR. MOISÉS ROBERTO VALLEJO PÉREZ

FECHA

Junio de 2018

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

PROYECTO REALIZADO EN:

La Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, CIACYT, a través del Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud, CIAAS.

CON FINANCIAMIENTO DE:

CONACYT

A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:

Red Temática de Salud Ambiental Infantil

AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS

Becario No. 247887

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO ATRAVÉS
DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD (PNPC)**

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
1 INTRODUCCIÓN	13
1.1 Micotoxinas	17
1.1.1 Toxicidad	19
1.2 Maíz.....	26
1.2.1 Contaminación del maíz.....	28
1.2.2 Almacenamiento	30
1.2.3 Control.....	31
1.3 Leche.....	33
2 ANTECEDENTES	37
2.1 Aflatoxinas B y G	38
2.2 Aflatoxina M1.....	40
2.3 Riesgo por exposición a aflatoxinas	41
3 JUSTIFICACIÓN	43
3.1 Objetivos.....	44
3.1.1 Objetivos específicos.....	44
3.2 Relevancia.....	44
4 METODOLOGÍA.....	46
4.1 Áreas de estudio	46
4.1.1 Estación Bocas (Bocas), San Luis Potosí.....	47
4.1.1 Toco, San Antonio	49
4.2 Alimentos a evaluar	51
4.3 Análisis de alimentos	53
4.3.1 Toma de Muestras de Tortillas	53
4.3.2 Análisis cuantitativo de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en tortilla	56
4.3.3 Análisis cuantitativo de Aflatoxina M1 en leche y producto lácteo.....	59
4.4 Entrega de Resultados.....	62

4.5	Estimación de la Ingesta de contaminantes por la dieta	63
4.6	Estimación del Riesgo	65
5	RESULTADOS	68
5.1	Cuestionarios	68
5.2	Análisis de Tortillas	77
5.3	Análisis de Leche.....	81
5.4	Huevo.....	82
5.5	Exposición y riesgo.....	83
5.5.1	Exposición de AFs en tortillas	84
5.5.2	Riesgo cancerígeno	87
5.5.3	Exposición a AFM ₁ en leche	88
6	DISCUSIÓN.....	90
6.1	Tortillas	90
6.2	Leche y producto lácteo	94
6.3	Exposición y Riesgo.....	95
7	CONCLUSIONES	98
8	REFERENCIAS.....	101
ANEXO 1	105
ANEXO 2	107
ANEXO 3	109
ANEXO 4	111
ANEXO 5	112
ANEXO 6	113
ANEXO 7	114
ANEXO 8	117

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de aflatoxinas en países de América Latina y el Caribe.	20
Tabla 2. Estructura química de las Aflatoxinas	21
Tabla 3. Clasificación de las aflatoxinas por la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (INEGI, 2009)	22
Tabla 4. Composición química de algunas especies de semilla de maíz (100 g)	26
Tabla 5. Principales países productores de maíz.	28
Tabla 6. Especificaciones de límites máximos de Aflatoxinas.....	39
Tabla 7. Alimentos de mayor frecuencia de consumo entre la población infantil de San Luis Potosí.....	52
Tabla 8. Recolección de alimentos en las comunidades de Toco y E. Bocas, 2015.	54
Tabla 9. Parámetros de operación en análisis HPLC-FLD para aflatoxinas B y G.....	58
Tabla 10. Parámetros de operación en análisis HPLC-FLD para aflatoxina M1.	62
Tabla 11. Resultados del desempeño del método para determinación de aflatoxinas B y G en tortillas.	77
Tabla 12. Estadística descriptiva de AFB ₁ en las muestras de tortillas.	78
Tabla 13. Estadística descriptiva de AFB ₂ en las muestras de tortillas.	79
Tabla 14. Estimación de ingesta de aflatoxinas totales por consumo de tortillas en los sitios de estudio.....	81
Tabla 15. Resultados del desempeño del método para determinación de AFM ₁ en leche.	82
Tabla 16. Estadística descriptiva de AFM ₁ en las muestras de leche.....	83
Tabla 17. Porcentaje de veces en los que se rebasa el límite de AFs Totales en ng/g tortilla, por período.	85
Tabla 18. Estimación de la tasa de CHC por ingestión de aflatoxinas en tortillas.	87
Tabla 19. Probabilidad de riesgo cancerígeno por AFB ₁ y AFs Totales	88
Tabla 20. Ingesta diaria de AFM ₁ en leche (niños).....	89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Seguridad alimentaria y nutricional: interacción entre las cuatro dimensiones.	15
Figura 2. Principales metabolitos de la Aflatoxina B1 (Essigmann, Croy, Bennett, & Wogan, 1982).	25
Figura 3. Sistema de producción de maíz y fase de acondicionamiento (Revista Enlace, 2014).	29
Figura 4. Cromatograma de la curva de calibración de aflatoxinas B y G en pool de tortillas. .	59
Figura 5. Cromatograma de la curva de calibración de la AFM1 en leche. HPLC con detector de fluorescencia.	62
Figura 6. Origen del maíz utilizado para la preparación de tortillas en Tocooy.	69
Figura 7. Tipo de almacenamiento del maíz de cosecha propia, Tocooy.	69
Figura 8. Tiempo de almacenamiento del maíz, Tocooy.	70
Figura 9. Tiempo de almacenamiento de granos de maíz de tienda, Tocooy.	71
Figura 10. Número de tortillas consumidas por madres de familia de Tocooy.	72
Figura 11. Número de tortillas consumidas al día por niños de Tocooy.	72
Figura 12. Origen del maíz utilizado para la elaboración de tortillas en E. Bocas.	73
Figura 13. Número de tortillas consumidas al día por las madres de familia en E. Bocas.	74
Figura 14. Número de tortillas consumidas al día por niños de E. Bocas.	74
Figura 15. Marcas de leche consumida en E. Bocas.	75
Figura 16. Consumo semanal de leche, niños de Tocooy.	75
Figura 17. Consumo semanal de leche, niños de E. Bocas.	76
Figura 18. Valores de mediana de AFB ₁ en tortillas de Tocooy, µg/kg.	80
Figura 19. Valores de mediana de AFB ₂ en tortillas de Tocooy, µg/kg.	80
Figura 20. Promedio anual de AFs totales de Tocooy, en ng/kg p.c./día (madres).	85
Figura 21. Promedio anual de AFs totales de Tocooy, en ng/kg p.c./día (niños).	86
Figura 22. Promedio anual de AFs totales de E. Bocas, en ng/kg p.c./día (madres).	86
Figura 23. Promedio anual de AFs totales de E. Bocas, en ng/kg p.c./día (niños).	86
Figura 24. Temperatura mensual promedio, 2015.	91

Este trabajo fue realizado gracias al financiamiento del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT y al apoyo de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología, CIACYT, a través del Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud, CIAAS.

AGRADECIMIENTOS

A mis papás por sobre todo, por su amor y apoyo incondicional, su cariño y la motivación en los momentos más difíciles.

A Soreim, Marlis y Andrea, mis hermanas queridas que sigo extrañando todos los días.

A Israel, por ser mi compañero en la última etapa de este proyecto y apoyarme para llevarlo a cabo.

A Lili, pues sin ella este trabajo no hubiera sido posible y a quien siempre estaré agradecida por su apoyo y su amistad.

A Lulú, Carriz, Claudia y a todos los que pasaron por el laboratorio y estuvieron involucrados con el proyecto.

A mis amigos Andrés, Frinné, Alejandra, Octavio, Laura, Efraín y a los compañeros que trabajaron en Tocoy y que contribuyeron con su ayuda a que yo pudiera acercarme a la comunidad para poder realizar mi trabajo de la mejor manera.

Al Dr. Fernando por su asesoría, su comprensión, por la confianza y por darme la oportunidad de trabajar con este tema.

A la Dra. Pury por su interés y su profesionalismo, por su disposición en todo momento y por su honestidad.

A la Dra. Bertha por su colaboración y sus valiosas aportaciones a este trabajo.

Al Dr. Ramos por su ayuda desinteresada, su amabilidad y hospitalidad. Por hacer posible la estancia en Lleida. Gracias a todos los compañeros de Lleida que me recibieron como una compañera y que me ayudaron en todo lo posible.

A la gente de Tocoy, que amablemente accedió a trabajar conmigo y confiaron en este proyecto.

A la gente de Estación Bocas, por su participación y colaboración.

A Güero y Rex, que me brindan todos los días su amor y su compañía sin esperar nada a cambio.

A Tania, Guadalupe, Angie, Lina, Nuria, que me mantienen a flote aunque estén lejos.

A Gabriel, por los ánimos y la amistad.

A todos aquellos que estuvieron en mi vida estos últimos años, los que me ayudaron y contribuyeron de algún modo a este trabajo de manera directa o indirecta. Gracias a todos por estar.

A mi bebé. Es para ti. Te amo.

DETERMINACIÓN DE AFLATOXINAS Y COMPUESTOS TÓXICOS EN ALIMENTOS
CONSUMIDOS POR POBLACIÓN INFANTIL EN SAN LUIS POTOSÍ

RESUMEN

Zuki, Beatriz ^a; Batres, Lilia ^a; Ortiz, María Deogracias ^a; Juárez, Bertha ^b; Díaz-Barriga, Fernando ^a.

^a Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y Tecnología, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, ^b Instituto de Investigación en Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luis Potosí

Palabras clave: *Micotoxinas, almacenamiento, tortillas, leche, riesgo.*

La nutrición es un factor fundamental para alcanzar y mantener una vida saludable. El gran reto a nivel mundial es asegurar el acceso y la disponibilidad de alimentos, sin embargo, debe garantizarse en todo momento la inocuidad de los mismos. En los últimos años se ha incrementado la incidencia de enfermedades no transmisibles a nivel global. La Seguridad Alimentaria es un tema de gran interés debido a que la población en general está expuesta a una variedad de sustancias tóxicas a través de la dieta. Los mayores esfuerzos se enfocan en la toxicidad aguda, sin embargo, la exposición crónica puede causar enfermedades a lo largo de la vida. Las aflatoxinas son toxinas naturales producidas por hongos del género *Aspergillus*, que afectan a una variedad de granos y cereales, siendo de especial interés puesto que contaminan el maíz, que a su vez es un alimento básico de consumo humano y animal. La ingestión de estas toxinas y el posterior metabolismo de las mismas conducen a efectos tóxicos que involucran el daño hepático y cáncer de hígado. La contaminación por hongos en los alimentos puede ocurrir antes o después de la cosecha y durante el almacenamiento y transportación, razón por la cual es son de suma importancia las buenas prácticas desde el campo hasta la mesa. La aflatoxina B1 (AFB1) está listada por la IARC como carcinógeno en humanos. Las tortillas y la leche son alimentos ampliamente consumidos por la población mexicana adulta e infantil. El objetivo de este estudio fue el análisis de aflatoxinas en tortillas y leche de dos comunidades de San Luis Potosí, México, para el cálculo de la ingesta diaria y la posterior estimación de riesgo.

Se midieron las concentraciones de AFB1, AFB2, AFG1, AFG2 y AFM1 mediante HPLC acoplado a un detector de fluorescencia, obteniendo que en el 81% de las muestras de Toco y 54% de las muestras de E. Bocas mostraron niveles detectables de aflatoxinas. El 35% de las muestras de leche analizadas resultaron por encima del límite de detección. La ingesta diaria de aflatoxinas por tortillas fue de 136.8 y 191.6 ng/kg p.c./día en madres y niños, respectivamente. El riesgo cancerígeno estimado para población sin seroprevalencia de virus de la hepatitis B (VHB) fue de 0.317 casos por 10,000 habitantes, y de casi 30 veces mayor para población con seroprevalencia del VHB. El contenido de aflatoxinas no está regulado en contextos rurales, por lo que es importante implementar medidas de control para el manejo pre y poscosecha para prevenir la contaminación.

ABSTRACT

Key words: *Mycotoxins, storage, tortillas, milk, risk.*

Nutrition is a key factor to achieve a healthy life. The challenge is to guarantee the access and availability of food worldwide, but ensuring food safety. In recent years the incidence of non-communicable diseases has increased globally. Food safety is a subject of great concern since the general population is considerably exposed to a variety of toxic substances through diet. The main efforts regarding prevention of toxic effects are focused on acute toxicity but it is also important to be aware of chronic exposure that can lead to diseases later in life. Aflatoxins are natural toxins produced by fungi *Aspergillus* that affect a variety of agricultural commodities, being of special interest since they can be found in maize, basic in both human and livestock nutrition. Ingestion of these toxins and later metabolism leads to toxic effects involving hepatic damage and liver cancer. Fungal contamination can occur before or after the harvest and even during storage and transportation, being relevant to keep good practices from field to fork. Aflatoxin B₁ (AFB₁) is listed as a human carcinogen agent by the IARC. Both tortillas and milk are widely consumed in Mexican territory by children and adults. The present study was focused on the analysis of aflatoxins in tortillas and milk in two communities of San Luis Potosí, Mexico, and the later calculation of dose of exposure to estimate risk. Concentrations of AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ and AFM₁ were measured by HPLC coupled with fluorescence detector, obtaining that in 81% of samples from Tocoay and 54% of samples from E. Bocas aflatoxins were detectable, while 35% of samples of milk were above the limit of detection. The daily intake of aflatoxins in tortillas were 136.8 and 191.6 ng/kg bw/day in mothers and children, respectively. The estimated carcinogen risk was of 0.317 cases per 10,000 people with no Hep B virus prevalence, and almost 30 times higher for population with Hep B virus prevalence. Aflatoxin content is not regulated in rural contexts, so it is important to implement control techniques in pre and post-harvest handling in order to prevent contamination.

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad se considera a la nutrición como un elemento fundamental para alcanzar y mantener una vida saludable. Una dieta pobre puede tener efectos negativos tales como la disminución de la respuesta inmune, provocar daños en el desarrollo físico y mental, reducir la productividad y sobre todo incrementar la susceptibilidad al desarrollo de enfermedades (OMS, 2014). Por tal motivo, la seguridad alimentaria es hoy un reto a nivel mundial.

La Seguridad Alimentaria y Nutricional (SAN) tiene su origen en la Declaración Universal de los Derechos Humanos, en el año de 1948, en la que se reconoció el derecho al alimento como eje central del bienestar humano. Por definición, la seguridad alimentaria se logra “cuando todas las personas tienen en todo momento acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a alimentos, a fin de llevar una vida activa y sana” (Cumbre Mundial de la Alimentación, 1996).

En la seguridad alimentaria se pueden identificar cuatro dimensiones:

1. Disponibilidad de alimentos
2. Acceso a los alimentos
3. Utilización de los alimentos
4. Estabilidad

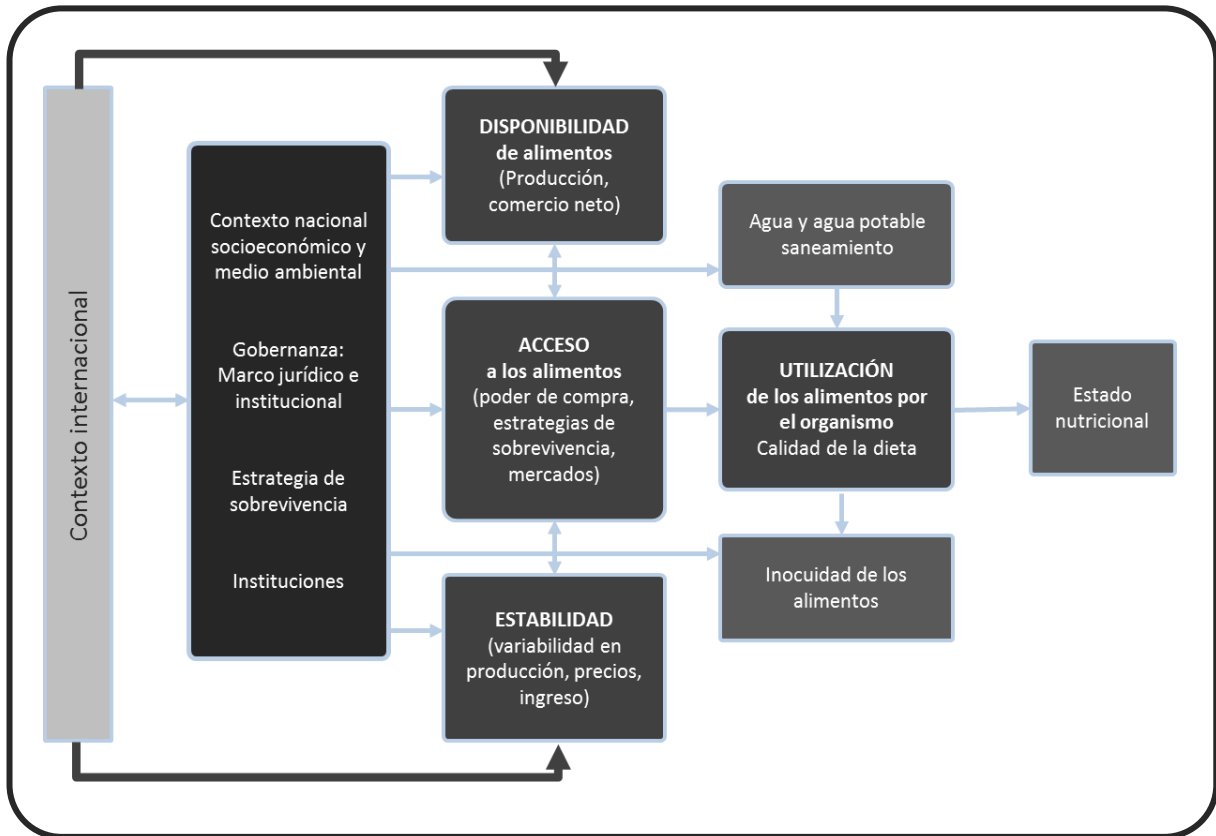
Actualmente, la prioridad está en lograr que las personas tengan acceso y asegurarlo, pero es de vital importancia asegurar también que los alimentos disponibles y accesibles tengan la calidad necesaria para ser consumidos, ya que nos enfrentamos de manera frecuente a

escenarios en donde los alimentos se convierten en la causa (directa o indirecta) de algunas enfermedades, sobre todo aquellas consideradas crónicas no infecciosas.

Las enfermedades crónicas no infecciosas constituyen las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Hanson & Gluckman, 2011; OMS, 2011). En la población infantil se destacan el asma, los defectos de nacimiento, desórdenes del neurodesarrollo, cáncer, diabetes y obesidad (Bloom, Cohen, & Freeman, 2010). Para el caso de la población adulta, se incluyen enfermedades cardiovasculares (ECV), cáncer, diabetes y obesidad, enfermedades autoinmunes y alergias (Pleis, Ward, & Lucas, 2010).

A este respecto, es importante señalar que estas enfermedades tienen componentes tanto genéticos como ambientales. Sin embargo, dado que la incidencia ha aumentado considerablemente, el origen no puede explicarse en su totalidad debido a los factores genéticos. Se ha estimado que aproximadamente el 24% de las enfermedades y desórdenes a nivel global se deben en una parte a factores del medio ambiente (Prüss-Üstün & Corvalán, 2006). Por ello, el componente ambiental en la carga de morbilidad debe ser estudiado, sobre todo en lo que concierne a la alimentación.

Figura 1. Seguridad alimentaria y nutricional: interacción entre las cuatro dimensiones.



Fuente: Adaptado de Food Insecurity and Vulnerability Information and Mapping Systems (FIVIMS), www.fao.org, 2008.

En lo referente a factores ambientales, los alimentos constituyen una fuente de exposición a múltiples sustancias tóxicas. Los contaminantes y aditivos en los alimentos, producto del procesamiento y manufactura, pueden afectar negativamente a la salud humana (OMS, 2006). Los alimentos pueden contaminarse a través del aire, agua y suelo contaminado con diversos compuestos entre los que destacan por su importancia los metales pesados, contaminantes orgánicos persistentes, hidrocarburos aromáticos policíclicos y toxinas naturales, además de otros contaminantes como resultado de su adición intencional, entre los cuales podemos nombrar a los agroquímicos, plaguicidas y fármacos animales. Además de fuentes externas de contaminación en los alimentos, se puede presentar contaminación de manera natural como resultado de la presencia de microorganismos en el medio y de su metabolismo.

La lista de amenazas de relevancia en cuanto a la inocuidad alimentaria varía de acuerdo al contexto. La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación (FAO), a través de la FCC (Food Chain Crisis Management Framework) centra sus esfuerzos en la cadena alimentaria y las plagas que pueden afectar la salud humana, la seguridad alimentaria, la sustentabilidad, la economía y los mercados globales. Entre estas amenazas se encuentran la influenza aviar, locust y otras plagas, enfermedades del trigo, maíz, yuca y plátanos, patógenos transmitidos por los alimentos, y micotoxinas (FAO, 2015).

Sin embargo, en México, antes de hablar sobre inocuidad existen dos problemas prioritarios relacionados con la alimentación. Por un lado, está la obesidad y por otro, la desnutrición infantil. Para el grupo de edad de cinco a catorce años la desnutrición crónica es de 7.25% duplicándose este porcentaje en las poblaciones rurales (UNICEF México, 2012). Ambas problemáticas son protagonistas de las campañas de salud nacionales, pero en lo que respecta a la desnutrición y con base en los Objetivos de Desarrollo Sostenible, se creó el programa Cruzada Nacional contra el Hambre (CNcH), cuya meta es la de abatir la pobreza extrema alimentaria que presentan 7.01 millones de mexicanos. Para lograr esta meta se establecen cinco objetivos (SEDESOL, 2014):

1. Cero hambre a partir de una alimentación y nutrición adecuada de las personas en pobreza multidimensional extrema y carencia de acceso a la alimentación;
2. Eliminar la desnutrición infantil aguda y mejorar los indicadores de peso y talla de la niñez;
3. Aumentar la producción de alimentos y el ingreso de los campesinos y pequeños productores agrícolas;
4. Minimizar las pérdidas post-cosecha y de alimentos durante su almacenamiento, transporte, distribución y comercialización;
5. Promover la participación comunitaria para la erradicación del hambre.

Como se observa, en las medidas anteriores se incluye la necesidad de acciones preventivas y de control para evitar las pérdidas post-cosecha. Por un lado, la contaminación de los productos de cosecha se puede traducir en la falta de abasto de alimento, y por otro, la merma en la calidad de los alimentos que efectivamente llegan a la mesa de los consumidores.

1.1 Micotoxinas

Las micotoxinas son metabolitos producidos por hongos y existe una gran variedad de ellas dependiendo de la especie de hongo. Entre las de especial importancia en la agricultura están las fumonisinas, la ocratoxina A, tricotecenos, la zearalenona y las aflatoxinas (INEGI, 2009). En este estudio la atención se centró en las aflatoxinas.

Las aflatoxinas son toxinas producidas por los hongos *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Entre las dos especies producen las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ (Tabla 2), aunque se conocen 18 tipos de aflatoxinas (Beuchat, 1978; Pavao, Soares-Nieto, Ferreira-Neto, & Leao, 1995). La primera especie produce sólo aflatoxinas B, mientras que la segunda produce tanto aflatoxinas B como G. El hongo *A. flavus* está ampliamente distribuido en el mundo, pero su desarrollo se favorece principalmente en las zonas tropicales; se puede encontrar principalmente en cacahuates, maíz y semillas de algodón. *A. parasiticus* tiene una distribución menor y es menos común encontrarlo en el maíz. Otras especies menos estudiadas como el *A. nomius* y el *A. pseudotamarii* también son productoras de aflatoxinas.

Químicamente, estas toxinas son derivados difuranocumarínicos. Las aflatoxinas B contienen un anillo de ciclopentanona, mientras que las aflatoxinas G tienen un anillo de lactona. La

temperatura óptima para la producción de aflatoxinas es de 27 °C, mientras que se requiere un mínimo de 10-12 °C para el desarrollo del moho (Hesseltine, 1976). En cuanto a la actividad de agua, la a_w mínima para el desarrollo del moho es de 0.75 y de 0.83 para la producción de la toxina (Gimeno, 2002). El control de los factores físicos es, por lo tanto, un aspecto crítico en la contaminación de los alimentos con estas toxinas, que puede ocurrir antes de la cosecha, inmediatamente después de ésta, o durante el almacenamiento. La complejidad y las medidas para el control de la contaminación por aflatoxinas dependerán entonces de la etapa en la que se encuentre el maíz.

El Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) calcula que aproximadamente 4,500 millones de personas que habitan en países en vías de desarrollo pueden estar expuestas de forma crónica a aflatoxinas presentes en la dieta (CDC, 2004). Puede hacerse un seguimiento de la exposición en humanos, ya que las aflatoxinas y sus metabolitos pueden identificarse en fluidos biológicos humanos como orina, sangre y leche humana (Europea, 2006).

Existen además las aflatoxinas M_1 y M_2 , que son los metabolitos hidroxilados de las AFB_1 y AFB_2 , respectivamente. Estas micotoxinas se encuentran presentes en la leche como resultado de la ingestión de alimentos contaminados con estas aflatoxinas. Aunque las seis mencionadas son las más estudiadas, existen además las aflatoxinas P_1 y Q_1 , las cuales son producto del metabolismo de la AFB_1 .

A través de varios estudios en América, Asia y Europa, se ha detectado la presencia de estas micotoxinas en maíz, cacahuates, soya, sorgo, alimento para pollos, productos del maíz,

productos del cacahuete y mantequilla (INEGI, 2009). En América Latina cabe resaltar que el maíz es un elemento tradicional de la dieta y, por lo tanto, ampliamente consumido. En la Tabla 1 se muestran algunos resultados de las concentraciones de aflatoxinas encontradas en maíz en algunos países de América Latina.

Además de estudios puntuales en maíz y otros alimentos, se han realizado otros longitudinales, tratando de observar el fenómeno de la contaminación en diferente fecha. Tal es el caso de un estudio realizado en Argentina, de 1999 al año 2010, para el cual también evaluaron la variable del almacenamiento, obteniendo niveles más altos de AFB₁ en muestras almacenadas que en las de maíz recién cosechado, con concentraciones entre 0.22 y 4.5 mg/kg (Garrido, Hernández Pezzani, & Pacin, 2012).

1.1.1 Toxicidad

Químicamente, las aflatoxinas son estructuras que contienen un anillo dihidrodifurano o tetrahidrodifurano unido a una cumarina que puede tener un anillo de cinco o seis átomos de carbono. El nombre oficial y la estructura química de las toxinas se muestran en la Tabla 2.

De acuerdo con la información provista por la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC), en la Monografía No. 82 publicada en 2002, la clasificación de las aflatoxinas es la mencionada en la Tabla 3.

Las aflatoxinas cruzan la barrera placentaria por lo que la exposición puede iniciarse *in utero*. Se ha asociado la exposición con deterioro en el crecimiento de niños a temprana edad. En estudios con ratones se observaron malformaciones y bajo peso fetal después de tratarlos con altas dosis

de aflatoxinas vía peritoneal (INEGI, 2009). De acuerdo a experimentos realizados con ratas, la AFB₂ se transforma en AFB₁ y sigue el metabolismo de ésta para unirse al ADN. La AFG₁ se une al ADN y produce aberraciones cromosómicas en roedores. En cultivos celulares animales y humanos, induce daño al ADN. Se ha asociado con deficiencias en el crecimiento (Gong *et al.*, 2002; Gong *et al.*, 2004); (Shouman, El Morsi, Shabaan, Abdel-Hamid, & Mehrim, 2012) y con hepatomegalia (Gong *et al.*, 2012).

Tabla 1. Análisis de aflatoxinas en países de América Latina y el Caribe.

País	Muestra	Concentración de AFs
México (1995) (Torres-Espinoza, Acuña-Askar, Naccha-Torres, & Castellon-Santa Ana, 1995)	Maíz	20 ng/g
México (2011) (Castillo-Urueta, Carvajal, Mendez, Meza, & Galvez, 2011)	Maíz tortillas	0.003- 0.385 µg/kg
Guatemala (1988) (Canahui, 1988)	Pastel de maíz	51 µg/kg
	Maíz	< 4 µg/kg
Cuba(Sanchez, 1988)	Maíz	10-95 µg/kg
Costa Rica(Mora, 1980)	Maíz	50 µg/kg

La AFB₁ se absorbe en el tracto gastrointestinal y se metaboliza en el hígado. Una fracción se activa y se fija en este órgano, mientras que otra fracción sufre metabolismo y puede ser excretada en la bilis y posteriormente en las heces, o redistribuida en torrente sanguíneo (Dennis & Hsieh, 1981). Puede inducir mutaciones puntuales y se considera clastógena (Europea, 2006); Scorsone et al. , 1992).

Tabla 2. Estructura química de las Aflatoxinas

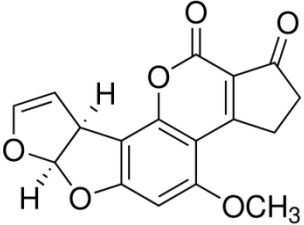
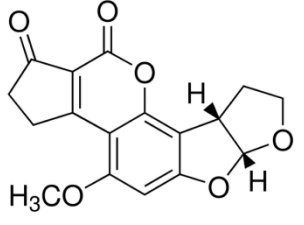
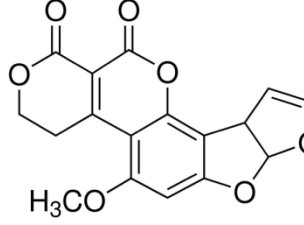
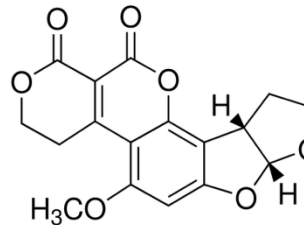
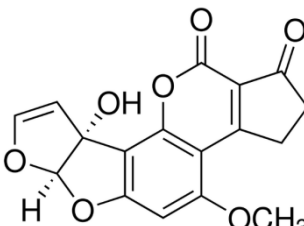
Aflatoxina	Nombre oficial
<p>B1</p>  <p>The structure of Aflatoxin B1 consists of a central benzene ring with a methoxy group (-OCH₃) at the 10-position. It is fused to a five-membered furan ring at the 1-position and a six-membered coumarin ring at the 2-position. The coumarin ring has two carbonyl groups at the 3 and 4 positions.</p>	<p>(6aR,9aS)-2,3,6a,9a-Tetrahidro-4-metoxiciclopenta[c]vfuro-(3',2':4,5)furo[2,3-h][l]benzopiran-1,11-diona (9Cl)</p> <p>Peso molecular: 312.3</p>
<p>B2</p>  <p>The structure of Aflatoxin B2 is similar to B1 but has a different ring fusion at the 2-position, resulting in a six-membered coumarin ring with two carbonyl groups at the 3 and 4 positions. It also has a methoxy group at the 10-position.</p>	<p>(6aR,9aS)-2,3,6a,8,9,9a-Hexahidro-4-metoxiciclopenta [c]-furo[3',2':4,5]furo[2,3-h] [l]benzopiran-1,11-diona (9Cl)</p> <p>Peso molecular: 314.3</p>
<p>G1</p>  <p>The structure of Aflatoxin G1 features a central benzene ring with a methoxy group at the 10-position. It is fused to a six-membered dihydroisobenzofuran ring at the 1-position and a six-membered coumarin ring at the 2-position. The coumarin ring has two carbonyl groups at the 3 and 4 positions.</p>	<p>(7aR,10aS)-3,4,7a,10a-Tetrahidro-5-metoxi-1H,12H-furo-[3',2':4,5]furo[2,3-h]pirano[3,4-c][l]benzopiran-1,12-diona (9Cl)</p> <p>Peso molecular: 328.3</p>
<p>G2</p>  <p>The structure of Aflatoxin G2 is similar to G1 but has a different ring fusion at the 2-position, resulting in a six-membered coumarin ring with two carbonyl groups at the 3 and 4 positions. It also has a methoxy group at the 10-position.</p>	<p>(7aR,10aS)-3,4,7^a,9,10,10a-Hexahidro-5-metoxi-1H,12Hfuro[3',2':4,5]furo[2,3-h]pirano[3,4-c][l]benzopiran-1,12-diona (9Cl)</p> <p>Peso molecular: 330.3</p>
<p>M1</p>  <p>The structure of Aflatoxin M1 is similar to B1 but has a hydroxyl group (-OH) at the 12-position instead of a methoxy group. It also has a methoxy group at the 10-position.</p>	<p>(6aR,9aR)-2,3,6^a,9a-Tetrahidro-9a-hidroxi-4-metoxiciclopenta [c]furo[3',2':4,5]furo[2,3-h][l]benzopiran-1,11-diona (9Cl)</p> <p>Peso molecular: 328.3</p>

Tabla 3. Clasificación de las aflatoxinas por la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (INEGI, 2009)

Grupo IARC	Evaluación de los estudios de aflatoxinas
1	Existe <i>suficiente evidencia</i> en humanos de carcinogenicidad de la mezcla de aflatoxinas.
	Hay <i>suficiente evidencia</i> en modelos animales de carcinogenicidad de la AFB ₁
	Hay <i>suficiente evidencia</i> en modelos animales de la carcinogenicidad de la AFG ₁ .
	Hay <i>suficiente evidencia</i> en modelos animales de la carcinogenicidad de la AFM ₁ .
2A	Hay <i>evidencia inadecuada</i> en modelos animales de la carcinogenicidad de la AFG ₂ .
2B	Hay <i>limitada evidencia</i> en modelos animales de la carcinogenicidad de la AFB ₂ .

1 Carcinógeno en humanos

2A Probablemente carcinógeno en humanos

2B Posiblemente carcinógeno en humanos

La AFB₁ es hepatotóxica en animales y humanos. Tiene actividad inmunosupresora en animales puesto que inhiben la fagocitosis y la síntesis proteica, lo que tiene impacto en la formación del ADN, ARN y proteínas ribosómicas (Sharma, 2004; Smith, 1982). Lo anterior sucede a raíz de la inhibición de la ARN polimerasa dependiente de ADN en el núcleo y la toxina se une de manera covalente al ADN, seguido de la estimulación de la reparación del ADN. La aflatoxina se activa en la membrana del núcleo a una forma que inhibe la síntesis del ARN. Aumenta la permeabilidad de la mitocondria y se ve interrumpido el transporte de electrones; altera el metabolismo del ARN y la morfología del núcleo (Dvorackova, 1990).

Además de los anteriores, se produce el metabolito genotóxico AFB₁ 8,9-exo-epóxido, por la intervención del CYP1A2, 3A4, 3A5, 3A7 y enzimas GSTM1 (Glutation-S-transferasas) (Figura 2). La formación de este epóxido conlleva a la formación de *aductos* con el ADN, ya que su inestabilidad promueve la unión con la guanina (INEGI, 2009) (Sheabar, Groopman, Qian, & Wogan, 1993).

En algunos trabajos se han estudiado compuestos antioxidantes presentes en la dieta, que podrían afectar esta unión de la AFB₁ con el ADN. Entre los más mencionados están la vitamina A (Qin y Huang, 1986), flavonoides de plantas (Francis *et al.* 1989) y compuestos fenólicos (San y Chan, 1987; Francis *et al.* 1989).

La activación del exo-epóxido, la unión de éste al ADN para la formación del *aducto* y la modificación del gen TP53 son los mecanismos por los cuales se producen mutaciones que eventualmente forman tumores (IARC, 2002). El epóxido puede oxidarse a dialdehído y se condensa con el grupo amino del aminoácido lisina, por lo que se forma el *aducto* con la albúmina a través de la lisina. Entre el 1 y 3% de una dosis de aflatoxina B₁ puede unirse a la albúmina del suero (Skipper, Hutchins, Turesky, Sabbioni, & Tannenbaum, 1985). El tiempo de vida media de este *aducto* es de 20 días, por lo que puede ser usado como marcador biológico de exposición.

En un estudio reportado por Wild y colaboradores (Wild, Jiang, Sabbioni, Chapot, & Montesano, 1990), se utilizó este metabolito como marcador biológico de exposición en suero de niños y adultos de Asia, África y Europa. Como resultado se obtuvieron concentraciones detectables en la totalidad de los niños africanos y concentraciones de 25 a 200 pg del *aducto* AFB₁-lisina/mg de albúmina en 20 adultos. En otros estudios realizados en Asia y África, se obtuvieron datos de desarrollo de carcinomas en hígado debido a la ingesta de distintos alimentos como crema de cacahuate, cereales y aceite de granos, relacionando la presencia de aflatoxinas en alimentos y en fluidos corporales (INEGI, 2009).

Tanto los metabolitos urinarios como los *aductos* aflatoxina-lisina en suero reflejan la exposición en un período reciente (días o semanas), por lo que no pueden ser utilizados para medir exposiciones anteriores a ese tiempo (INEGI, 2009).

La respuesta tóxica en humanos se verá influenciada principalmente por la biodisponibilidad y la toxicidad de la aflatoxina; la ingesta diaria de toxina, la continuidad de la ingesta, el peso del individuo, así como el estado fisiológico y la edad. Por lo anterior, la susceptibilidad de los niños a los efectos tóxicos de las aflatoxinas suele ser mayor (Kuiper-Goodman, 1994).

La exposición crónica a aflatoxinas puede ser un factor en el desarrollo de enfermedades hepáticas. De acuerdo con datos del Instituto para la Medición y Evaluación en Salud (Institute for Health Metrics and Evaluation) la cirrosis se posiciona en el quinto lugar de las causas de mortalidad en la población general mexicana, ocupando el primer puesto en el grupo de edad de 40 a 54 años (SSA., 2002). La cirrosis puede deberse al consumo de alcohol, a la infección por Hepatitis B o C, y a otros factores. El consumo de alcohol en este caso es el riesgo principal asociado a la mortalidad, desde los cinco años hasta antes de los 50 años de edad; después de esta edad, el alto índice de masa corporal se convierte en la causa número uno.

La incidencia de carcinoma hepatocelular (CHC) ha sido asociada con la ingesta de aflatoxinas. A través de varios estudios (Alpert, Hutt, Wogan, & Davidson, 1971); (Harris & Sun, 1986) se ha demostrado la influencia de las aflatoxinas en el desarrollo de enfermedades hepáticas, sobre todo cuando existe previamente una infección por los virus de Hepatitis. En estudios epidemiológicos se ha observado una correlación con el aumento de riesgo de CHC y dosis altas de aflatoxinas, mostrando mayor susceptibilidad en individuos expuestos a virus de la Hepatitis

C. EL CHC es una de las principales causas de muerte por cáncer en los países en desarrollo. La exposición crónica a aflatoxinas aunado a la infección por virus de la hepatitis B conlleva a un riesgo de presentar cáncer en hígado 30 veces más alto que en individuos solamente expuestos a aflatoxinas (Groopman, Kensler, & Wild, 2008). También existe un efecto sinérgico en el efecto de las aflatoxinas y la presencia de virus de la hepatitis C con el CHC (Liu & Wu, 2010).

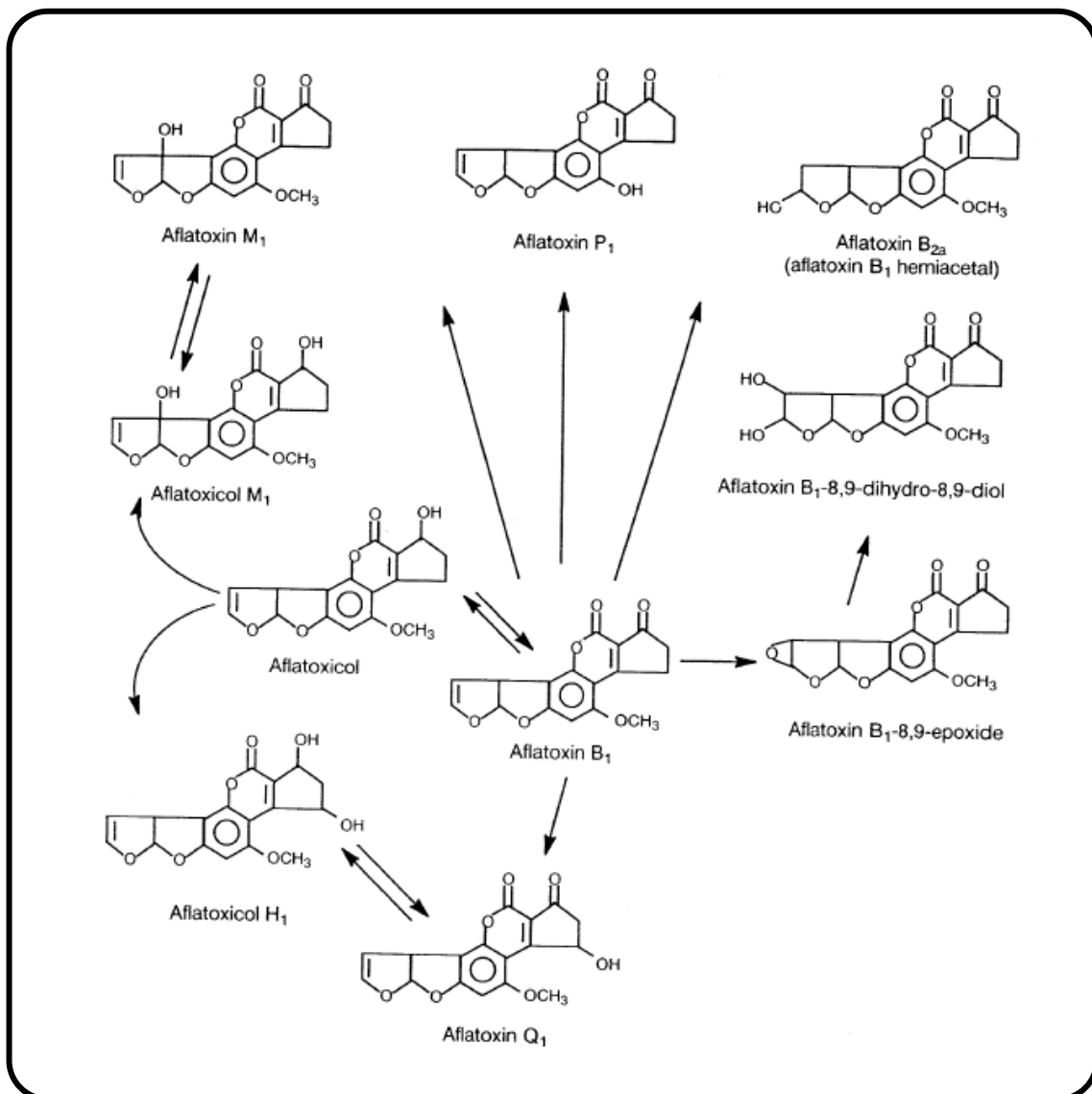


Figura 2. Principales metabolitos de la Aflatoxina B₁ (Essigmann, Croy, Bennett, & Wogan, 1982).

1.2 Maíz

El maíz es un cereal ampliamente consumido en México. El consumo per cápita anual llega a los 120 kg (García-Lara & Bergvinson, 2007). Debido a su composición, es una excelente fuente de carbohidratos y una buena fuente de proteínas (Tabla 4).

Existen diversos productos elaborados a partir del maíz, tales como la harina de maíz, atole y los platillos preparados con masa nixtamalizada como los tamales y las tortillas, siendo estas últimas, parte fundamental de la dieta mexicana. Las tortillas forman parte tanto de la dieta de adultos como de niños y su consumo en áreas urbanas es de 155.4 g y de 217.9 g en áreas rurales, de acuerdo con datos de la Secretaría de Economía (SE, 2012).

Tabla 4. Composición química de algunas especies de semilla de maíz (100 g)

Agua %	Proteína g	Lípidos g	Carbohidratos		Cenizas g
			Total g	Fibra g	
13.8	8.9	3.9	72.2	2.0	1.2

Fuente: Watt y Merrill, 1963.

A nivel nacional, los mayores productores de maíz son los estados de Sinaloa, Jalisco y Michoacán de Ocampo. El volumen de producción de Sinaloa el año 2014 alcanzó las 3,686,274 toneladas (INEGI, 2015).

En cuanto al consumo humano, el más usado para la elaboración de tortillas es en su mayoría el maíz blanco. Para la elaboración de tortilla, puede seguirse el método tradicional que incluye la preparación manual de la masa, o el uso de harina nixtamalizada preparada industrialmente para

la elaboración de masa. Esta masa es utilizada en las tortillerías para la elaboración del producto y en medios urbanos es altamente consumida por la población.

Del 2003 al 2010 la producción de harinas de maíz en México mostró una tasa media de crecimiento anual de 11.2%, lo que se tradujo en un valor de 15,750 millones de pesos para el último año. Esta producción se concentra en grandes empresas como Grupo Industrial MASECA (71.2%), MINSA (23.5%), Harimasa (1.4%), Cargill de México (1.3%), Molinos Anáhuac (1.1%) (CEDRSSA, 2014).

Además de su importancia en la alimentación humana, el maíz es uno de los forrajes más utilizados en la ganadería, prefiriéndose el uso de maíz amarillo para este fin. En la actualidad se reporta que el 61.9% de la producción se destina al forraje, mientras que el restante se dirige al consumo humano, al uso industrial y como semilla (FIRA, 2016).

Cuando se habla de maíz forrajero, se puede referir a tres tipos principales, clasificados como rastrojo, grano y ensilaje, siendo el último el más utilizado como alimento de ganado lechero, debido a que el maíz puede conservarse por más tiempo. Mediante fermentación anaerobia de los carbohidratos de la planta, el pH disminuye a un rango de 3.8 a 5, como consecuencia de la generación del ácido láctico, lo cual previene la proliferación de otros microorganismos y plagas (Jurado-Guerra, Lara-Macías, & Saucedo-Terán, 2014).

A pesar de resaltar la importancia que el maíz tiene para México, es importante mencionar que su producción se extiende alrededor del mundo dada su relevancia en la producción de proteína animal y en el sector industrial. Para el ciclo de producción 2016-2017, se calculó un aumento

del 6.9% con respecto al ciclo 2015-2016, con lo que podría alcanzarse un récord histórico (FIRA, 2016). De este modo, se espera que el consumo mundial se incremente en un 3.2 por año.

La lista de los mayores productores la encabeza Estados Unidos con una producción 15 veces mayor a la de México, como se observa en la Tabla 5Tabla 5.

Tabla 5. Principales países productores de maíz.

País	Toneladas Métricas
Estados Unidos	366,539,000
China	218,000,000
Otros	94,904,000
Brasil	82,000,000
Unión Europea	64,275,000
Argentina	34,000,000
Ucrania	26,000,000
México	24,200,000

Fuente: CNPAMM, 2017.

1.2.1 Contaminación del maíz

Tan importante como el éxito del proceso de producción, resulta el manejo del producto después de la cosecha, puesto que un porcentaje elevado del producto cosechado puede perderse debido a un manejo inadecuado. Las etapas del manejo post-cosecha incluyen el secado, la limpieza, la selección, la clasificación, el almacenamiento y por último el control de plagas (Revista Enlace, 2014). De acuerdo con estudios reportados en 2009, las pérdidas durante la post-cosecha de los pequeños productores van del 10 al 20% en regiones subtropicales, mientras que para áreas tropicales van del 20 al 50% (CIMMYT; (Escalante, 2009). Como se representa en la Figura 3, el maíz puede ser atacado por distintas plagas en la fase de producción.

Sin embargo, en esta publicación el problema de la contaminación por hongos ni siquiera es mencionado.

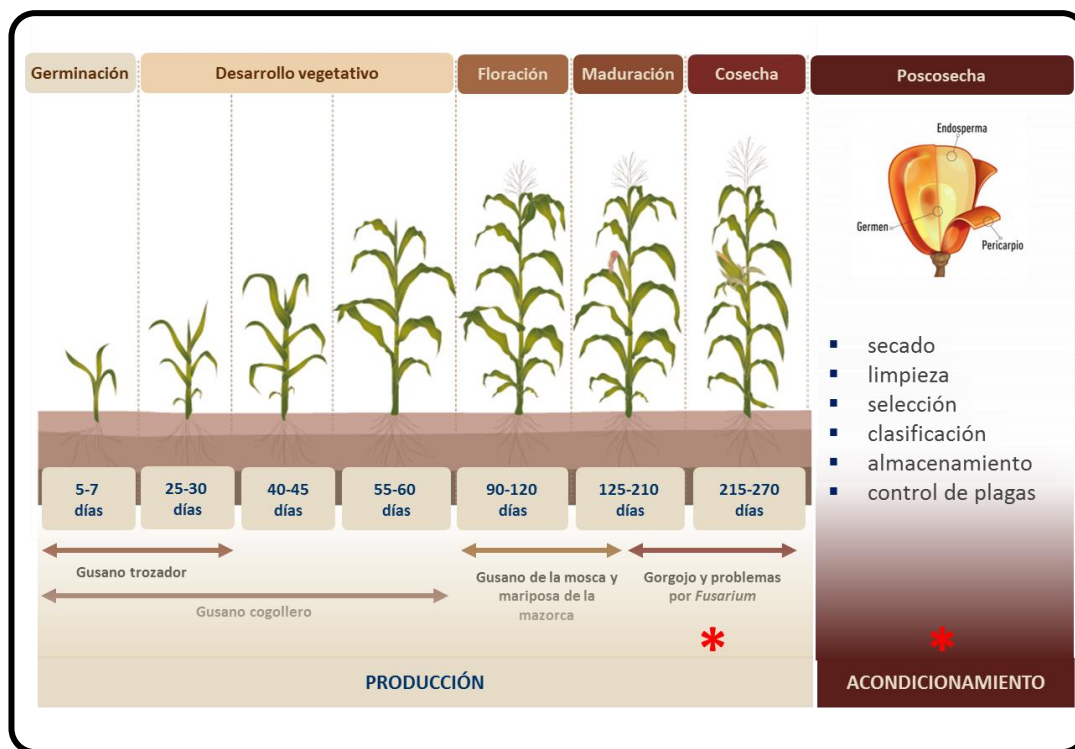


Figura 3. Sistema de producción de maíz y fase de acondicionamiento (Revista Enlace, 2014).

Las plagas constituyen una preocupación para los agricultores debido a la disminución del rendimiento, la calidad fisiológica del grano y el valor nutritivo. Estos daños tienen como consecuencia la disminución del valor comercial, teniendo a su vez impacto en el ingreso percibido de los productores.

En los cultivos de maíz pueden presentarse plagas del suelo y plagas del follaje; las primeras se alimentan de la raíz causando una disminución de la capacidad para absorber nutrientes y agua, mientras que las del follaje se alimentan de las hojas y la savia.

Algunas de las plagas más comunes en la etapa de producción son el barrenador grande del grano (*Prosephanus truncatus*), el gorgojo del maíz (*Sitophilus zeamais*) y la palomilla del maíz (*Sitotroga cerealella*). Sin embargo, las alteraciones descritas en las fuentes consultadas están más frecuentemente referidas a insectos y a especies de *Fusarium* (Figura 3), sin incluir las demás micotoxinas y por lo tanto las aflatoxinas del género *Aspergillus*. En el caso de mohos de otras especies micotoxigénicas en campo, el maíz puede verse afectado por *Aspergillus flavus* (Angle, 1987; Lillehoj, Wall, & Bowers, 1987) Horn *et al.*, 1995) y la contaminación ocurre debido a daños estructurales causados por insectos. Por esta razón, el control de plagas se convierte en una medida preventiva contra la contaminación por hongos.

1.2.2 Almacenamiento

Después de la cosecha, los granos continúan con el proceso de respiración, que tiene como resultado la generación de bióxido de carbono, agua y energía en forma de calor, razón por la cual el deterioro del grano está relacionado con la aceleración en el proceso de respiración. Condiciones de humedad alta y temperatura alta del grano pueden favorecer la reproducción de insectos, lo cual a su vez aumenta la temperatura y aumenta la humedad para continuar la proliferación. Un contenido alto de humedad al momento de la cosecha puede favorecer la subsecuente contaminación. Aún con un porcentaje de humedad seguro para permanecer libre de contaminación durante el almacenamiento, (del 15%) el maíz puede contaminarse por la acción de gorgojos (*Sitophilus zeamais*) que transportan y diseminan las esporas (Christensen & Kaufmann, 1969). Esta inoculación es precedida por el daño que ocasionan en el pericarpio del grano. La proliferación de gorgojos a su vez, conlleva al aumento de humedad y temperatura de los granos, facilitando la infestación por otros insectos.

En las comunidades rurales, la promoción del buen manejo de post-cosecha está impulsada por la iniciativa de la fundación Rockefeller, conocida como *Reducción Global de Pérdidas y Desperdicio de Alimentos*, descrita por la FAO como SAVE FOOD (FAO, 2011). Mediante tecnologías se busca favorecer a los productores de bajos ingresos en África y se basa principalmente en el almacenamiento de los granos secos en contenedores o silos metálicos. En México, se tiene el antecedente de la repartición de estos silos de lámina galvanizada en la región mixteca oaxaqueña. A nivel local, la SAGARPA ha repartido contenedores de plástico de capacidad aproximada de 300 kg en sólo algunas comunidades de la región Huasteca, con el fin de proteger los granos de la intemperie para prevenir las condiciones desfavorables. Actualmente se dejó esta iniciativa en pausa para probar con otros materiales.

1.2.3 Control

A nivel nacional los problemas más frecuentes de contaminación de maíz por aflatoxinas han tenido lugar en el estado de Tamaulipas. En el año de 1989 se registró uno de los eventos más significativos históricamente, puesto que, debido a la combinación de altas temperaturas y sequía, se favoreció el desarrollo de plagas y la presencia de aflatoxinas en concentraciones aproximadas de 45-65 μg de AFB_1/kg y posterior al almacenamiento, mayores de 250 μg de AFB_1/kg (Figueroa, 1999; Guzmán-De Peña, 1989).

Años después, y como consecuencia de la afectación de un amplio número de cultivos, en abril de 2012 la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) decidió dotar a los agricultores de un fungicida de nombre *Kuali* para prevenir y detener la contaminación por el hongo *Aspergillus*.

En el estado de San Luis Potosí no se tienen antecedentes importantes de contaminación por aflatoxinas, sin embargo, es difícil obtener un registro puesto que el abordaje de la problemática es relativamente reciente. Los esfuerzos de la SAGARPA, están concentrados en el control de las plagas presentes sobre todo en la fase desarrollo. Para los riesgos de contaminación en la fase de almacenamiento, las medidas de control incluyen el tratamiento con Fosforo de Aluminio (AIP), el cual se puede encontrar disponible en tabletas, pellets y polvo contenido en sobres, dependiendo de las condiciones en las cuales se vaya a utilizar. Sin embargo, este producto tiene un alcance limitado y no se distribuye de manera generalizada.

En la región Huasteca del Estado, la SAGARPA ha repartido este tipo de tabletas, que, al ser expuestas a condiciones atmosféricas de temperatura y humedad, liberan fosfina (fosforo de hidrógeno). La fosfina es un gas de alta toxicidad, con un límite de tolerancia para exposiciones continuas o TLV, de 0.3 ppm. Una tableta de tres gramos produce finalmente un gramo de fosfina en un periodo de 24-48 horas y esta liberación se ve afectada por la temperatura y humedad. Resulta efectiva para combatir tanto insectos como roedores. Se ha demostrado su eficacia además para la inhibición de hongos en maíz (Leitao, De Saint-Blanquat, & Bailly, 1987), con resultados que describen una disminución en el crecimiento del micelio de varias especies de *Aspergillus*, así como de la producción de micotoxinas. Por ello, este método de control podría ser útil para controlar la producción de aflatoxinas en el maíz una vez que está almacenado.

Otros investigadores han buscado estrategias para disminuir la concentración de aflatoxinas en los alimentos, una vez que los granos están contaminados y que las medidas de prevención no fueron aplicadas. Como ejemplo, se han estudiado métodos de descontaminación de productos agrícolas mediante el uso de amoníaco para convertir la aflatoxina B₁ en aflatoxina D₁. Sin

embargo, la aplicación de este proceso debe acompañarse de tratamiento térmico puesto que se ha reportado la reversión hacia aflatoxina B₁. Este método se ha llevado a cabo comercialmente de manera limitada por la controversia respecto a la confiabilidad de los resultados (Müller, 1982).

A pesar de que las aflatoxinas no son degradadas rápidamente al cocinarse, puede disminuirse su concentración mediante otros tratamientos en la preparación de alimentos (Goldblatt, 1969); (Müller, 1982). Tratándose de la tortilla, la preparación incluye el tratamiento alcalino de los granos de maíz con cal, además de su cocimiento, en lo que llaman “nixtamalización”. Este proceso afecta negativamente la concentración de aflatoxinas y ha sido estudiado con anterioridad en varios estudios. En un estudio realizado por Torres *et al.*, se obtuvo que tras seguir el procedimiento tradicional se eliminó el 51.7% de las aflatoxinas en las tortillas, mientras que, con el procedimiento comercial, en el que se descarta el uso de cal, se logró eliminar sólo el 29.5% (Torres, Guzmán-Ortiz, & Ramírez-Wong, 2001). En otro estudio a este respecto (Guzman-de-Peña, Trudel, & Wogan, 1995) se obtuvo que la reducción en el contenido de aflatoxinas luego de la preparación del nixtamal fue del 83%, mientras que en el reportado por Pemberton *et al.* (1991) se estimó una reducción de 40% del contenido de aflatoxinas después de la preparación tradicional del nixtamal (Pemberton & Simpson, 1991).

1.3 Leche

La leche se define como “el producto integral obtenido de la ordeña higiénica de la vaca lechera”. Es uno de los alimentos con mayor valor nutrimental, por lo que es altamente recomendado

para la dieta infantil. Debido a su composición, la leche aporta el 21% de las necesidades de proteína y además del calcio, contiene nutrientes esenciales tales como magnesio, selenio, riboflavinas, vitamina B12 y B5, entre otros. (FAO).

En lo que respecta a la contaminación de leche por aflatoxinas, la AFM₁ se produce como resultado del proceso de metabolismo de la AFB₁. Tanto la AFM₁ como otros metabolitos se excretan en el sistema circulatorio y posteriormente se distribuyen en la leche, huevos, músculo y tejidos (Dennis & Hsieh, 1981).

A partir de la ingesta de la AFB₁ en el alimento contaminado, dentro de las siguientes 12-24 horas se puede detectar la presencia de AFM₁ en la leche. La conversión de AFB₁ a AFM₁ puede estar influenciada por factores como la raza del ganado, la concentración ingerida de la AFB₁, el estado de salud de los animales, así como la cantidad y el tiempo de la administración del alimento, aunque es de esperarse que el metabolismo particular de los animales tenga influencia en las diferencias en las concentraciones finales de AFM₁ en la leche (Gimeno, 2004).

A nivel nacional, se produce leche en todo el territorio, sin embargo, para el 2010 la producción se concentró en los estados de Jalisco, Coahuila de Zaragoza, Durango y Chihuahua (México, 2012). El mayor productor, Jalisco tuvo producción anual de 1,194,866 toneladas, que representan el 19% del total nacional.

En los últimos años, la producción de leche se incrementó en un 9.5% de 2010 a 2016 y se espera que para en 2017 aumente un 1.7% para el sector lechero. De acuerdo con Kantar Worldpanel (Kantar-Worldpanel, 2017) el 10.7% del gasto por familia está destinado a leche líquida,

promediando los 217 L anuales. Para el año 2016, se reportó un consumo per cápita de 124 L anuales, lo cual sigue por debajo de la recomendación de la FAO de 180 L.

La leche por su parte, es uno de los diez productos más consumidos en el país. De la lista de los 10 productos, cuatro de ellos son leche o productos lácteos¹: Lala®, Nutrileche®, Liconsa® y Alpura® (Arteaga, 2014).

Además de leche líquida, existe un alto consumo de leche en polvo para elaborar *producto lácteo*, el cual es el caso del Programa de Abasto Social de Leche de LICONSA, la cual es una empresa de participación estatal mayoritaria, que industrializa y distribuye leche a precio subsidiado en todo el país.

Los productos de origen animal como la leche y los productos lácteos son fuente de aflatoxinas, debido a la ingesta de piensos y forraje contaminado previamente con estas toxinas. Como parte del metabolismo de la AFB₁ y la AFB₂ en el ganado, se producen la AFM₁ y la AFM₂, que son excretadas en la leche. La tasa de conversión estimada es de 1-3% entre la AFB₁ y la AFM₁ (Ali, Hashim, & Yoshizawa, 1999; Barbieri, Bergamini, Ori, & Pesca, 1994).

Los procesos para el procesamiento de la leche, tales como la pasteurización, separación de grasa y suero, elaboración de quesos y fermentación por microorganismos, entre otros, no tienen efecto en la disminución de la concentración de la toxina. Por esta razón, puede

¹ Se denomina producto lácteo combinado al “producto elaborado a partir de sólidos lácteos y otros ingredientes que no proceden de la leche, el cual debe contener como mínimo 15 g/L de proteína propia de la leche y, de ésta, el 80% de caseína” (NOM-183-SCFI-201).

encontrarse aflatoxinas en leche, queso, crema y yogurt (Fallah, Jafari, Fallah, & Rahnama, 2009; Martins & Martins, 2000, 2004).

Estudios realizados en la década de 1990 refieren la presencia de aflatoxinas tanto en leche de marcas comerciales como en granos de maíz y nixtamal. En un estudio realizado en 1996, se encontró que se sobrepasó el nivel de 20 ppb en algunas muestras y que las concentraciones encontradas fueron más altas en aquellas muestras con menos pasos en la preparación del producto final (Ledesma-Osuna, Campas-Baypoli, Torres, & Ramirez-Wong, 1996). Paralelamente, se han estudiado otras micotoxinas en diferentes cereales, dentro de las cuales están la zearalenona (Ochoa *et al.*, 1989), fumonisinas, ocratoxina, toxina T-2 y ácido ciclopiazónico.

De acuerdo con estimaciones de la FDA (1977-1978), se ingieren en alimentos un promedio de 2.73 ng AFM₁/kg/persona/día, y un máximo de 9.03 ng AFM₁/kg/persona/día.

2 ANTECEDENTES

La preocupación mundial en relación con la seguridad de los alimentos se ve expresada a través de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, (Food and Agriculture Organization, FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). En coordinación, ambas formaron la *Joint Food and Agriculture Organization/ Organización Mundial de la Salud (FAO/OMS) Expert Committee on Food Additives (JECFA)*, que nació con la finalidad de evaluar la seguridad de los aditivos y que en la actualidad también evalúa contaminantes, compuestos producidos de manera natural en los alimentos y fármacos de origen veterinario.

A nivel nacional el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) tiene la función de verificación, inspección y seguimiento de empresas certificadas en Sistemas de Reducción de Riesgos de Contaminación (SRRC), para mantener la inocuidad y calidad. No obstante, no se encontró algo referente al tema de las aflatoxinas y su control.

En cuanto al control por parte de la Secretaría de Agricultura, Ganadería Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), no forma parte de sus funciones la inspección a los granos de manera rutinaria a nivel estatal o municipal, así como tampoco la inspección de huevo. En cambio, se certifica a los productores de alimento balanceado, para lo cual deben de cumplir con los niveles permitidos de aflatoxinas en los cereales.

2.1 Aflatoxinas B y G

El estudio de las micotoxinas surgió a partir de 1960, cuando se presentó una repentina muerte masiva de pavos en el sur de Inglaterra debida a la intoxicación por aflatoxinas encontradas en el alimento de estos animales (Sargeant, O'Kelly, Carnaghan, & Allcroft, 1961). La enfermedad fue nombrada "enfermedad X de los pavos", y luego de la investigación del alimento se observó que, después de administrarlo por seis meses, algunas ratas de laboratorio desarrollaron cáncer de hígado. Posteriormente, este grupo de investigadores logró aislar una toxina producida por el hongo *Aspergillus flavus* y por esta razón se le llamó "Aflatoxina". Las cuatro aflatoxinas identificadas fueron nombradas de acuerdo con su perfil de fluorescencia, B₁ y B₂ por el color azul (blue en inglés), y las G₁ y G₂ por el color verde (green en inglés).

A pesar de tratarse de contaminantes relativamente recientes, la Unión Europea (UE) tiene una regulación amplia en materia de micotoxinas, en la que se establecen límites para los cereales y otros alimentos como la leche, nueces, cacahuates, alimento infantil y especias. En el caso de cereales, el valor límite es de 2.0 µg/kg de AFB₁, de 4.0 µg/kg de la suma de B₂, G₁, G₂. Para la leche se establecen 0.050 µg/kg de AFM₁. Para ambos casos, el valor disminuye si los alimentos son para el consumo de lactantes y niños de corta edad (*Reglamento (CE) No 1881/2006 de la Comisión por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios*).

Tabla 6. Especificaciones de límites máximos de Aflatoxinas.

Aflatoxina	Producto	Límite máximo México	Límite máximo UE ^[4]
AFB ₁ +AFB ₂ +AFG ₁ +AFG ₂	Masa	12 µg/kg ^[1]	5 µg/kg ^[4] 10 µg/kg
	Tortillas de maíz nixtamalizado		
	Tostadas de maíz nixtamalizado		
	Harinas de maíz nixtamalizado para preparar tortillas y tostadas		
	Tortillas de trigo	20 µg/kg ^[1]	2 µg/kg ^[4] 4 µg/kg
	Tortillas integrales		
	Harinas para preparar tortillas de trigo		
	Harinas integrales para preparar tortillas		
AFM ₁	Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado	0.5 mg/L ^[3]	0.05 µg/kg

^[1] NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba.

^[2] NOM-243-SSA1-2010, Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

^[3] Reglamento (CE) No 1881/2006 de La Comisión, Unión Europea.

^[4] Sólo AFB₁

En México, se regula el contenido de aflatoxinas a través de las normas *NOM-187-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba* (Tabla 6); y la *NOM-188-SSA1-2002, Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias*. El valor límite establecido por la última es de 20 µg de aflatoxinas por kilogramo de los cereales arroz, avena, cebada, centeno, maíz, sorgo, triticale y trigo. Sin embargo, no existe regulación o límites máximos en otros alimentos.

La presencia de aflatoxinas en tortillas ha sido del interés de grupos de investigación, por lo que se tienen evidencias de análisis del producto como tal y no sólo del maíz. En un estudio llevado a cabo en la Ciudad de México, conducido por Castillo Urueta y colaboradores (2012), se obtuvo que el 20% de las tortillas analizadas en un total de 198 muestras de 98 puntos, presentaron niveles superiores al límite máximo mexicano (Castillo-Urueta *et al.*, 2011).

2.2 Aflatoxina M1

Esta aflatoxina es el metabolito hidroxilado de la AFB₁ (4 hidroxiflatoxina B1). La AFM₁ puede obtenerse como producto de la AFB₁ dentro de las 12-24 horas de ingestión. La relación de AFB₁ ingerida y la AFM₁ excretada en leche oscila entre 34:1 a 1600:1. (Gimeno & Martins, 2000; Rodricks & Stoloff, 1977). Otros autores, han reportado que aproximadamente el 6% de la concentración ingerida de AFB₁ es secretada como AFM₁ en la leche (Van Egmond y Dragacci, 2001).

Al igual que en materia de tortillas, la normativa mexicana establece límites para aflatoxinas en leche, en este caso, de AFM₁ con un límite máximo de 0.5 µg/L, a través de la NOM-091-SSA1-1994. *Bienes y servicios. Leche pasteurizada de vaca. Disposiciones y especificaciones sanitarias;* y de la NOM-184-SSA1-2002, *Productos y servicios. Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.* En Estados Unidos el valor máximo coincide con el mexicano. Sin embargo, en la Unión Europea el valor establecido es de 0.05 µg/kg, diez veces menor.

En otro estudio realizado en leche orgánica en Chiapas, México, se encontró que el 23% de las muestras analizadas excedieron el valor de la NOM, de 0.5 µg/kg, mientras que el 67% excedieron el valor de la norma de la UE (Gutiérrez *et al.*, 2013).

2.3 Riesgo por exposición a aflatoxinas

La JECFA, como órgano científico asesor de la FAO y la OMS, tiene un mecanismo para evaluar la toxicidad de los contaminantes en los alimentos. Para lo anterior, considera los datos toxicológicos y enseguida establece una ingesta provisional semanal tolerable (PTWI), o una Ingesta Provisional diaria Tolerable (PTDI). Sin embargo, al hablar de aflatoxinas y debido a que son sustancias carcinógenas, no puede establecerse una ingesta tolerable y tampoco pueden tomarse el NOAEL (No Observed Adverse Effect Level, Nivel en el que no se observa efecto adverso), el NEL (No Effect Level, Nivel en el que no hay efecto) o incluso el TD50 o dosis a la que el 50% de los individuos pueden desarrollar tumores malignos, puesto que, cualquier dosis por mínima que sea, tendrá una probabilidad proporcional de inducir un efecto. En contraparte, dado que las aflatoxinas son contaminantes naturales, no puede exigirse su ausencia total en los alimentos y se recomienda por lo tanto alcanzar el nivel más bajo razonablemente alcanzable (ALARA, as low as reasonably achievable).

Basado en el JECFA, así como en información científica adicional, está el Codex Alimentarius el cual establece guías, estándares y códigos de prácticas para proteger la seguridad de los alimentos. Sin embargo, para las aflatoxinas no se tiene establecida la Dosis de Referencia, sino Límites máximos (ML) para productos en los cuales se incluyen frutos secos y leche, solamente.

Uno de los valores de interés es la TD50, que para la AFB₁ y la AFM₁ son de 1.15 y 10.38 µg/kg pc/día, respectivamente. El NOAEL reportado para la AFB₁ es de 0.75 µg/kg pc/día, mientras que para la AFM₁ es de < 2.5 µg/kg pc/día (Kuiper-Goodman, 1994).

En algunos estudios a nivel internacional, se ha tomado la IDT (Ingesta Diaria Tolerable, en inglés Tolerable Daily Intake, TDI) como valor límite, para lo cual se utilizan entonces alguno de estos valores (NOAEL, TD50), que después se divide entre un factor de seguridad, que puede tener un valor 50 y 50000.

Para calcular de una manera más completa la ingesta de micotoxinas provenientes de todos los componentes de la dieta, se han llevado a cabo en los últimos años los llamados TDS (Total Diet Study), en lo que se determina la suma de la ingesta de varios alimentos para tener una visión más completa de la ingesta real de aflatoxinas. Estos estudios resultan más ilustrativos de la situación en cuanto al riesgo, ya que además de incluir diversos alimentos, también incluyen una variedad de micotoxinas tales como Fumonisina, Ocratoxina A, Zearalenona, Deoxinivalenol, Patulina, entre otras. Como ejemplos podemos mencionar el realizado en Catalunya en el período 2008-2009 (Cano-Sancho *et al.*, 2012) y en Francia en 2004 y en 2011 (Gong *et al.*, 2012), siguiendo una metodología estándar recomendada por la OMS.

La European Union Scientific Committee for Food (SCF) (1994) concluyó que incluso un nivel de 1 ng/kg/pc/día podía contribuir al riesgo de cáncer de hígado (Leblanc, Tard, Volatier, & Verger, 2005). Al tratarse de un contaminante asociado con riesgo cancerígeno, se recomienda estimar la probabilidad del riesgo de cáncer hepático por consumo de aflatoxinas, y no sólo compararlo contra la IDT.

3 JUSTIFICACIÓN

Existe evidencia de la presencia de aflatoxinas en maíz y leche. Al tratarse de alimentos consumidos regularmente por la población mexicana y recomendados ampliamente debido a su alto valor nutritivo, la exposición a contaminantes que puedan estar presentes en los mismos se convierte entonces en una exposición crónica. Si además tomamos en cuenta que estos contaminantes tienen efectos tóxicos sobre el hígado y pueden causar cáncer, tenemos entonces un factor de riesgo que debe ser estudiado.

A nivel nacional las empresas dedicadas al procesamiento de cereales y leche deben cumplir con las normas aplicables en materia de aflatoxinas, pero no debe pasarse por alto el hecho de que el maíz que circula por todo el país para cubrir la demanda de las tortillerías (y de los hogares), no está sujeto a vigilancia y por lo tanto no podemos asegurar su inocuidad.

Aún con el marco normativo existente, los niveles aceptables a nivel nacional exceden a los establecidos en la Unión Europea y en Estados Unidos, y por lo tanto es pertinente que se estime el consumo de estos contaminantes en la dieta.

3.1 Objetivos

Este trabajo tiene como objetivos principales la determinación de las concentraciones de aflatoxinas en tortillas y leche, tomando en cuenta los factores físicos de temperatura y humedad en dos comunidades del estado de San Luis Potosí. Con los datos obtenidos se pretende estimar el riesgo asociado al consumo de estos contaminantes en la dieta.

3.1.1 Objetivos específicos

- I. Estudiar el consumo en la población de estudio para determinar la fuente y la frecuencia de consumo de los alimentos.
- II. Analizar mediante técnicas analíticas oficiales aflatoxinas B₁, B₂, G₁, G₂ y M₁ en los alimentos seleccionados.
- III. Estimar la dosis de exposición por ingesta de tortillas y leche para determinar el riesgo.

3.2 Relevancia

A pesar de contar con numerosos estudios que abordan la problemática de la presencia de aflatoxinas en maíz, así como del efecto del proceso en la preparación del nixtamal en el contenido de las mismas, existe poca evidencia de estudios realizados en tortilla, desde la perspectiva de la evaluación de la inocuidad. De este modo, un estudio con muestreos continuos no sólo de tortilla sino de leche, puede contribuir para determinar la situación actual de riesgo por exposición a aflatoxinas en estos alimentos.

Hoy en día existen métodos analíticos de alta sensibilidad para determinar concentraciones muy bajas de los contaminantes en cuestión. Estos métodos son utilizados de manera rutinaria con éxito en laboratorios de varios estados del país como control de calidad de materias primas y productos en las empresas dedicadas al procesamiento de alimentos. Sin embargo, nos enfrentamos con un escenario alterno en el que la comercialización de los alimentos también se da bajo otro contexto, donde la vigilancia no se lleva a cabo de la misma manera y, por lo tanto, se desconoce si los alimentos que ingerimos diariamente son inocuos.

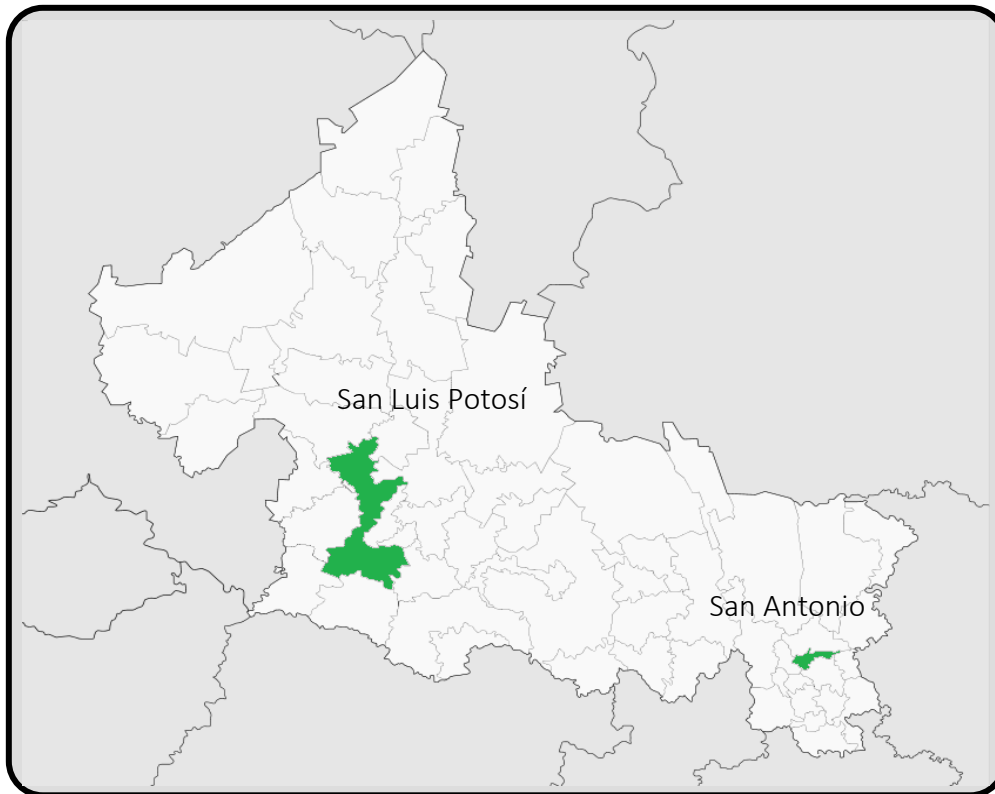
Para muchos alimentos, la calidad e inocuidad es resultado de prácticas adecuadas en todas las etapas, desde la producción en el campo hasta llegar a nuestra mesa. Es decir, la contaminación puede darse en cualquiera de estas etapas.

4 METODOLOGÍA

Se propuso el análisis de zonas geográfica y culturalmente diferentes porque nos permitiría conocer las diferencias entre los contenidos de contaminantes en alimentos debido al origen y por otra, para evaluar el riesgo según el patrón de consumo.

4.1 Áreas de estudio

Para evaluar escenarios distintos, se eligieron dos zonas en el estado de San Luis Potosí, siendo las comunidades de Bocas, en el municipio de San Luis Potosí, y Tocooy en el municipio de San Antonio (Mapa 1) las de interés para este estudio. La primera es una comunidad periurbana, en contraste con Tocooy, que es rural. Otras diferencias importantes se relacionan con las condiciones climáticas, la temperatura y altura de las comunidades. Por otro parte, se observaron que los patrones de consumo de los alimentos y el origen de los mismos, así como la variedad de la dieta, son distintos. Como parte de las similitudes se encontraron el cultivo local de maíz para autoconsumo y la preparación casera de tortillas.



Mapa 1. Municipios de San Luis Potosí y San Antonio, San Luis Potosí.

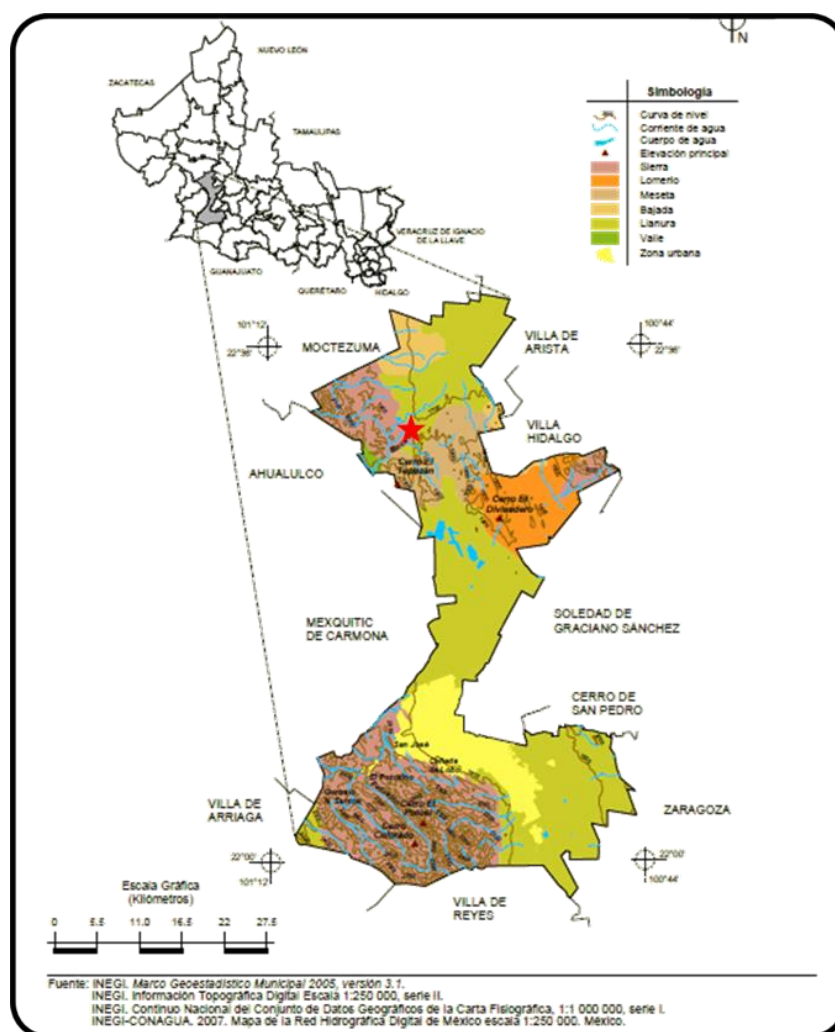
4.1.1 Estación Bocas (Bocas), San Luis Potosí

Esta localidad ubicada al norte del municipio de San Luis Potosí a una altura de 1,650 metros, con una población aproximada de 1,033 habitantes al momento del estudio, se considera periurbana (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**). Menos del 1% de la población habla una lengua indígena. Tiene un clima seco templado con una temperatura media anual de 16.8 °C, una máxima de 35 °C y una mínima de 7 °C.

Su grado de marginación es bajo y se tiene registro de 261 viviendas habitadas (CONAPO, 2010). En el municipio se practica predominantemente la agricultura de temporal, además de riego en

algunas zonas. Aunque la preparación de tortillas caseras es común en la comunidad, la mayor parte de la población participante refirió comprarlas en tortillerías.

Estación Bocas es una comunidad que puede considerarse como punto de reunión de otras más pequeñas. Solamente cuentan con una escuela primaria y una escuela secundaria, a las que acuden no sólo los habitantes de la comunidad, sino habitantes de las comunidades vecinas. La escuela primaria Miguel Hidalgo, donde se obtuvo el contacto para este proyecto, es una escuela bajo el sistema de tiempo completo, aunque durante el tiempo en el que se desarrolló el trabajo, refirieron que la escuela finalmente terminó con sistema de medio tiempo.



Mapa 2. Comunidad Estación Bocas, San Luis Potosí. Fuente: INEGI, 2009.

Al momento del estudio, la comunidad contaba con tres tortillerías. Mientras dos son locales, una de ellas se considera parte de otra comunidad muy cercana (Cerritos). Se tiene conocimiento de la existencia de un establo que surte diariamente leche a una marca comercial y que cuyo ganado es alimentado principalmente por el maíz que es producido localmente, por lo que se puede tener control del origen del alimento utilizado. A su vez, los productores de maíz locales están organizados.



Mapa 3. Escuela Miguel Hidalgo, en Estación Bocas. Googlemaps, 2017.

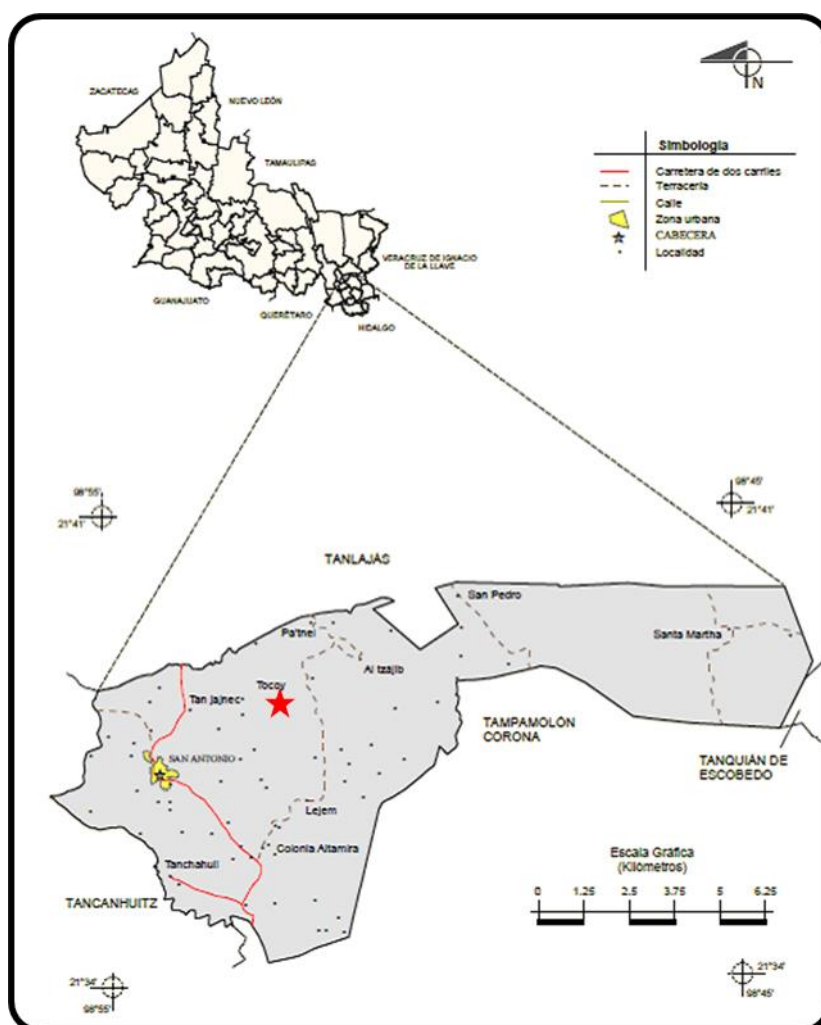
4.1.1 Tocoy, San Antonio

La comunidad de Tocoy se encuentra en el municipio de San Antonio, en la región Huasteca Central del estado de San Luis Potosí (

Mapa 4). Tocoy es una población indígena Tének. Cerca del 88% de la población adulta habla una lengua indígena (tének). Se sitúa en la parte superior del municipio, a una altura de 240 metros, donde el suelo es delgado con poca materia orgánica y la topografía accidentada. Existen

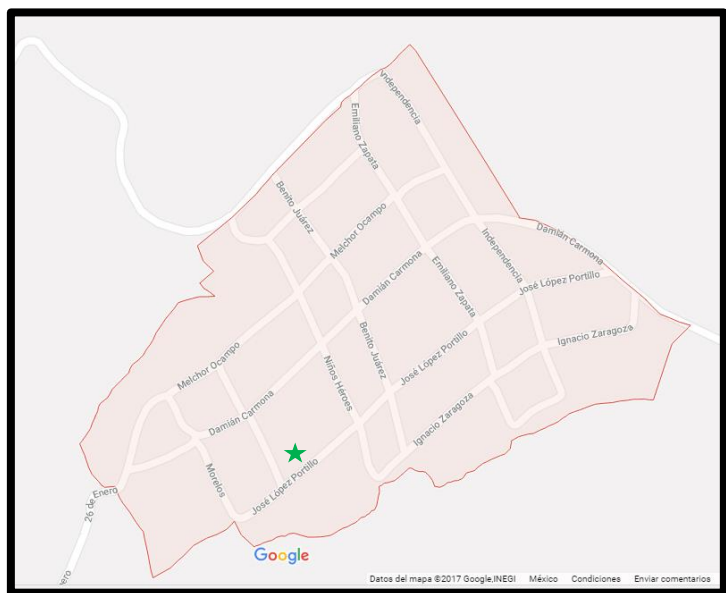
problemas de erosión y la superficie se aprovecha para cultivo de maíz, caña y en menor proporción para la ganadería y recursos forestales. En este municipio se lleva a cabo solamente la agricultura de temporal (INEGI, 2009).

Su grado de marginación es alto y se tiene registro de 229 viviendas habitadas (CONAPO, 2010). Es la comunidad con mayor población del municipio, contando con 1061 habitantes (Inegi, 2010). En la comunidad hay solamente una escuela de educación primaria, la escuela Damián Carmona que cuenta con dos turnos. Al igual que la escuela de E. Bocas, acepta a niños de las comunidades próximas como Xolol y Tanjacj nec.



Mapa 4. Comunidad de Toco, San Luis Potosí. Fuente: INEGI, 2009.

La producción de maíz es de temporal en su totalidad, por lo que el éxito de las cosechas varía cada año al verse influida por la lluvia. Un alto porcentaje de las familias produce maíz solamente para autoconsumo y menos del 50% lo produce más de una vez al año, por lo que la mayor parte del año consume maíz abastecido por Diconsa.



Mapa 5. Escuela Damián Carmona, Toco. Googlemaps 2017.

4.2 Alimentos a evaluar

Tomando en cuenta la importancia de las aflatoxinas y siendo el maíz un cereal susceptible de contaminación, además de ampliamente consumido en México, se tomó la decisión de incluirlo no como insumo, sino como producto final, en este caso, las tortillas.

Con sustento en datos de consumo de alimentos en tres poblaciones rurales de la Huasteca potosina (Toco, San Antonio; Santa María Picula, Tamazunchale; Cuatlamayán, Tancanhuitz de Santos), recabados por Aradillas y Rodríguez (2012), se consideraron tres de los alimentos más consumidos tanto en poblaciones infantiles urbanas como rurales: la leche, el huevo y la tortilla.

Además de los alimentos de origen animal, se incluyó la tortilla como alimento básico en la dieta infantil (Tabla 7).

Inicialmente, el huevo era sin duda uno de los alimentos de interés, por lo que se incluyó en los cuestionarios y en la metodología analítica de laboratorio. México ocupa el sexto lugar en la producción de huevo a nivel mundial, pero además es uno de los mayores consumidores per cápita, ocupando el primer puesto en el año 2012 con 20.8 kilogramos por persona. Para el año 2013 la cantidad ascendió a 21.7 kilogramos (UNA, 2014). A pesar de su importancia y del interés de este estudio por la AFM₁, a lo largo de este trabajo se mencionarán como objetivo las tortillas y la leche solamente, debido a dificultades con los recursos para evaluar esta toxina.

Se considera en este estudio a la comunidad de Toco, San Antonio, como la población de estudio y a Estación Bocas como la población control.

Tabla 7. Alimentos de mayor frecuencia de consumo entre la población infantil de San Luis Potosí.

Población rural ^[1]	Población urbana ^[2]
Tortilla	Leche
Frijoles	Tortilla
Naranja	Tomate
Leche	Frijoles
Plátano	Huevo
Huevo	Arroz, sopa de pasta
Tomate	Plátano

^[1] Datos obtenidos de las comunidades de Cuatlamayán (Tancanhuitz de Santos) y Santa María Picula (Tamazunchale), 2012. ^[2] Datos obtenidos de la zona ladrillera de la colonia Terceras, al norte de la ciudad de San Luis Potosí, 2011.

4.3 Análisis de alimentos

4.3.1 Toma de Muestras de Tortillas

Con el fin de diseñar un método para la toma de muestras para cada alimento, se aplicó un cuestionario a 30 madres de familia de la comunidad de Toco y en una visita previa (Anexo 1). De acuerdo con los resultados obtenidos en las encuestas, el maíz consumido la mitad del año es abastecido por Diconsa y la otra parte (de septiembre a febrero, aproximadamente) proviene de las milpas cercanas. Como datos adicionales, sólo unas cuantas familias son capaces de comprar maíz suficiente para abastecerse todo el año, de manera que para la mayoría, el almacenamiento del maíz es de un tiempo máximo de cinco meses.

Dado que en Toco y la leche no es producida en la comunidad, se consideró como prioridad atender las posibles variables que afectan al maíz y entonces tomar muestras de leche en las mismas fechas que las tortillas. En este caso, se propuso tomar muestras en diferentes estaciones del año para observar la influencia de los factores físicos en las condiciones de producción y almacenamiento del maíz. La programación se muestra en la Tabla 8.

Debido a que era importante para este estudio tomar en cuenta el consumo infantil, como criterio de inclusión se estableció que las familias participantes tuvieran al menos un hijo con edad entre los cinco y diez años, y que quisieran participar voluntariamente durante aproximadamente un año, ya que la intención era obtener cuatro muestras por familia. La población total en Toco y para ese grupo de edad era menor a los 170 niños para el año 2014, por lo que se pretendía abarcar cerca de la cuarta parte para este estudio.

Cada familia contestó preguntas acerca de los patrones de consumo de los niños, así como el almacenamiento y origen del maíz. En una segunda entrevista se preguntaron aspectos relacionados con la preparación de las tortillas, uso de cal, molienda y cantidad de masa preparada.

Tabla 8. Recolección de alimentos en las comunidades de Toco y E. Bocas, 2015.

Toma de muestras			
1	2	3	4
Febrero	Junio	Septiembre	Diciembre

Las tortillas consumidas en la comunidad de Toco son preparadas a mano por las mujeres de la familia. El 80% de ellas utilizan sólo maíz, mientras que el resto usa harina de maíz en alguna proporción. La preparación se realiza mediante el método tradicional del nixtamal. La mayoría de las mujeres preparan la masa diariamente o cada tercer día, ya que es difícil almacenar la masa por más tiempo debido a que no cuentan con refrigeradores, además de que el sabor y la consistencia de las tortillas cambian y esto se considera indeseable. Como se explica en la sección anterior, el maíz proviene de Diconsa y de milpas cercanas a la comunidad. El 95% de las familias almacenan el maíz en el hogar, en los tapancos y en menor proporción en costales sobre todo cuando el maíz ya está desgranado, como puede observarse en el Anexo 2.

En contraste con la zona rural de Toco, en la comunidad de Bocas existen tortillerías en las que utilizan harina de maíz de alguna marca comercial como parte de la formulación. Se cuenta por lo tanto con familias que preparan sus propias tortillas, pero también a familias que consumen tortillas comerciales. Este escenario nos brindó la oportunidad de hacer una comparación con

Tocoy en cuanto al proceso de preparación. Las particularidades referentes a los proveedores de maíz en E. Bocas se muestran en el Anexo 3.

Para medir el rendimiento del método, se preparó un pool de tortillas recolectadas en diferentes lugares, incluyendo mercados locales, tortillerías y supermercados de la ciudad de San Luis Potosí. Un total de cuatro kilogramos de tortillas fueron secados en horno convencional a 60 °C, para posteriormente molerlas en una licuadora. Esta mezcla fue analizada cuatro veces para cuantificar aflatoxinas y evitar la sobreestimación. En cada una de las mediciones, solamente la AFB₁ fue detectable; el valor promedio fue restado de los valores obtenidos en los análisis posteriores.

Para el análisis de aflatoxinas se calculó un mínimo de 10 g de tortilla seca, por lo que se solicitaron dos tortillas a cada madre de familia participante.

Las muestras de tortillas de los sitios de estudio se conservaron en bolsas de plástico en refrigeración por un día y posteriormente se congelaron a -20 °C hasta el momento del análisis. Para iniciar el análisis, las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente en campana de extracción y enseguida se secaron en horno convencional a 60 °C por 12 horas para después molerlas en licuadora hasta pulverizar las tortillas. El polvo obtenido se mantuvo en el horno por 2 horas, previo al pesado, etiquetado y almacenamiento. De cada muestra, se pesaron aproximadamente 2.0 g, anotando el peso exacto para cada una.

4.3.2 Análisis cuantitativo de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 en tortilla

El método analítico utilizado en este trabajo proviene de una adecuación de un método oficial de la AOAC, descrito por Trucksess *et al.*, 1994, en el que se realiza una extracción de las aflatoxinas de las tres diferentes matrices, seguidas de una separación selectiva mediante una columna de inmovilización y posteriormente la medición de la concentración por cromatografía de líquidos con detección de fluorescencia (Trucksess, Stack, & Nesheim, 1994). Las modificaciones de este trabajo se centraron en la disminución del volumen del solvente de extracción, y por lo tanto de la cantidad de muestra, para lo cual se hicieron pruebas conservando la proporción entre matriz y solvente reportada en el método referenciado, hasta lograr una reducción aproximada de 10 veces. La validación del método se realizó entonces como se describe a continuación.

La curva de calibración y las pruebas de recuperación del método fueron realizadas con el *pool* homogéneo de las muestras de tortillas, pesando 2.5 g de esta mezcla y posteriormente adicionada con diferentes volúmenes de solución estándar de aflatoxinas, por triplicado, para obtener una curva de calibración con las siguientes concentraciones: 1.5, 3.0, 6.0, 12.0 y 15.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, además de un blanco. Se prepararon otras tres curvas en diferente día para tener un total de seis curvas para calcular el límite de cuantificación (LDC). En paralelo, se preparó una curva por triplicado con niveles más bajos para calcular el límite de detección. Las concentraciones incluidas fueron: 0.6, 0.9, 1.5 y 3.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Para evaluar el porcentaje de recuperación de la columna, se preparó un blanco de solvente adicionado con una concentración de 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂. El porcentaje de recuperación resultante fue del 92%, concordando con el valor reportado por el fabricante (Romer Labs®).

4.3.2.1 Extracción

De la muestra seca, se pesaron 2.5 g a los cuales se agregaron 8 mL del solvente de extracción, preparado con acetonitrilo y agua desionizada (85:15). Se agitó en vórtex durante un minuto, previo a la agitación en el oscilador por 60 minutos. Se separó enseguida el solvente en un tubo de plástico de 15 mL, descartando el decantado después de un segundo enjuague con 3 mL del solvente de extracción. Posteriormente se evaporó con flujo suave de Nitrógeno a 45 °C, hasta un volumen aproximado a los 2 mL.

4.3.2.2 Purificación

A continuación, en un tubo de 50 mL se agregó el extracto y solución de buffer PBS 0.1 M hasta los 40 mL con el fin de diluir el acetonitrilo a menos del 1% del total. Para la purificación de las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ se utilizaron columnas de inmunoafinidad AflaStar® R (Romer Labs®). El contenido del tubo se pasó a través de esta columna a un flujo no mayor de 2 mL/ min. Después, se enjuagó la columna con dos volúmenes de 10 mL de agua desionizada y se eliminó el exceso de agua mediante centrifugación a 1500 rpm. Enseguida se procedió con la elución, usando tres volúmenes de 1 mL de metanol grado HPLC para obtener 3 mL de extracto concentrado. Se llevó a continuación este extracto a evaporación a 45°C con flujo suave de Nitrógeno hasta tener un volumen aproximado de 500 µL.

4.3.2.3 Cuantificación

Finalmente, este volumen fue aforado en un matraz de aforación de 1000 µL, con fase móvil (Agua y Metanol 65:35) y posteriormente se filtró con membrana Millipore® de 0.45 µm en un

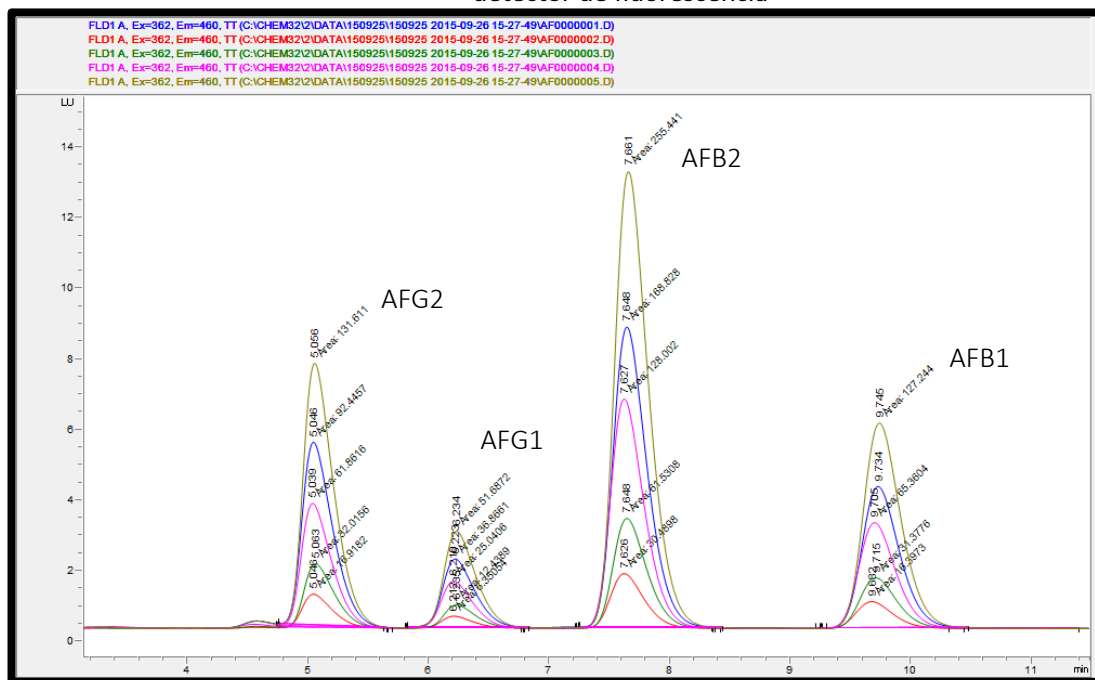
vial ámbar silanizado. Se inyectaron 30 μ L en el Cromatógrafo de Líquidos Agilent 1260 Infinity LC System, acoplado a un detector de fluorescencia, con una columna cromatográfica a C18 Poroshell 120 (4.6 x 50 mm, 2.7 μ m). La fase móvil consistió en Agua/Metanol (65:35) con un flujo de 0.8 mL/min. La temperatura de la columna fue de 40 °C y el volumen de inyección fue de 30 μ L. Se conectó un módulo de fotoderivatización entre la columna y el detector, UVE Post column UV derivatization module, (de LCTech®). El tiempo del análisis fue de 11 min. Las condiciones de operación se mencionan en la Tabla 9.

Se utilizó para los análisis un módulo de derivatización UV post-columna LCTech® (Post column UV derivatization module), conectado entre la columna cromatográfica y el detector de fluorescencia. Bajo estas condiciones, el orden de elución fue el siguiente: AFG₂, AFG₁, AFB₂, AFB₁ (Figura 4).

Tabla 9. Parámetros de operación en análisis HPLC-FLD para aflatoxinas B y G.

Longitud de onda de excitación (λ_{ex})	362 nm
Longitud de onda de emisión (λ_{em})	440 nm y 460 nm
Fase móvil	Agua/ Metanol (65:35)
Flujo	0.8 mL/ minuto
Temperatura	40 °C
Tiempo de corrida	11 minutos
Columna cromatográfica	C18 Poroshell 120 (4.6 x 50 mm, 2.7 μ m)

Figura 4. Cromatograma de la curva de calibración de aflatoxinas B y G en pool de tortillas. HPLC con detector de fluorescencia



4.3.3 Análisis cuantitativo de Aflatoxina M1 en leche y producto lácteo

A diferencia de las tortillas, la toma de muestras se realizó considerando la marca y el lote. Por tratarse de comunidades pequeñas, se preguntó a la gente a través de los cuestionarios dónde hacían sus compras y obtuvimos las muestras directamente de ahí. Se compraron las marcas indicadas por duplicado.

De acuerdo con esta información, la totalidad de las familias de Tocoj consume leche de marca comercial, siendo la marca Nutrileche® la más comprada, encontrando Mi Leche® y Vail® en algunas tiendas. La última marca mencionada no se encontró en todas las visitas. Cabe aclarar que estos productos se venden bajo la denominación de *producto lácteo*, en presentación de Tetra Pack®. Ninguna de las mujeres encuestadas refirió tener acceso a leche directamente de

una vaca y su consumo queda limitado a los niños del hogar. Debido a que no poseen refrigerador, la leche es consumida antes de dos días, con una periodicidad promedio de una vez por semana. No obstante, los niños reciben leche en los desayunos escolares, pero no todos tienen acceso a estos desayunos y tampoco todos los días puesto que, confirmando la información con el personal administrativo de la escuela, pasan a veces semanas sin recibir los paquetes con los productos. Lo usual es el abasto para dos semanas del mes.

Para la zona periurbana de E. Bocas, las marcas más consumidas referidas fueron Nutrileche® y Liconsa®, pero en contraste con Toco, la comunidad cuenta con producción de leche fresca a nivel doméstico, razón por la cual se incluyeron estas muestras para el análisis cuando los padres nos las hicieron llegar.

En este caso, la escuela primaria en la cual se trabajó, mencionó que la idea original era convertirla en escuela de tiempo completo, por lo que se ofrecían desayunos a los niños. Sin embargo, no era obligatorio cubrir a toda la población estudiantil y sólo algunos niños recibían los desayunos, en el momento del estudio.

Por otra parte y para complementar el estudio, se buscaron productores locales de leche del municipio de San Luis Potosí, con el objetivo de conocer las variables que no se conocen en el caso de las marcas de leche comerciales. Para esto, se eligieron tres productores con instalaciones y formas de operación diferentes, de manera que pudieran contrastarse los resultados con estas condiciones. A cada productor se le realizó una entrevista para obtener datos sobre la producción, a través de un cuestionario que se muestra en el Anexo 4. Se incluye

además en el Anexo 5 una ficha técnica del alimento comercial que los productores utilizan para complementar la alimentación del ganado.

4.3.3.1 Purificación

Para analizar las muestras líquidas obtenidas en los sitios de estudios, se tomaron 100 mL de cada una y se conservaron a -20 °C hasta el momento del análisis. Las muestras de leche en polvo fueron reconstituidas según las instrucciones del empaque, momento antes de su análisis. En ambos casos, las muestras fueron atemperadas a 30 °C para ser filtradas con membrana Whatman No. 1. Enseguida, 20 mL del filtrado fueron diluidos a 50 mL y este volumen fue vertido en las columnas de inmunoafinidad Aflastar® M1. Después de pasar la totalidad de la muestra, se enjuagaron las columnas con dos volúmenes de 10 mL de agua desionizada y a continuación se eluyeron con Metanol grado HPLC. El extracto obtenido se llevó a sequedad en un evaporador con flujo de Nitrógeno, en baño de 45 °C.

4.3.3.2 Cuantificación

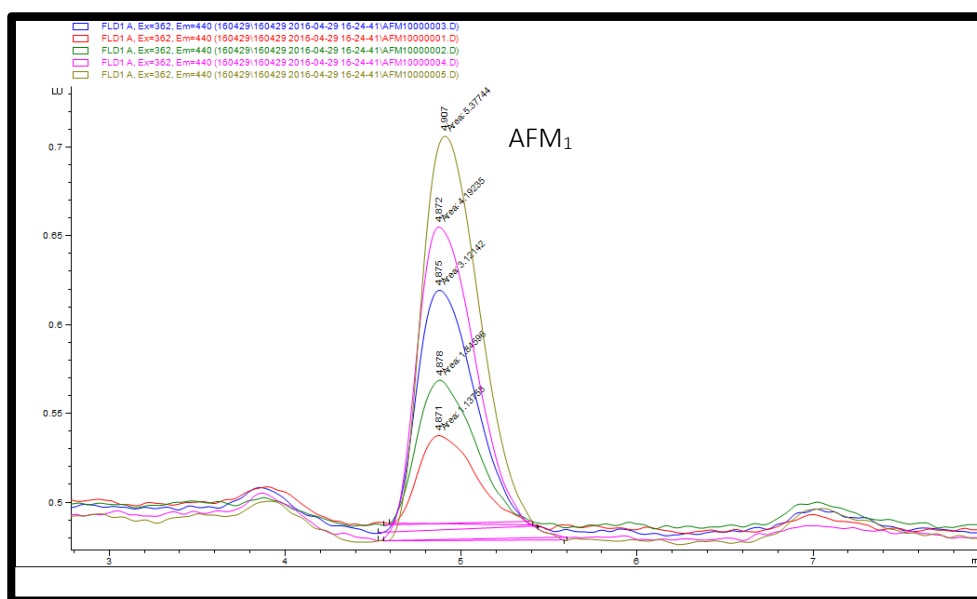
Una vez evaporado en su totalidad, se procedió a reconstituir con 1 mL de fase móvil (Agua/ Metanol 65:35). Se agitó en vórtex para finalmente filtrar con membrana Millipore® de 0.45 µm y verter el filtrado en viales silanizados ámbar. Se inyectaron 30 µL en el Cromatógrafo de Líquidos Agilent 1260, con los cambios en las condiciones de operación que se mencionan en la Tabla 10.

Bajo estas condiciones, el tiempo de retención de la AFM₁ fue de 4.87 minutos, como se observa en el cromatograma de la Figura 5. En el Anexo 6 se incluyen cromatogramas de una muestra de leche y del Estándar certificado en alimento para aflatoxinas B y G.

Tabla 10. Parámetros de operación en análisis HPLC-FLD para aflatoxina M1.

Longitud de onda de excitación (λ_{ex})	362 nm
Longitud de onda de emisión (λ_{em})	460 nm
Fase móvil	Agua/ Metanol (65:35)
Flujo	0.8 mL/ minuto
Temperatura	40 °C
Tiempo de corrida	8 minutos
Columna cromatográfica	C18 Poroshell 120 (4.6 x 50 mm, 2.7 μ m)

Figura 5. Cromatograma de la curva de calibración de la AFM1 en leche. HPLC con detector de fluorescencia.



4.4 Entrega de Resultados

Los análisis de laboratorio fueron realizados durante el 2016, por lo que se entregaron resultados en abril de 2017 en la comunidad de Tocoy, y en julio en Estación Bocas. En ambos sitios se citó a las familias participantes a una reunión para explicar el contenido del reporte y aclarar el propósito del estudio, así como los hallazgos importantes para la comunidad.

Complementaria a esta reunión, se celebró en Tocoay otra junta en la que se explicaron algunas de las posibles causas de la contaminación, factores que influyen directa e indirectamente en la infección del hongo, buenas prácticas y prácticas a evitar para asegurar la inocuidad. Se obtuvieron opiniones tanto de hombres como de mujeres, así como ideas para mejorar las condiciones de almacenamiento actuales.

4.5 Estimación de la Ingesta de contaminantes por la dieta

Con los resultados obtenidos del análisis de las muestras en el laboratorio, se calculó la ingesta diaria promedio a través de la fórmula:

$$\text{Ingesta AFs diaria} = \frac{\text{ng de aflatoxinas por g de tortilla} \times \text{g de tortilla ingeridos al día}}{\text{kg peso corporal}}$$

Para este cálculo, se tomó en cuenta la cantidad total de aflatoxinas encontradas en tortillas (B1+B2+G1+G2), y enseguida se obtuvo un promedio de aflatoxinas totales de los cuatro periodos, por individuo, que después se multiplicó por el consumo individual de tortillas al día, referidos en las encuestas. Para las madres de familia se tomó un peso de 60 kg, dadas las variaciones de las madres de familia.

Para establecer un punto de comparación, se tomaron cuenta los valores de IDT. Los valores permitidos de aflatoxinas en alimentos reportados como IDT para la AFB₁ es de 0.11 ng/kg pc/día. El IDT para la AFM₁ fue propuesto a partir de dividir el valor de TD50 de la AFM₁ por el

factor de seguridad 5000, obteniendo un valor de 2 ng/kg p.c./día, el cual es mayor que el propuesto para la AFB₁, aproximadamente 20 veces (Gimeno & Martins, 2003).

Debido a que un modelo probabilístico permite tomar en cuenta la variabilidad de los datos y ponderar las probabilidades de ocurrencia, se calculó también mediante un análisis Monte-Carlo con el software Crystal Ball®. Se obtuvo esta estimación tomando en cuenta la distribución de los datos de concentración, así como gráficos para los cuatro períodos de toma de muestras, los cuales se representan como M1, M2, M3 y M4, para madres y para niños de los dos sitios de estudio. Para el sitio E. Bocas, solamente se realizó la simulación para los tres primeros períodos. Estas probabilidades fueron comparadas contra el IDT propuesto.

Adicional a esta simulación, se realizó otra con cada una de las muestras analizadas, sin agruparlas por periodos. En este caso, se obtuvo el dato de la probabilidad de exceder el IDT de la AFB₁, tanto de AFB₁ como de las AFs Totales en tortillas.

Para realizar el cálculo en leche, se tomaron en cuenta los datos de las concentraciones promedio de AFM₁, así como el consumo promedio en cada comunidad. Así mismo, se calculó con el consumo mínimo y máximo para estimar el riesgo menor y mayor.

La mezcla de AFs se considera carcinógeno, pero la AFM₁ no se considera como tal, razón por la cual las estimaciones fueron para tortilla y para leche de manera separada y no se sumaron.

4.6 Estimación del Riesgo

Considerando la información provista por la Comisión del Codex Alimentarius, la evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos consta de cuatro etapas (FAO, 2007).

1. Determinación del peligro
2. Evaluación de la dosis-respuesta
3. Evaluación de la exposición
 - 3.1 Caracterización de la exposición
 - 3.2 Identificación de las rutas de exposición
 - 3.3 Cuantificación de la exposición
4. Caracterización del riesgo

Dado que, tanto la determinación del peligro como la evaluación de la dosis-respuesta ya existen para las aflatoxinas, este trabajo se situó en la tercera etapa, para estimar la intensidad, frecuencia y duración de la exposición a las aflatoxinas en el medio, y finalmente llegar a la cuarta etapa de caracterización del riesgo por consumo de tortillas.

Para esta última etapa, se consultaron dos metodologías. En la primera, reportada por la IARC en 2012 (IARC, 2012), se establece una diferencia clara entre el riesgo *no cancerígeno* y *cancerígeno* para micotoxinas, por lo que nos centramos en este último. El riesgo cancerígeno es un valor de probabilidad de que un individuo desarrolle cáncer hepático como resultado de la exposición a aflatoxinas, y se toman en cuenta los años de exposición.

En la segunda metodología, descrita por el Codex Alimentarius y la National Academy of Science (NAS), se obtiene como valor final la estimación del número de casos de cáncer debidos al

consumo de aflatoxinas, sin tomar en cuenta los años de exposición pero calculando el factor de potencia de la población estudiada.

Para el análisis, se consideró una biodisponibilidad del 100%. Como primer paso en ambas metodologías, se estimó la ingesta diaria en ng de AFs totales consumidos por día, para madres y se dividió entre el peso corporal usado en adultos, de 60 kg.

$$\text{Ingesta diaria por persona} = \frac{\text{ng AFs al día}}{\text{kg peso corporal}}$$

De acuerdo con la metodología de la IARC, a partir de este dato se estima entonces la dosis diaria promedio de por vida (DDPV), con el dato promedio de esperanza de vida, que en este caso es de 75 años para México, además del dato de la duración de la exposición en número de años que un individuo está expuesto al carcinógeno. Si consideramos que la ingesta de tortillas comienza a temprana edad (2 años aproximadamente) y permanece durante toda la vida en la población mexicana, entonces resulta poco útil usar el mismo número, de manera que se eliminó esta operación y se supuso que la duración de la exposición es de 75 años.

Con el valor de ingesta diaria promedio de por vida, se calculó enseguida el riesgo carcinógeno, con la siguiente fórmula:

$$\text{Riesgo} = \text{DDPV} * \text{Factor de potencia}$$

Donde el factor de potencia se obtiene de la pendiente de la curva dosis-respuesta de las aflatoxinas, que en este caso es 0.3 de casos al año (por 100,000 habitantes, por ng AFs/kg

p.c./día) cuando se presenta el antígeno de superficie del virus de la Hepatitis B (HBsAg+), y de 0.01 cuando no hay infección (HBsAg-).

Después, para estimar el número de casos de cáncer hepático asociados a consumo de aflatoxinas, se calculó primero la potencia estimada de la población, se multiplicó el factor de potencia (FP) con el HBsAg+ por el % de prevalencia de población con HBsAg+, sumando el producto del FP con HBsAg- por el % de prevalencia de población con HBsAg-

$$\text{Potencia de la población} = (\text{FP HBsAg+}) (\% \text{ Prev VHB}) + (\text{FP HBsAg-}) (\% \text{ Prev no VHB})$$

Con los datos anteriores se procedió a calcular la tasa de cáncer debida a las aflatoxinas, a través de la siguiente fórmula:

$$\text{Tasa de Cáncer por AFs} = \text{Potencia de la población} * \text{Ingesta diaria por persona ng/kg p.c.}$$

Para este estudio no se calculó la potencia de la población, sino que se utilizó el dato de potencia para población que no presenta seroprevalencia del VHB (HBsAg-), quedando el valor de 0.01 casos por ng AFs/kg p.c./día, por 100,000 habitantes. De acuerdo con lo estimado por Center for Disease Analysis, en 2016, la prevalencia del VHB en México es de 0.1 % (Analysis, 2016).

Para el riesgo cancerígeno se toma como referente el estándar de arsénico en agua, establecido por la EPA, de 10 µg As/L. Calculando el riesgo de cáncer por la ingesta de agua, se determinó un riesgo de 1 caso en 10,000 (U.S. EPA, 2006). De este modo, consideramos en este estudio un valor límite de riesgo de $1E^{-4}$ para comparar con los resultados de las estimaciones.

5 RESULTADOS

Los análisis de tortillas se llevaron a cabo como se describe en la metodología, pero además se obtuvo más información sobre prácticas, consumo, así como datos sobre el origen y almacenamiento del maíz a partir de los cuestionarios aplicados. En el Anexo 7 se incluye el procedimiento para la preparación de la masa para tortillas. Se obtuvieron datos y videos de los procedimientos de la preparación de tortillas de varias señoras de la comunidad, con lo cual se pudieron contrastar las condiciones en la preparación y se obtuvieron variables de la misma.

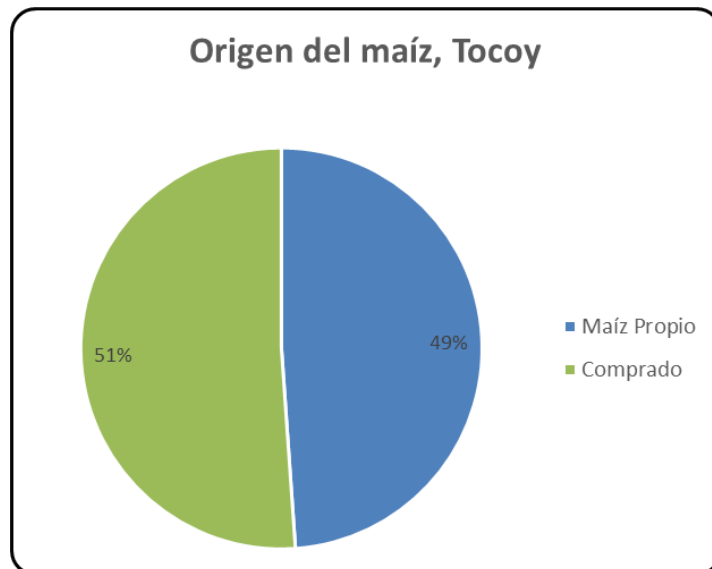
5.1 Cuestionarios

Como puede observarse en la

Figura 6, la mitad de la población de Toco y tiene acceso a maíz de cosecha propia, además del maíz que se vende en las tiendas de la comunidad. Cabe mencionar que esta proporción se cumple en periodo de cosecha, que normalmente ocurre entre septiembre y noviembre. De acuerdo con la información proporcionada, la cantidad de maíz cosechada determina el tiempo de almacenamiento, por lo que el tiempo máximo fue de 5 meses.

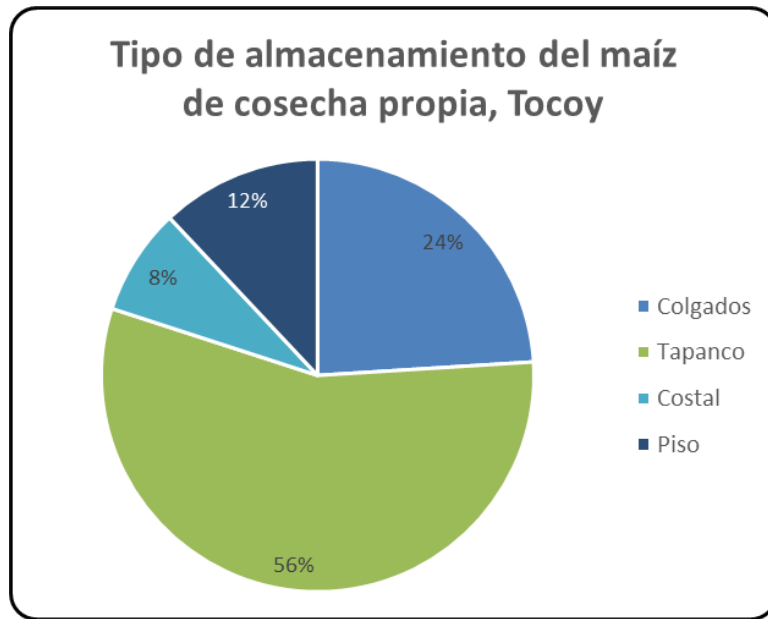
En lo que respecta a los datos de almacenamiento, es importante mencionar que se hizo la distinción entre los dos tipos de maíz que se utilizan: el maíz en grano comprado en las tiendas locales, y el maíz de la cosecha propia.

Figura 6. Origen del maíz utilizado para la preparación de tortillas en Tocooy.



En la Figura 7, puede observarse que la mayoría de las familias almacenan el maíz cosechado en tapancos (en mazorca), seguido por aquellas familias que prefieren conservarlo colgado, generalmente cerca del fogón. También es común observar maíz en el suelo para favorecer el secado, y en este caso, el riesgo de contaminación es mayor.

Figura 7. Tipo de almacenamiento del maíz de cosecha propia, Tocoy.

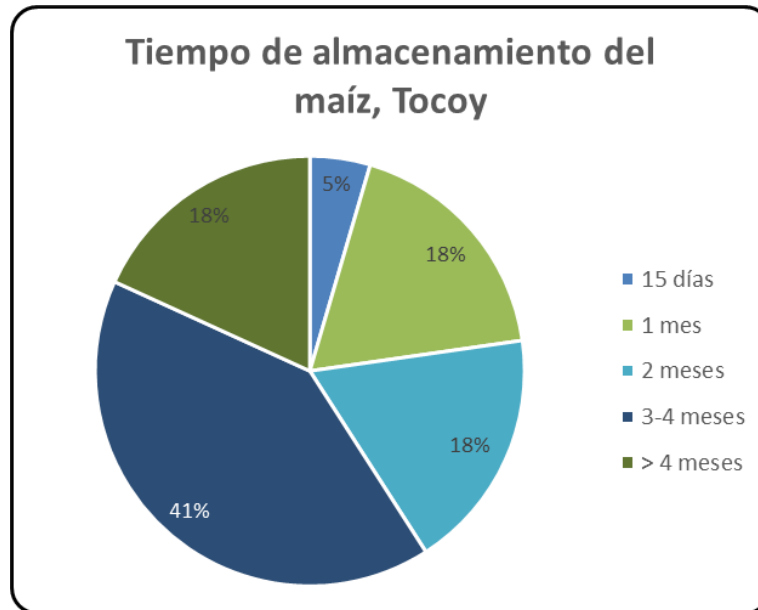


En cuanto al tiempo máximo que almacenen el maíz en la comunidad de Tocoy, predomina la categoría de 3 a 4 meses después de la cosecha, como se indica en la

Figura 8. Este tiempo es directamente proporcional al volumen de la cosecha, por lo que, a mayor volumen, mayor tiempo guardarán el maíz porque les durará más el producto. Para el año 2015, los encuestados refirieron que la cosecha de finales del 2014 la guardaron 4 meses en promedio, pero que en otras ocasiones ha variado.

Para el resto de año y para las familias que no se abastecen de cosecha propia, el maíz se obtiene de Diconsa y de algunas tiendas. Este maíz ya viene seco y en grano. En Diconsa venden los costales de 50 kg y también menores cantidades.

Figura 8. Tiempo de almacenamiento del maíz, Tocoy.



Al momento del estudio, sólo había dos tiendas más en las que la gente surtía el maíz y donde también podían comprar por kg la cantidad deseada. Esta última opción es común para las familias que no contaban con dinero suficiente para pagar un costal de 50 kg. En la Figura 9 se observa que el tiempo máximo de almacenamiento para este tipo de maíz es de 15 días, con casi el 50% de los encuestados, seguido por 7 días.

Para los datos de consumo, se obtuvieron las siguientes gráficas. Las mitad de las madres encuestadas refirieron consumir entre 6 y 9 tortilla diarias, pero un porcentaje casi igual consume entre 10 y 13 piezas.

Figura 9. Tiempo de almacenamiento de granos de maíz de tienda, Toco.

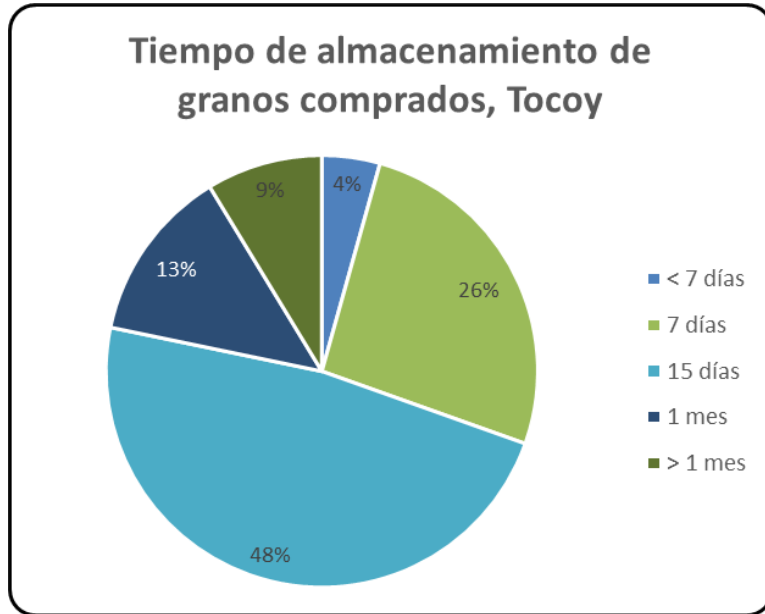


Figura 10. Número de tortillas consumidas por madres de familia de Tocoy.

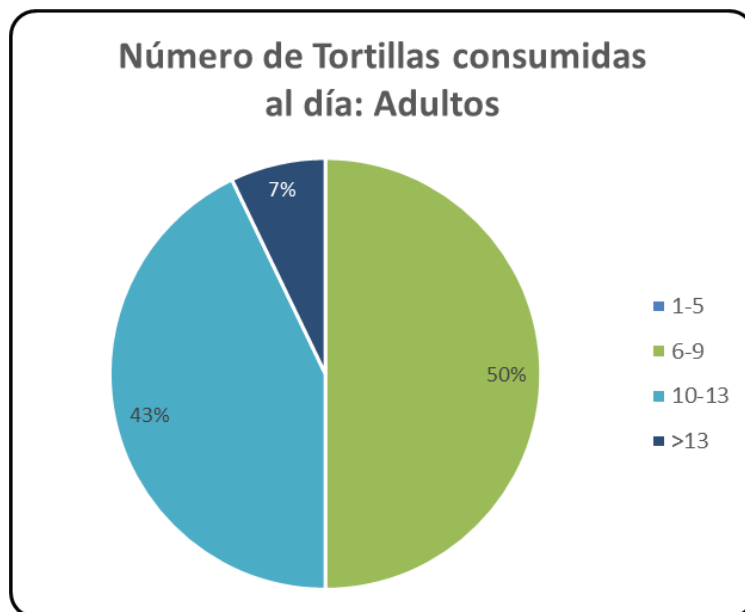
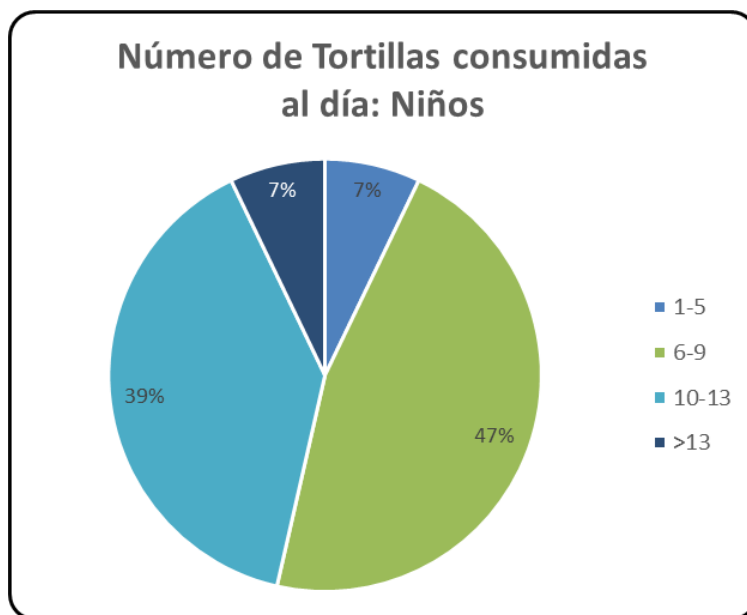


Figura 11. Número de tortillas consumidas al día por niños de Tocooy

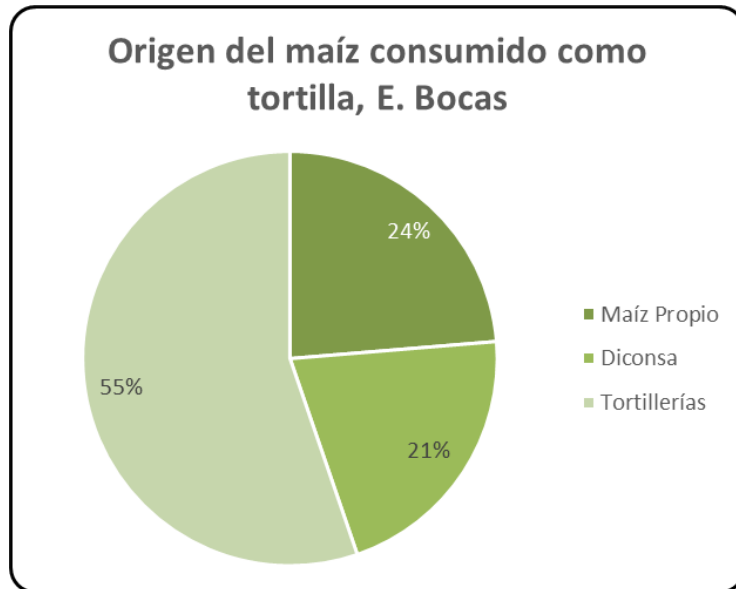


El mismo cuestionario fue aplicado para las familias participantes de E. Bocas, obteniendo resultados en su mayor parte diferentes a los de Tocooy, como se había previsto al inicio. Aún y cuando esta comunidad tiene poco habitantes y no es considerada urbana, la mayoría de las personas encuestadas no preparan sus tortillas en casa, sino que las obtienen en la tortillería, como se observa en la Figura 12

. Debe mencionarse que la elaboración de tortillas de manera artesanal es una práctica común en las mujeres de la comunidad, sin embargo, no se lleva a cabo diariamente.

De este grupo que acude a la tortillería, se distinguieron a su vez 3 grupos, debido a que eran 3 las tortillerías disponibles al momento de realizar el estudio.

Figura 12. Origen del maíz utilizado para la elaboración de tortillas en E. Bocas.



Dado que eran pocas las madres de familia que elaboraban personalmente las tortillas, no se incluyen en esta sección gráficos como los que se presentaron para la información de Toco y.

A pesar de que el mayor porcentaje de consumo diario coincide con lo reportado en Toco y tanto para madres como para niños, la diferencia radica en la máxima cantidad consumida, observando que en E. Bocas se presentó un consumo mayor al de 17 tortillas en un 23% de las madres encuestadas (

Figura 13 y Figura 14).

Figura 13. Número de tortillas consumidas al día por las madres de familia en E. Bocas.

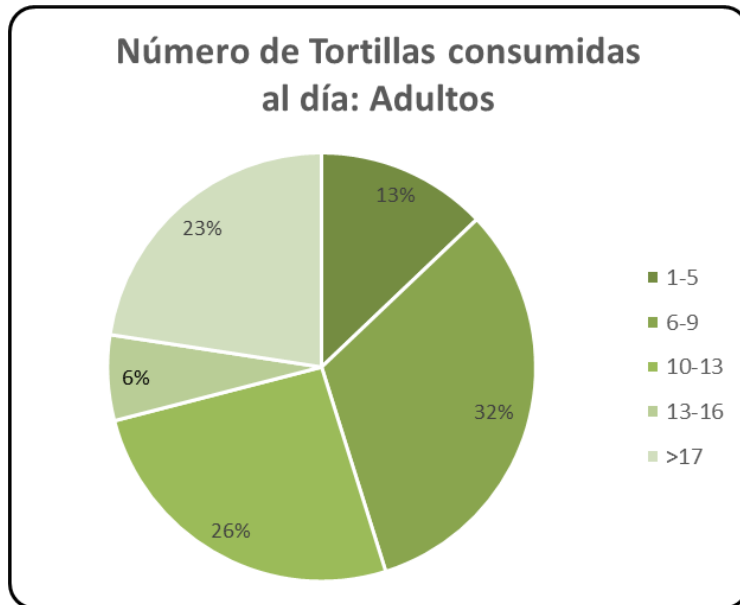


Figura 14. Número de tortillas consumidas al día por niños de E. Bocas.

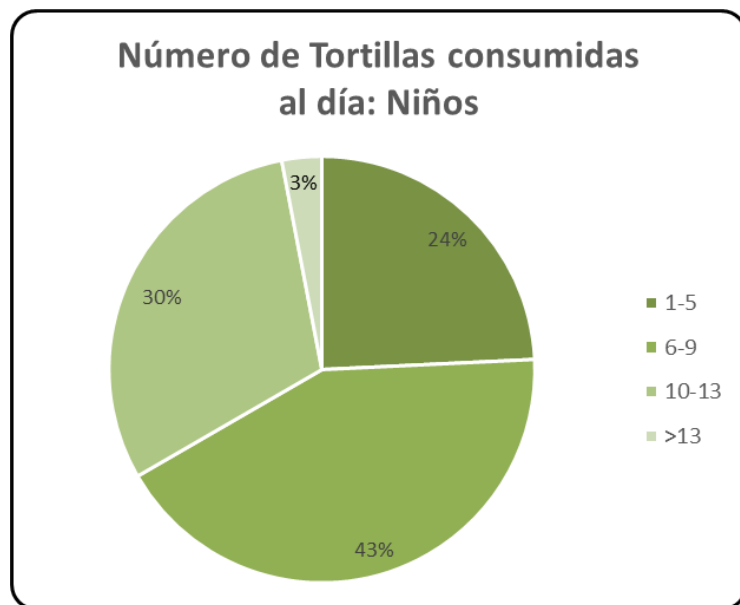


Figura 15. Marcas de leche consumida en E. Bocas.

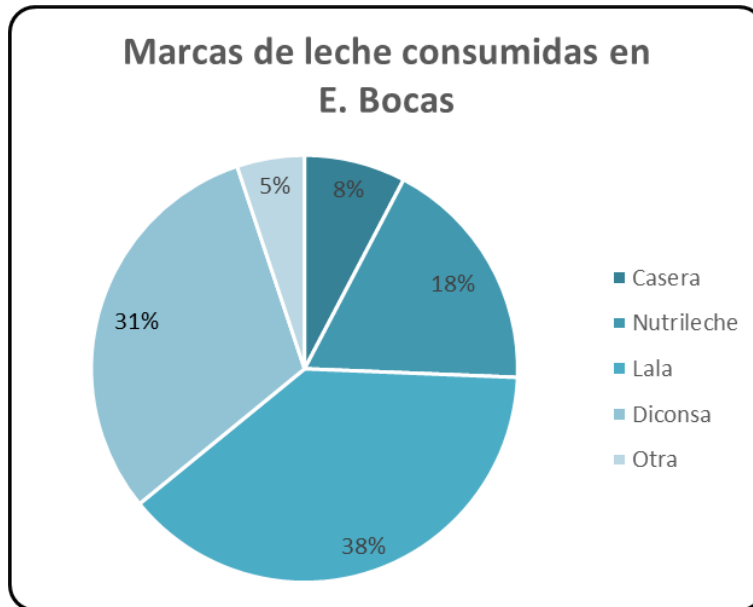
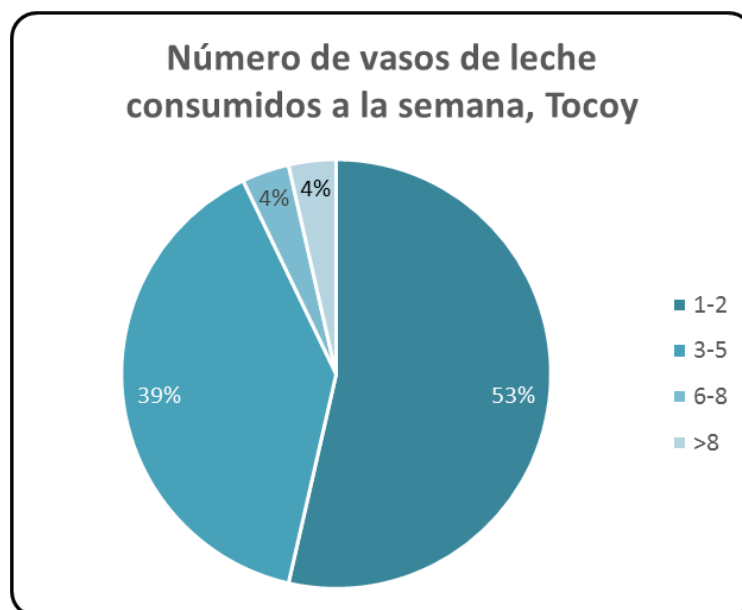


Figura 16. Consumo semanal de leche, niños de Tocoy.



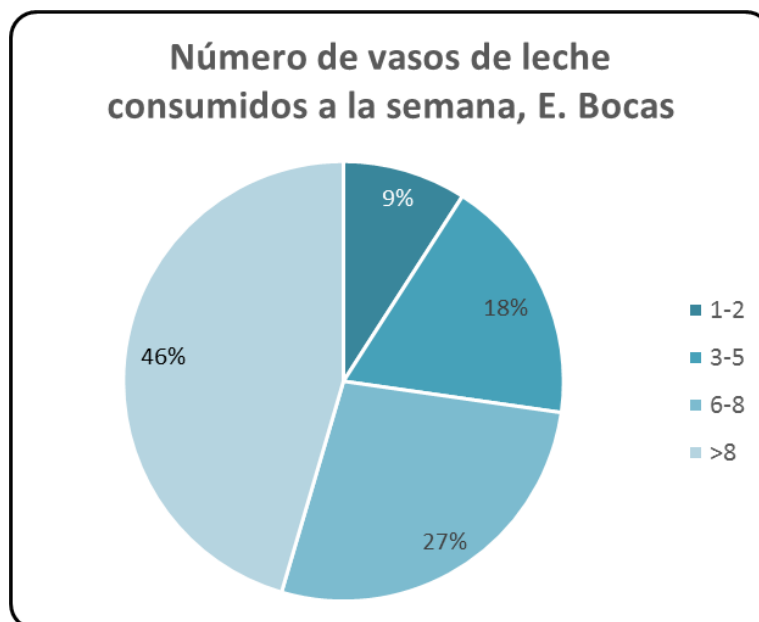
Referente al consumo de leche, se tomó como medida el número de vasos a la semana, para facilitar a las madres la respuesta. En Tocoy se encontró que los niños consumen menos de un litro a la semana, con muy pocas excepciones. Más del 50% sólo consumen de 1 a 2 vasos. Este consumo podía ser mayor en caso de haber leche disponible para los desayunos escolares, que no estaban disponibles para toda la población escolar y se repartían a los niños de primero y

segundo grado, por lo general solamente 2 semanas al mes. Es importante puntualizar que técnicamente y por definición, no consumían leche sino *producto lácteo*.

En E. Bocas, a diferencia de Tocoy, se encontró más variedad de leche y productos lácteos en E. Bocas. Se distinguieron tres familias que cuentan con ganado lechero, aunque la mayoría de los encuestados consumen leche Lala y Liconsa (Figura 15).

Una de las variaciones entre las dos comunidades fue el consumo de leche. Mientras que en Tocoy no se consume ni un litro de leche a la semana, cerca de la mitad de los niños en E. Bocas consumen dos o más litros a la semana.

Figura 17. Consumo semanal de leche, niños de E. Bocas.



5.2 Análisis de Tortillas

Como resultado de la validación del método, se obtuvieron los datos contenidos en la Tabla 11. En esta tabla se reportan los porcentajes de recuperación. Los límites de detección (LDD) y cuantificación (LDC) fueron calculados a partir de los datos obtenidos de nueve curvas de calibración. Las concentraciones fueron calculadas con un límite de confianza del 95%. El resultado de exactitud fue calculado a partir del estándar de referencia ERM® (Certified Reference Material), con un 101% de AFB₁, 98% de AFB₂ y 127% de AFG₁. Se encontraron más de una aflatoxina en 61% de las muestras analizadas de Toco y, incluyendo las muestras de uno o varios periodos de toma de muestras. La mayor parte de los valores obtenidos para la AFB₂ resultaron por debajo del LDD o incluso no detectables, por lo que el análisis estadístico se realizó solamente para los datos de la AFB₁.

Tabla 11. Resultados del desempeño del método para determinación de aflatoxinas B y G en tortillas.

Aflatoxina	LDD (µg/ kg)	LDC (µg/ kg)	R	% CV	No. Réplicas	% Recuperación ¹
AFB ₁	0.102	0.186	0.999	5.13	9	98.41
AFB ₂	0.009	0.017	0.999	4.54	9	89.3
AFG ₁	0.098	0.187	0.997	4.70	9	89.7
AFG ₂	0.017	0.034	0.999	4.14	9	95.32

LDD= Límite de Detección; LDC= Límite de Cuantificación. R=Correlación. CV=Coefficiente de variación.

¹Calculado a partir de la adición de aflatoxinas en concentración de 1.5 ppb.

De los análisis individuales de las muestras, se obtuvieron los resultados descritos en la Tabla 12, donde se muestra que el 61% de las muestras de Toco y 27% de las de E. Bocas tuvieron concentraciones por arriba de LDC. El porcentaje más alto de muestras por encima del LDC y de la regulación de la UE fueron las muestras del periodo de diciembre. Sin embargo, la concentración más alta de AFB₁ se encontró en el periodo de septiembre. En E. Bocas, la

concentración más alta perteneció al primero periodo de toma de muestras, en febrero. Tabla 12.

En la Tabla 13 se presentan los resultados de las concentraciones de AFB₂ en muestras de Toco. Sólo un bajo número de muestras pudieron ser cuantificadas comparadas con las obtenidas para AFB₁, con excepción de las muestras del periodo de diciembre.

Tabla 12. Estadística descriptiva de AFB₁ en las muestras de tortillas.

Sitio	n	Mediana µg/ kg	Máx µg/ kg	>LDD %	>LDC %	% > NMP México	% > NMP UE
Toco	123	0.172	287.230	81	61	9	14
P1	18	0.051	1.391	50	20	0	0
P2	31	0.051	9.567	53	29	0	3
P3	28	0.069	287.230	61	39	13	19
P4	36	1.707	255.545	92	89	18	26
E. Bocas	48	0.008	19.019	54	27	3	8
P1	27	0.051	19.019	48	23	6	10
P2	9	0.051	0.433	58	17	0	0
P3	6	0.293	15.173	80	80	20	20

P1= Febrero; P2= Junio; P3= Septiembre; P4= Diciembre-Enero. >LDD= Supera el límite de detección; >LDC= Supera el límite de cuantificación; NMP= Nivel máximo permitido. Nivel máximo permitido en México para AFs totales: 12 µg/ kg (NOM-187-SSA1/SCFI-2002). Regulación de la Unión Europea (CE) No 1881/2006: 5 µg/ kg de AFB₁.

La dispersión de los datos fue calculada mediante la prueba de Shapiro-Wilk, con la que se pudo confirmar que los datos tienen una distribución no normal. Enseguida, la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis fue aplicada a los datos y se obtuvo una diferencia significativa entre las concentraciones de los dos sitios analizados (p=0.0054). La prueba también se aplicó a los datos agrupados por periodo de toma de muestra, obteniendo como resultado que hay diferencia

estadísticamente significativa sólo en las en las muestras de diciembre, aunque se observan concentraciones altas también en el periodo de septiembre, como se muestra en la Figura 18.

Para la AFB₂, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en ambos sitios. Sin embargo se muestra una dispersión marcada sobre todo en los meses de Septiembre y Diciembre (Figura 19).

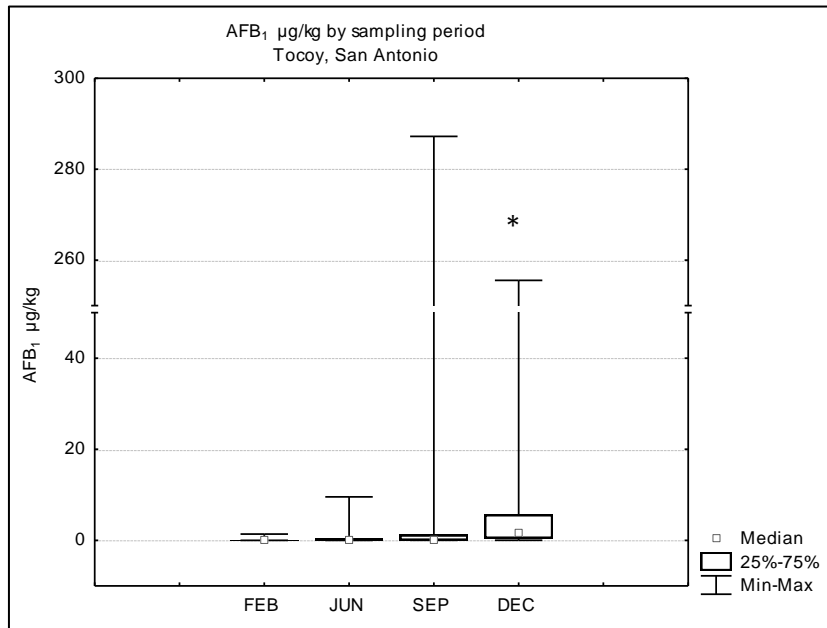
Se realizó otro análisis Kruskal-Wallis con los datos del origen del maíz en Tocooy, ya que el 50% de las familias cosecharon maíz y el resto lo compraron en tiendas locales. Los resultados de la prueba no mostraron diferencia estadísticamente significativa, lo cual nos hizo enfocarnos más en la influencia de las condiciones físicas sobre la proliferación del hongo y la producción de la toxina.

Tabla 13. Estadística descriptiva de AFB₂ en las muestras de tortillas.

Sitio	n	Mediana µg/ kg	Máx µg/ kg	>LDD %	>LDC %
Tocooy	123	0.004	30.700	29	28
P1	9	0.004	0.122	5	5
P2	19	0.004	0.536	17.6	18
P3	20	0.004	16.911	19.3	19
P4	36	0.149	30.700	60	58
E. Bocas	48	0.503	0.927	10	10
P1	11	0.503	0.927	13	13
P2	5	0.004	0.004	0	0
P3	5	0.004	1.068	20	20

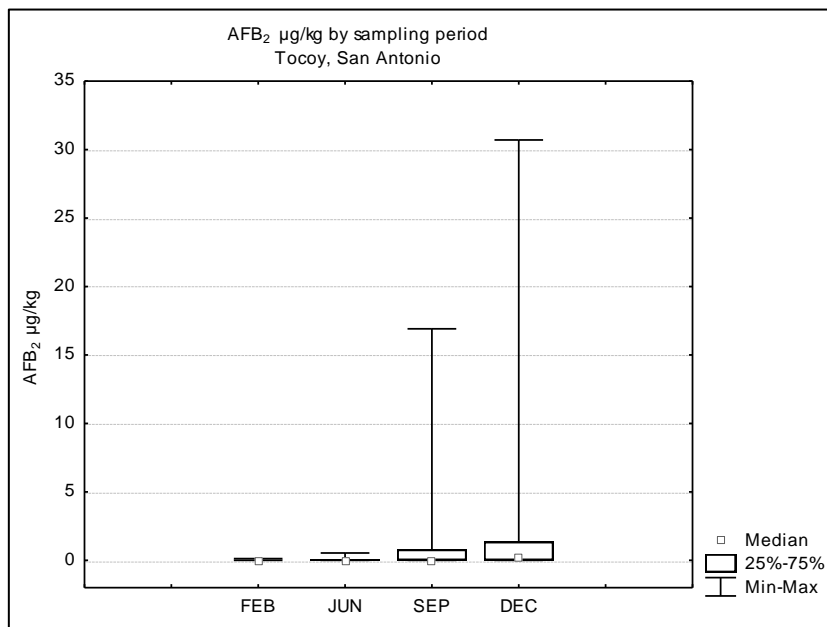
P1= Febrero; P2= Junio; P3= Septiembre; P4= Diciembre-Enero. >LDD= Supera el límite de detección; >LDC= Supera el límite de cuantificación.

Figura 18. Valores de mediana de AFB₁ en tortillas de Toco, $\mu\text{g}/\text{kg}$.



* Diferencia estadística en el período de diciembre ($p < 0.0005$).

Figura 19. Valores de mediana de AFB₂ en tortillas de Toco, $\mu\text{g}/\text{kg}$.



Sin diferencia estadística entre grupos ($p=0.01$).

Se calculó la concentración promedio anual de AFs Totales, promediando los cuatro periodos de toma de muestras para ambos sitios. A su vez, se tomaron las ingestas máximas diarias en mujeres y niños. Estos valores fueron divididos entre el peso corporal, como se observa en la Tabla 14.

Tabla 14. Estimación de ingesta de aflatoxinas totales por consumo de tortillas en los sitios de estudio

Ingesta de Aflatoxinas Totales	Tocoy	E. Bocas
Promedio anual ng/g	9.37	0.66
Máxima Madres (ng/ día)	8212	425
Máxima Niños (ng/día)	4790	372
Por peso corporal Madres (ng/kg p.c./ día)	136.87	7.08
Por peso corporal Niños (ng/kg p.c./ día)	191.60	14.88

5.3 Análisis de Leche

Los resultados de los análisis de leche fueron agrupados por sitio, ya que el número de muestras era menor al de las tortillas. Al tratarse de leche de marcas comerciales y por ser una comunidad pequeña, no había posibilidad de encontrar diferentes lotes. En la Tabla 15 se encuentran los valores obtenidos de LDD y LDC para la AFM₁ en leche, resultado de la validación. De acuerdo con los datos, puede concluirse que el método es suficiente para medir los valores máximos de las NOM-091-SSA1-1994 y NOM-184-SSA1-2002 y de la regulación aplicable de la Unión Europea.

Tabla 15. Resultados del desempeño del método para determinación de AFM₁ en leche.

LDD (µg/ kg)	LDC (µg/ kg)	R	No. Réplicas	% CV	% Recuperación ¹
0.009	0.020	0.998	6	5.81	91

LDD= Límite de Detección. LDC= Límite de Cuantificación. R=Correlación. CV=Coeficiente de variación.

¹Calculado a partir de la adición de aflatoxinas en concentración de 0.1 ppb

Tal como se observa en la Tabla 16, las marcas de leche C3, C5 y C8 excedieron el límite de AFM₁ en leche de la UE. Ninguna muestra excedió el límite de la normativa mexicana. Resulta interesante destacar que las marcas con mayor número de muestras por arriba del LDD fueron la C5 y C7.

En relación con los resultados de AFM₁ en leche de productores locales, se observa que los valores más altos se encontraron en la leche del productor L3. En las muestras analizadas, los valores no excedieron los límites de las normas mexicanas de AFM₁ en leche y tampoco el límite de la UE. El 60% de las muestras del productor L2 estuvieron por arriba del LDD.

5.4 Huevo

En este trabajo, además de buscar el análisis de tortillas y leche, se realizaron pruebas en huevo para la detección de AFM₁. Debido a las bajas concentraciones de AFM₁ encontradas en las muestras de huevo, que en su mayoría resultaron no detectables, se decidió analizarlas con las columnas inmunes específicas para aflatoxinas B y G, mostrando niveles detectables solamente para AFB₂. Por cuestiones de recursos, no se pudo seguir adelante con el análisis de estas aflatoxinas en huevo. Los detalles se incluyen en el Anexo 8.

Tabla 16. Estadística descriptiva de AFM₁ en las muestras de leche.

Sitio	N	Promedio µg/ kg	Máx µg/ kg	>LDD %
Marcas comerciales	45	0.013	0.087	35
C1	5	0.009	0.016	40
C2	5	0.009	0.022	40
C3	5	0.023	0.082	20
C4	5	0.006	0.016	20
C5	5	0.025	0.052	60
C6	5	0.004	0.004	0
C7	5	0.014	0.028	60
C8	5	0.021	0.087	20
C9	5	0.008	0.016	40
Productores locales	15	0.009	0.045	27
L1	5	0.004	0.004	0
L2	5	0.010	0.015	60
L3	5	0.012	0.045	20

LDD= Límite de Detección. C=Marca Comercial. L=Productor local

5.5 Exposición y riesgo

Dado que las concentraciones esperadas de aflatoxinas en alimentos eran bajas, este estudio se enfocó en el cálculo de las concentraciones acumuladas a través del tiempo, tomando en consideración los datos de consumo para tortillas y leche.

Para obtener es la ingesta diaria de los alimentos analizados, se tomó primeramente el dato de la concentración media de aflatoxinas en cada alimento en los cuatro períodos de toma de muestra, obtenido del análisis de este trabajo. Enseguida se calculó la ingesta media de estos alimentos al día, distinguiendo entre el consumo de madres y el de niños. El peso corporal medio de niños fue calculado a partir del dato de talla media para niños entre 7 y 10 años de edad

(Rodríguez-Ramos, 2015), mientras que el de las madres se calculó haciendo un promedio, ya que las madres participantes eran de diferente edad y complejión física.

5.5.1 Exposición de AFs en tortillas

Como resultado de la simulación en el sitio de Tocooy, se obtuvo que la ingesta diaria de AFs se situó por debajo de 0.11 ng/kg p.c./ día el 84% de las veces para los niños, durante el periodo M1, que fue el periodo con las concentraciones más bajas. Para el periodo M4, menos del 1% de las veces estuvo por debajo de este valor, lo cual demuestra un contraste alto en un mismo año. En el caso de la ingesta en las madres, el valor máximo estuvo por debajo del 85% de las iteraciones, mientras que en el periodo M4, se observó el mismo valor que en los niños.

En el sitio de E. Bocas, los resultados de la simulación mostraron que en el período M1 se obtuvieron las probabilidades más altas de un consumo de AFs en los niños por encima del 0.11 ng/kg p.c./ día, en el 61% de las ocasiones, y de 42% en las madres, siendo el periodo con las ingestas más altas.

Los resultados de la simulación para las concentraciones de aflatoxinas totales por sitio y por período de toma de muestras, se muestran en la Tabla 17, donde se puede ver que en Tocooy, las concentraciones exceden el límite establecido por la norma mexicana en más del 45% de las veces, excepto en el período M2.

Tabla 17. Porcentaje de veces en los que se rebasa el límite de AFs Totales en ng/g tortilla, por período.

Período de toma de muestras	Tocoy	E. Bocas
M1	46	2
M2	1	0
M3	48	6
M4	57	SD

Límite AFs= 12 ng/g tortilla. SD= Sin datos.

Para la última simulación, se estimó la concentración promedio de aflatoxinas totales de acuerdo con los datos obtenidos de los cuatro períodos, y se observó que en Tocoy se excede el 98% y el 91% de las veces el valor IDT para madres y para niños, respectivamente. Los resultados de Tocoy se pueden ver representados en la Figura 20 y

Figura 21. Los resultados de E. Bocas se presentan en la Figura 22 y

Figura 23.

Figura 20. Promedio anual de AFs totales de Tocoy, en ng/kg p.c./día (madres).

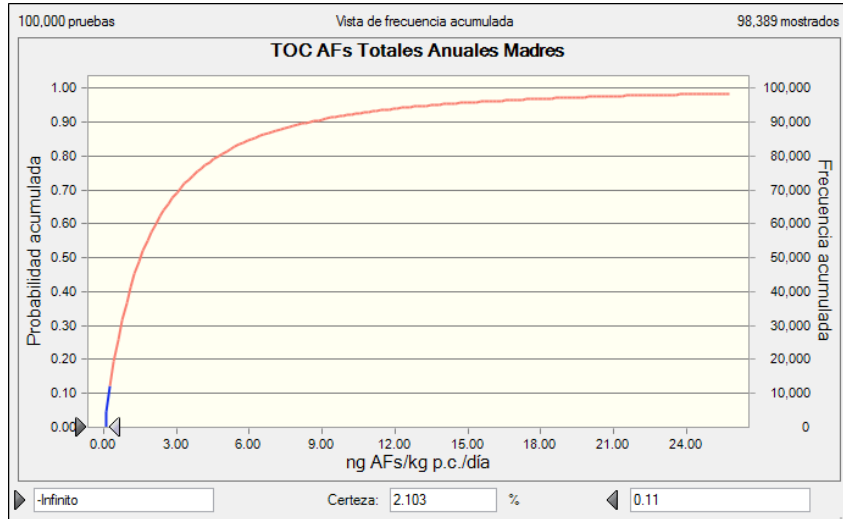


Figura 21. Promedio anual de AFs totales de Tocoy, en ng/kg p.c./día (niños).

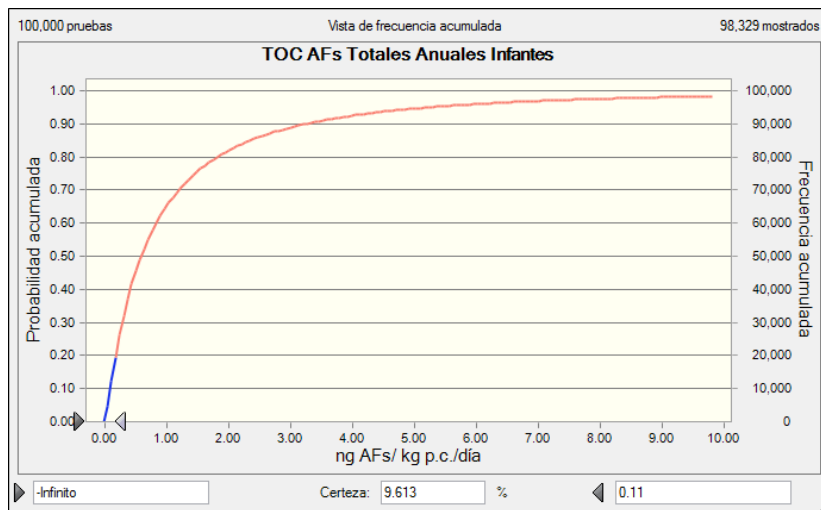


Figura 22. Promedio anual de AFs totales de E. Bocas, en ng/kg p.c./día (madres).

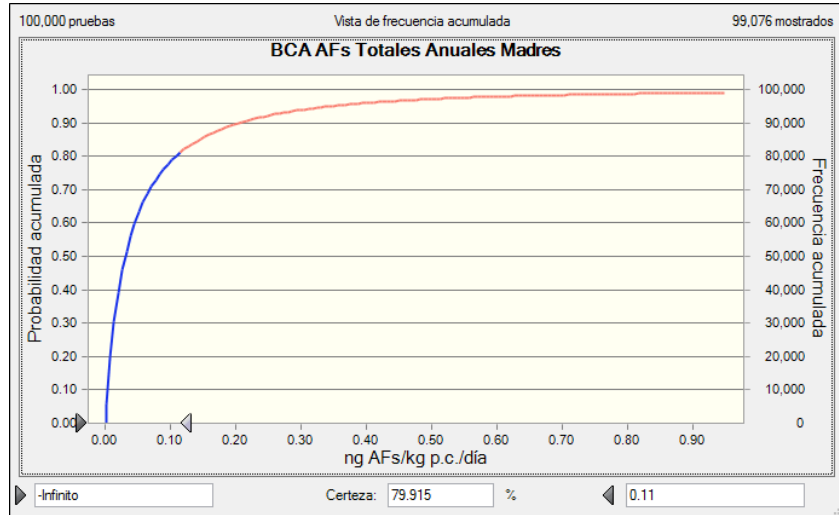
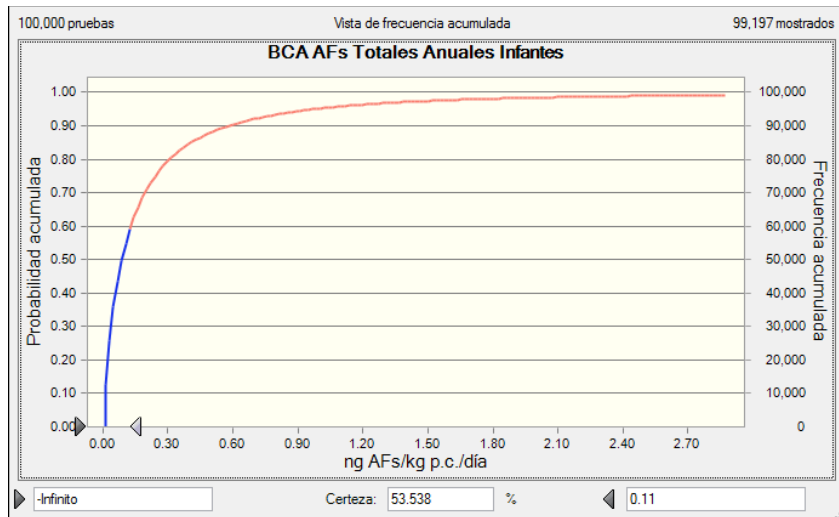


Figura 23. Promedio anual de AFs totales de E. Bocas, en ng/kg p.c./día (niños).



5.5.2 Riesgo cancerígeno

A partir de las fórmulas descritas en la metodología, se obtuvieron los datos para la estimación de la tasa de cáncer hepatocelular (CHC), para lo cual se consideraron solamente los datos de consumo de las madres, con el dato del promedio de la exposición anual, es decir, con la media de las muestras de los cuatro periodos analizados. Los resultados por sitio se muestran en la Tabla 18. Por tratarse de riesgo cancerígeno, se utilizó la concentración máxima encontrada en las tortillas, por lo que en la tabla se describe el escenario más estricto.

Tabla 18. Estimación de la tasa de CHC por ingestión de aflatoxinas en tortillas.

Estimación	Tocoy	E. Bocas
Ingesta ng AF/persona/día ^a	8211.8	424.8
Ingesta ng AF/kg p.c/día ^a	136.8	7.1
Riesgo HBsAg- (por 10,000 hab)	0.137	0.007
Riesgo HBsAg+ (por 10,000 hab)	4.104	0.212

^a A partir de la concentración máxima detectada. p.c.=60 kg. HBsAg-= población sin prevalencia del VHB. HBsAg+= Población con prevalencia de VHB.

El riesgo también fue simulado tomando en consideración la totalidad de los datos por sitios, sin agruparlos por periodo. En la Tabla 19 se muestran los resultados de las iteraciones para el riesgo cancerígeno y las probabilidades de 5, 10, 50 y 90% que se presenten casos por cada 100,000 habitantes. El factor de potencia que se utilizó para el cálculo fue el factor de la población, que considera la prevalencia de CHC en México.

Tabla 19. Probabilidad de riesgo cancerígeno por AFB₁ y AFs Totales

Sitio	Probabilidad 90%	Probabilidad 50%	Probabilidad 10%	Probabilidad 5%
Tocoy (AFB ₁)	0.009	0.068	0.518	0.900
Tocoy (AFs Totales)	0.003	0.031	0.288	0.540
E. Bocas (AFB ₁)	0.003	0.013	0.045	0.065
E. Bocas (AFs Totales)	0.001	0.008	0.054	0.093

^aNúmero de casos de cáncer hepatocelular por 100,000 habitantes. Muestras totales analizadas en el laboratorio.

5.5.3 Exposición a AFM₁ en leche

Para el cálculo de la ingesta de AFM₁, se utilizó la fórmula siguiente:

$$\text{Ingesta AFM}_1 \text{ diaria} = \frac{\mu\text{g de AFM}_1 \text{ por mL de leche} * \text{mL de leche ingeridos al día}}{\text{kg peso corporal}}$$

Los resultados de este análisis se reportan en la Tabla 20, y se puede observar que en ninguno de los cálculos se rebasa el valor de 2 ng AFM₁/kg p.c. /día. Sin embargo, es importante resaltar que la ingesta de AFM₁ en E. Bocas es aproximadamente tres veces mayor que en Tocoy, lo cual era de esperarse debido al mayor consumo de leche diario comparado con el de los niños de Tocoy.

Como en el caso de las tortillas, también para la leche se realizó una simulación Monte-Carlo, pero en este caso solamente se utilizó el consumo infantil, ya que de acuerdo con las entrevistas, las madres no consumen leche (en Tocoy), o tienen consumos muy bajos (en E. Bocas). Derivado de la simulación se obtuvo que el valor de IDT se sobrepasó en Tocoy en todas las marcas y los productores locales de un 11 a un 12%, mientras que en E. Bocas de un 8 a un 11% de las veces.

Tabla 20. Ingesta diaria de AFM₁ en leche (niños).

Muestra	Tocoy ng AFM ₁ /kg p.c./día	E. Bocas ng AFM ₁ /kg p.c./día
C1	0.041	0.137
C2	0.044	0.146
C3	0.109	0.361
C4	0.030	0.098
C5	0.119	0.393
C6	0.019	0.062
C7	0.066	0.218
C8	0.096	0.318
C9	0.036	0.118
L1	0.019	0.062
L2	0.047	0.154
L3	0.057	0.188

C= Marcas comerciales de leche. L= Leche de productores locales

6 DISCUSIÓN

Para facilitar la discusión, se referirán los resultados por alimento, presentando primeramente la discusión sobre los hallazgos en tortillas y enseguida en leche; y finalmente los resultados de la estimación del riesgo.

6.1 Tortillas

Las adecuaciones hechas al método analítico no afectaron el desempeño, resultando en valores de exactitud dentro de los valores permitidos del estándar certificado. Así mismo, la precisión y el porcentaje de recuperación fueron calculados, con lo que se demostró que el método está validado para poder medir concentraciones de aflatoxinas por debajo de los límites de las normas reportadas.

Parte importante de este análisis es la comparación de los resultados obtenidos con los valores límites establecidos por la regulación de la UE. Al realizar esta comparación, podemos ver que el 14% del total de las tortillas de Toco y el 8% de las muestras de E. Bocas, excedieron el límite. Estos resultados son de particular interés si consideramos que el promedio de consumo de tortillas en zonas indígenas es aproximadamente tres veces mayor al calculado en zonas urbanas.

Debido a que la fuente del maíz (milpa o tienda) para la elaboración de tortillas no explicó las altas concentraciones encontradas en las muestras de diciembre, se procedió a analizar la influencia de la temperatura. Como se puede ver en la Figura 24, en la estación de invierno se presentaron las temperaturas más bajas, lo cual ofrece un efecto protector en la proliferación de insectos y hongos, pero por otro lado favorece la

condensación de la humedad del aire dentro de los contenedores, acelerando el proceso de infestación e infección. Esto es sobre todo relevante en Tocoy, cuya temperatura mensual promedio rebasa los 12 °C.

Tomando en consideración lo anterior, se podría esperar que las concentraciones de las muestras de febrero fueran también altas, pero no resultaron así, por lo que es pertinente observar la influencia de otras variables como el procedimiento en la preparación de las tortillas, el contenido de humedad del maíz durante la cosecha y fuentes específicas de contaminación en los sitios de almacenamiento.

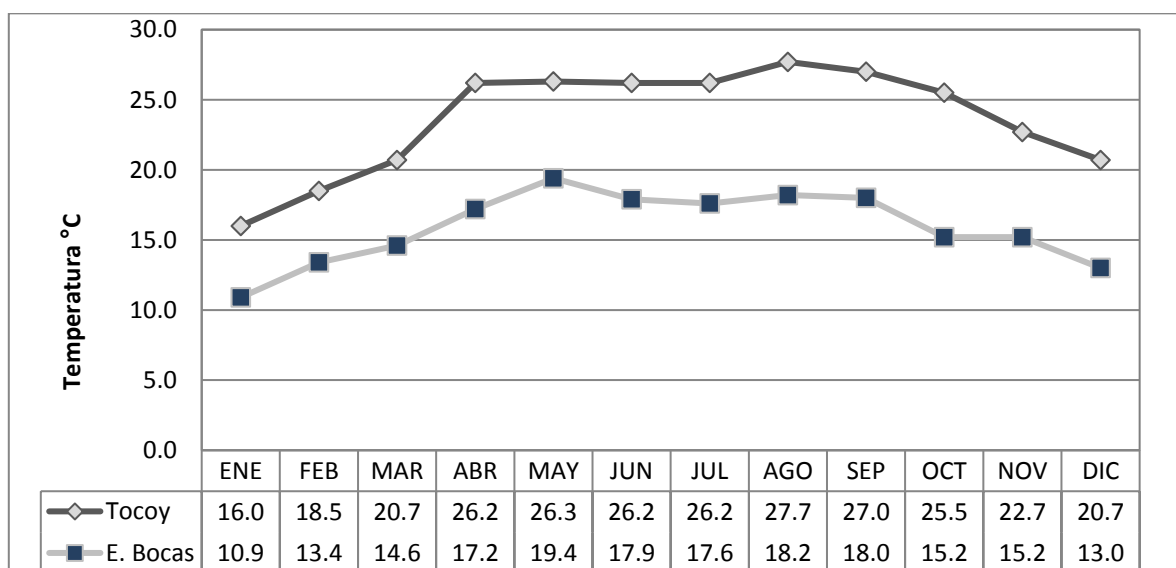


Figura 24. Temperatura mensual promedio, 2015.

En contraste con lo reportado en otros estudios, el procedimiento de nixtamalización no resultó efectivo para eliminar la totalidad de las aflatoxinas en las muestras analizadas, puesto que las concentraciones fueron detectables en el 81% de las muestras de Tocoy y en el 54% en E. Bocas. Esta diferencia puede deberse a las variables detectadas en el proceso, como la cantidad de cal

utilizada en la cocción, las veces que el agua de enjuague (o nejayote) se re usa para otras preparaciones de tortillas y el tiempo de reposo del maíz ya cocido, previo a su molienda.

No debe pasarse por alto que la población en general está expuesta a aflatoxinas y que incluso los hombres pueden ingerir mayores concentraciones que las calculadas, ya que, comúnmente comen más tortillas que las mujeres. Debido al diseño original, el estudio no contempló este cálculo y se centró solamente en mujeres y niños, pero no debe olvidarse que el riesgo está presente para la población general. De acuerdo con los datos de exposición a aflatoxinas en mujeres y niños, resulta importante mencionar la influencia del peso corporal en el cálculo. A menor peso corporal, el resultado será mayor, lo cual centra la atención en la exposición de los niños y en los riesgos derivados para este grupo de la población.

Algunos estudios en Latinoamérica han mostrado la presencia de aflatoxinas en maíz, cacahuates y otros alimentos. En un estudio realizado en Argentina se analizó maíz recién cosechado y después del almacenamiento, mostrando que los niveles de AFB₁ fueron más altos en las muestras de maíz almacenado, con concentraciones entre los 0.22 y 0.45 mg/kg (Martinez-Flores & Garcia-Aguirre, 2003). Lo anterior concuerda con lo observado en este trabajo, ya que el almacenamiento es el factor que puede explicar las variaciones en las concentraciones de aflatoxinas encontradas en muestras con un mismo tipo de maíz.

En este sentido, la contaminación durante el almacenamiento puede ser facilitada por malas prácticas en los hogares, las cuales pudimos observar durante las visitas a la comunidad. En primera instancia, y en relación con los datos de la presentación del maíz, la mayor parte de las familias participantes almacenan el maíz en grano, puesto que lo obtienen de la tienda, en

costales de 50 kg. En varios casos, se observó que hay poca ventilación de los sitios donde se guardan estos costales, por lo que se pueden presentar puntos de calor y de esta manera favorecer la reproducción de hongos. En otros hogares, en los cuales se guardan mazorcas sobre los tapancos, se detectó la presencia de ratones, y en menor medida la entrada de aves.

La infección por hongos puede ser también debida a la presencia de insectos que dañan el pericarpio del grano, favoreciendo así la entrada de esporas (Rodríguez del Bosque, 1996). En este sentido, la gente de Tocoay refirió la presencia de gorgojos (*Sitophilus zeamais*) sobre todo en maíz almacenado por más de cuatro meses, de modo que, aunque las condiciones de almacenamiento sean óptimas, después de varios meses se espera la aparición de estos insectos. A pesar del riesgo de daño físico del grano y por la transportación de esporas de hongo por la presencia de gorgojos (Betj, Phillips, & Smalley, 1995), éstos no representan un problema grave para la gente de Tocoay, ya que se aseguran de limpiar el maíz mediante cribado y un enjuague posterior para posteriormente preparar el nixtamal. Es decir, no se percibe la asociación entre el insecto y el riesgo de infección por hongos.

Aunque se observa que la contaminación se agudiza en ciertas épocas, el problema se presenta a lo largo del año, en las dos comunidades. Con esto se pone de manifiesto que la contaminación por aflatoxinas ocurre en diferentes contextos sociales, culturales y geográficos, con diferentes condiciones físicas y con variaciones en la preparación de las tortillas. Tenemos entonces un problema que puede encontrarse ampliamente distribuido en la república mexicana.

En lo que respecta a las concentraciones encontradas en masas comerciales (Maseca y Minsa), es importante señalar que estas marcas no excedieron los límites máximos permitidos por la

NOM-187-SSA1/SCFI-2002. Sin embargo, estas concentraciones no fueron iguales en los diferentes períodos de toma de muestra, lo cual es importante tomar en cuenta para el control de la industria del maíz.

6.2 Leche y producto lácteo

El método analítico utilizado para AFM₁ fue validado en leche entera y se obtuvo un LDC menor a las concentraciones establecidas por la regulación de la Unión Europea, de 0.05 ppb AFM₁. Este método no sufrió adecuaciones mayores, siendo el volumen y la dilución de la muestra las únicas modificaciones. Para esta aflatoxina, no se realizó la prueba de exactitud con estándar certificado en alimento, sino solamente como adición de estándar.

Las concentraciones de AFM₁ en las muestras analizadas de leche comercial resultaron dentro de los límites permitidos por la normativa mexicana. Esto puede interpretarse como un resultado seguro y de bajo riesgo para la población. Aún y cuando tres de las marcas mostraron niveles por encima de lo permitido por la regulación de la UE, no se observaron niveles promedio superiores a la normativa. Considerando los datos aislados, el consumo de leche no representa un problema grave en lo que respecta a la ingesta de AFM₁, ya sea si se trata de leche de marcas comerciales o de productores locales. Sin embargo, al observar los datos de la ingesta semanal en un ambiente periurbano, se puede observar que aumentó más de tres veces la ingesta diaria de AFM₁.

Tomando en cuenta que al hablar de las marcas comerciales no podemos tener un control de las condiciones de almacenamiento del pienso para vacas, no se puede establecer las posibles razones por las que en algunas muestras se obtuvieron valores altos. Sin embargo, las concentraciones de AFM₁ en leche de productores locales sí pueden relacionarse con lo observado en campo y con los datos obtenidos en las encuestas. En este caso, se observó que las condiciones de almacenamiento fueron las variables asociadas de manera directa a los resultados de la leche analizada, resultando que el productor que contaba con almacenamiento del forraje protegido de la intemperie obtuvo los valores más bajos de AFM₁ en las muestras analizadas, mientras que el productor que almacenaba su forraje a la intemperie, obtuvo los valores más altos. A pesar de contar con pocos datos para realizar un análisis estadístico, tanto la variable de lugar de almacenamiento como la del tiempo de almacenamiento, resultan coherentes con lo previsto en la bibliografía, al tratarse de una micotoxina.

6.3 Exposición y Riesgo

Por una parte, los valores de IDT sirvieron para tener un referente sobre la ingesta promedio en las dos comunidades, obteniendo que este valor de referencia se excedió solamente en Toco, cuando se tomó la concentración máxima de AFs de los análisis de tortilla para realizar el cálculo. En el caso de E. Bocas está por debajo de este límite Si consideramos que este estudio sólo se enfocó en aflatoxinas de dos alimentos en específico, no se puede establecer una conclusión general sobre el riesgo, pero sí una aproximación a la situación de estas dos comunidades por exposición a dichos alimentos.

Como se explicó anteriormente, un TDS puede ser de mayor alcance para lograr una mejor aproximación al problema. El estudio realizado en Catalunya, el primero de este tipo en España, mostró como resultados principales que la incidencia de micotoxinas en alimentos es baja, sin embargo se detectaron niveles considerables de Fumonisina B₁, Ocratoxina A y Deoxinivalenol principalmente en cereales. Adicional a esta información, se observó que los grupos de población con mayor exposición a micotoxinas son los bebés, los niños y los migrantes, debido al tipo de alimentos que consumen y a la frecuencia de ingestión (Cano-Sancho *et al.*, 2012).

En el segundo reporte de Francia, se concluye que los alimentos con mayores concentraciones de micotoxinas son los cereales, los frutos secos y el chocolate. Es importante aclarar que una variedad de alimentos tales como productos lácteos, cacahuates, nueces, frutos secos y otros cereales pueden contribuir también al aporte diario de aflatoxinas.

Con los resultados sobre exposición y riesgo de este trabajo, puede observarse una notable diferencia entre los resultados de ambas comunidades, y obviamente el riesgo es aumentado con un patrón de consumo como el que se presenta en la comunidad de Toco y sobre todo por los niveles de contaminación encontrados en las tortillas de la comunidad en contraste con los de E. Bocas.

En la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se puede observar que, efectivamente, el riesgo de casos de cáncer asociados con la ingesta de aflatoxinas es mayor en la comunidad de Toco, sobre todo a partir de la probabilidad del 50%. Para el caso de Toco, se puede alcanzar un riesgo de 0.9 en 100,000 en el 5% de los casos (0.09 en 10,000 habitantes). En contraste, tomando el valor máximo de concentración de aflatoxinas en tortillas encontrado en las comunidades, el riesgo puede llegar a 0.14 casos y 0.18 casos por 10,000 habitantes, cuando se

calcula con la ingesta máxima de tortillas reportada en Tocooy. De este modo, se puede decir que el riesgo de CHC en las dos comunidades está por debajo del máximo aceptado. Lo anterior concuerda con lo observado en las comunidades, ya que no se reportaron casos de cáncer hepático. Resulta de suma importancia señalar que, el riesgo aumenta cuando existe una infección por virus de hepatitis, y más de 30 veces con VHB, por lo que debe brindarse la vigilancia oportuna a pacientes con hepatitis.

De acuerdo con lo reportado por Liu *et al.*, la ingesta de aflatoxinas en México es de 14-85 ng/kg p.c./día, con lo que se calcula un número de casos anual de CHC por 100,000 habitantes de 0.14-0.85 (con HBsAg-) y de 4.20-25.5 (HBsAg+), es decir, diez veces mayor que el calculado con el factor de potencia de la población mexicana. Resulta de suma importancia mencionar que el riesgo se incrementa más de 30 veces cuando hablamos de población con VHB, por lo que el seguimiento a este grupo de población es necesario en la comunidad.

Considerando el estudio de Wu *et al.* en 2013, la exposición a aflatoxinas no debería causar un incremento de un caso de CHC en 100,000 habitantes, por lo que, de presentarse concentraciones como las detectadas en este estudio en el año 2015, la probabilidad de la población de Tocooy de desarrollar CHC es mayor a lo reportado por estos investigadores (Wu, Stacy, & Kensler, 2013).

7 CONCLUSIONES

La presencia de microorganismos e insectos pueden causar una variedad de problemas antes y después de la cosecha, conduciendo no sólo a pérdidas en los alimentos sino también a problemas de salud humana. Las buenas prácticas en toda la cadena de producción y en especial durante el almacenamiento, pueden prevenir la contaminación por aflatoxinas y otras micotoxinas, así como de plagas en general.

Se adaptó la técnica analítica oficial para utilizar menor volumen de solventes en la extracción y una menor cantidad de muestra y se pudo comprobar que estas adecuaciones no afectaron los parámetros de desempeño de la técnica. Por lo tanto, puede utilizarse para la medición de la concentración de aflatoxinas B y G por debajo de lo establecido por las normas mexicanas y de la Unión Europea.

Aunque el objetivo de esta investigación era el de conocer la relevancia de los factores de riesgo por separado, los resultados mostraron que es recomendable estudiar estos factores de manera simultánea para poder predecir y prevenir los eventos de contaminación. Sin duda, resulta de suma importancia comunicar oportunamente los hallazgos de los estudios, puesto que favorece la toma de conciencia de la población en lo que respecta a riesgos, ayudando de esta manera a prevenir problemas de contaminación que en un futuro puedan repercutir en su seguridad alimentaria y en la salud.

El método analítico usado para medir AFM₁ en leche resulta adecuado para medir concentraciones incluso por debajo de la regulación establecida por la Unión Europea. Los

niveles de AFM₁ en leche de marcas comerciales son bajos comparados con la normativa mexicana, pero altos con respecto al Reglamento de la Unión Europea. El hecho de que los resultados sean impredecibles en marcas comerciales nos hace pensar en la diversidad del origen de la leche que llega a las tiendas y de la necesidad de establecer medidas para su control. Por otra parte, los niveles de AFM₁ en leche de productores locales fueron bajos también, pero se pudieron asociar con las condiciones y el tiempo de almacenamiento.

El riesgo de CHC asociado con la ingesta de AFB₁ sólo por el consumo de tortillas es mayor a lo reportado en otros estudios que usan datos mexicanos para la estimación, pero menor a lo permitido en lo que respecta al riesgo cancerígeno. Si bien, la baja prevalencia de VHB ayuda a disminuir el riesgo de desarrollar CHC, los valores calculados de ingesta diaria por peso corporal son altos en la comunidad de Toco y esto sin duda tendrá influencia en el riesgo general de la población.

Además de las variables de temperatura y humedad, se detectaron factores de influencia en la concentración de aflatoxinas en los alimentos evaluados, siendo el tratamiento poscosecha, las condiciones de almacenamiento de granos y piensos, así como las técnicas en la preparación de tortillas, dignas de estudios posteriores a profundidad.

Debido a los resultados de este trabajo, se considera necesaria la creación de un programa de vigilancia del maíz a nivel nacional, pero operado desde un nivel local, puesto que cada comunidad tiene sus propias características y una problemática particular. Para poder asegurar la intervención pertinente en el control de la contaminación, pero sobre todo en la prevención, es importante incluir en el programa de vigilancia, el análisis aflatoxinas en maíz con técnicas

accesibles y de bajo costo, así como la aplicación de técnicas de buenas prácticas de pos-cosecha y almacenamiento.

La seguridad alimentaria se ha convertido en un tema serio que tiene implicaciones económicas y logísticas por parte de la autoridad, pero sobre todo que requiere su respuesta oportuna para asegurar la prevención de problemas de salud pública para la población mexicana.

Alineando este trabajo en el marco de los Objetivos de Desarrollo Sostenible, no sólo se refiere a la inocuidad de los alimentos como medio para asegurar la salud y el bienestar, sino también como elemento indispensable para la producción y consumo responsable.

La alimentación, sin duda tiene principalmente un papel físico y biológico, pero además cumple una función social y constituye una parte esencial de la identidad de una comunidad. Cualquier esfuerzo que se realice en la materia, siempre involucrará un fuerte impacto social y en consecuencia, relevancia en todos los niveles de la comunidad.

8 REFERENCIAS

- Ali, N., Hashim, N. H., & Yoshizawa, T. (1999). Evaluation and application of a simple and rapid method for the analysis of aflatoxins in commercial foods from Malaysia and the Philippines. *Food Additives and Contaminants*, *16*, 273-280.
- Alpert, M. E., Hutt, M. S., Wogan, G. N., & Davidson, C. S. (1971). Association between aflatoxin content of food and hepatoma frequency in Uganda. *Cancer*, *28*, 253–260.
- Analysis, C. f. D. (2016). Prevalence estimates (HbsAg) of HBV in select countries in the Americas.
- Angle, S. J. (1987). Biodeterioration of Aflatoxin B1 in Various Soils. *Biodeterioration Research*, *1*, 223-230.
- Arteaga, R. (2014, Mayo 18, 2014). Las 10 marcas más consumidas en México. *Forbes*.
- Barbieri, G., Bergamini, C., Ori, E., & Pesca, P. (1994). Aflatoxin M1 in parmesan cheese: HPLC determination. *Journal of Food Science*, *59*, 1313-1331.
- Beti, J. A., Phillips, T. W., & Smalley, E. B. (1995). Effects of maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on production of aflatoxin B1 by *Aspergillus flavus* in stored corn. *J Econ Entomol*, *88*(6), 1776-1782.
- Beuchat, L. R. (1978). Microbial alterations of grains, legumes and oilseeds. *Food Technology*, *35*(5), 193.
- Bloom, B., Cohen, R. A., & Freeman, G. (2010). *Summary health statistics for U.S. children: National Health Interview Survey, 2009*.
- Cano-Sancho, G., Marín, S., Ramos, A., Sanchis, V. (2012). *Estudi de dieta total a Catalunya 2008-2009*. Barcelona, España. Agència de Salut Pública de Catalunya.
- Canahui, E. C. (1988). Informe por país: Guatemala. Seminario Latinoamericano y del Caribe sobre Micotoxinas. *Secretary of Science and Technology*. Argentina.
- Castillo-Urueta, P., Carvajal, M., Mendez, I., Meza, F., & Galvez, A. (2011). Survey of aflatoxins un maize tortillas from Mexico City. *Food Additives and Contaminants*, *4*(B), 42-51.
- CONAPO. (2010). Índice de Marginación por Localidad 2010. In C. N. d. Población (Ed.): Secretaría de Gobernación.
- Christensen, C. M., & Kaufmann, H. H. (1969). *Grain Storage: The role of fungi in quality loss*. Minneapolis.
- Dennis, P., & Hsieh, H. (1981). *Metabolism and Transmission of Mycotoxins*. Paper presented at the International Symposium and Workshop on Mycotoxins, Cairo, Egypt.
- Dvorackova, I. (1990). *Aflatoxins and human health*. United States. CRC Press.
- Escalante, S. E. (2009). El Manejo de los granos Básicos. *Boletín ASERCA Región Peninsular*.
- Essigmann, J. M., Croy, R. G., Bennett, R. A., & Wogan, G. N. (1982). Metabolic activation of aflatoxin B1: patterns of DNA adduct formation, removal, and excretion in relation to carcinogenesis. *Drug Metab Rev*, *13*(4), 581-602. doi: 10.3109/03602538209011088
- De la Comisión por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios (2006).
- Fallah, A. A., Jafari, T., Fallah, A., & Rahnema, M. (2009). Determination of aflatoxin M1 levels in Iranian white and cream cheese. *Food and Chemical Toxicology*, *47*, 1872-1875.
- FAO. (2007). Instrumentos de la FAO sobre l---a Bioseguridad. In O. d. l. N. U. p. l. A. y. l. Alimentación (Series Ed.) (pp. 83-97).
- Figuroa, J. D. (1999). La tortilla vitaminada. *Avance y Perspectiva*, *18*, 149–158.

- FIRA. (2016). Panorama Agroalimentario Maíz 2016. In D. d. I. y. E. E. y. Sectorial (Ed.): Fideicomisos Instituidos en relación con la Agricultura.
- García-Lara, S., & Bergvinson, D. J. (2007). Programa Integral para reducir pérdidas post-cosecha en maíz. *Agricultura técnica en México*, 33, 181-189.
- Garrido, C. E., Hernández Pezzani, C., & Pacin, A. (2012). Mycotoxins occurrence in Argentina's maize (*Zea mays* L.), from 1999 to 2010. *Food Control*, 25, 660-665.
- Gimeno, A. (2004). Aflatoxina M1 en la Leche. Riesgos para la Salud Pública, Prevención y Control. *Alimentación Animal*(49), 32-44.
- Gimeno, A., & Martins, M. L. (2000). Residuos de Micotoxinas en leche, huevos y tejidos comestibles de aves, cerdos y rumiantes. *Albéitar*, 37, 44-46.
- Gimeno, A., & Martins, M. L. (2003). *Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos*. Buenos Aires Talleres graficos del SRL.
- Goldblatt, L. A. (1969). *Aflatoxin. Scientific Background, Control and Implications*. New York: Academic Press.
- Gong, Y. Y., Cardwell, K., Hounsa, A., Egal, S., Turner, P. C., & Hall, A. J. (2002). Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. *British Medical Journal*, 325, 20-21.
- Gong, Y. Y., Hounsa, A., Egal, S., Turner, P. C., Sutcliffe, A. E., & Hall, A. J. (2004). Post-weaning exposure to aflatoxin results in impaired child growth: a longitudinal study in Benin, West Africa. *Environmental Health Perspectives*, 112, 1334-1338. doi: 10.1289/ehp.6954
- Gong, Y. Y., Wilson, S., Mwatha, J. K., Routledge, M. N., Castelino, J. M., & Zhao, B. (2012). Aflatoxin exposure may contribute to chronic hepatomegaly in Kenyan school children. *Environmental Health Perspectives*, 120(893-896). doi: 10.1289/ehp.1104357
- Groopman, J. D., Kensler, T. W., & Wild, C. P. (2008). Protective interventions to prevent aflatoxin-induced carcinogenesis in developing countries. *Annu Rev Public Health*, 29, 187-203.
- Gutiérrez, R., Vega, S., Pérez, J. J., Ruiz, J. L., Yamazaki, A., Rivera, J. G. Escobar, A. (2013). Evaluación de aflatoxina M1 en leche orgánica producida en Tecpatán, Chiapas, México. *Rev. Salud Anim.* , 35(1), 33-37.
- Guzman-de-Peña, D., Trudel, L., & Wogan, G. N. (1995). Corn "Nixtamalización" and the fate of radiolabelled Aflatoxin B1 in the tortilla making process. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 55, 858-864.
- Guzmán-De Peña, D. (1989). *Las aflatoxinas en maíz: un reto a los mexicanos*. Paper presented at the Memorias de la IV Mesa Redonda Latinoamericana sobre prevención de pérdidas postcosecha de granos, Montecillos, Texcoco, México.
- Hanson, M. A., & Gluckman, P. D. (2011). Developmental origins of health and disease: moving from biological concepts to interventions and policy. *Int J Gynaecol Obstet*, 115 Suppl 1, S3-5. doi: 10.1016/s0020-7292(11)60003-9
- Harris, C. C., & Sun, T. T. (1986). Interactive effects of chemical carcinogens and hepatitis B virus in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Surv.*, 5(765-780).
- IARC. (2012). Scientific Publication Risk assessment and risk management of mycotoxins In John I. Pitt, Christopher P. Wild, Robert A. Baan, Wentzel C.A. Gelderblom, J. David Miller, Ronald T. Riley & F. Wu (Eds.), *Improving Public Health through Mycotoxin Control* (Vol. 158). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- INEGI. (2009). San Antonio, San Luis Potosí. In I. N. d. E. y. Geografía (Ed.), *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*. México.

- INEGI. (2015). Anuario Estadístico y Geográfico por Entidad Federativa 2015. In I. N. d. E. y. Geografía (Ed.).
- Jurado-Guerra, P., Lara-Macías, C. R., & Saucedo-Terán, R. A. (2014). Paquete tecnológico para la producción de maíz forrajero en Chihuahua. In INIFAP (Ed.): SAGARPA.
- Kantar-Worldpanel. (2017). 1ro. de Junio: Día Mundial de la Leche, from <https://www.kantarworldpanel.com/mx/Noticias-/1ro-de-Junio-Da-Mundial-de-la-Leche->
- Kuiper-Goodman, T. (1994). Prevention of human mycotoxicoses through risk assessment risk management. In H. L. T. Miller J.D. (Ed.), *Mycotoxins in Grain, Compounds other than Aflatoxin* (pp. 439-469). St. Paul, MN: Eagan Press.
- Leblanc, J. C., Tard, A., Volatier, J. L., & Verger, P. (2005). Estimated dietary exposure to principal food mycotoxins from The First French Total Diet Study. *Food Additives and Contaminants*, 22(7), 652-672.
- Ledesma-Osuna, A. I., Campas-Baypoli, O. N., Torres, P. I., & Ramirez-Wong, B. (1996). *Presence of aflatoxin in alkali treated corn products consumed in Sonora Mexico*. Paper presented at the Proceedings of Modulation of Chemical Toxicity and Risk Assessment Conference, Tucson, AZ.
- Leitao, J., De Saint-Blanquat, G., & Bailly, J. R. (1987). Action of phosphine on production of aflatoxins by various *Aspergillus* strains isolated from foodstuffs. *Appl. Environ. Microbiol*, 53(10), 2328.
- Lillehoj, E. B., Wall, J. H., & Bowers, E. J. (1987). Preharvest aflatoxin contamination: Effect of moisture and substrate variation in developing cottonseed and corn kernels. *Appl. Environ. Microbiol*, 53, 584–586.
- Liu, Y., & Wu, F. (2010). Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. *Environ Health Perspect*, 118(818–824).
- Martinez-Flores, R., & Garcia-Aguirre, G. (2003). Inspeccion de aflatoxinas en maiz cultivado, almacenado y transportado en el estado de Tamaulipas, Mexico en 1988. *Anales Instituto de Biologia, UNAM*, 74(Botánica), 313–321.
- Martins, M. L., & Martins, H. M. (2000). Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized. *Food Additives and Contaminants*, 17, 871-874.
- Martins, M. L., & Martins, H. M. (2004). Aflatoxin M1 in yoghurts in Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, 91, 315-317.
- México, A. d. S. L. e. (2012). *Análisis del Sector Lácteo en México*. Dirección General de Industrias Básicas.
- Mora, M. (1980). *Diagnóstico sobre la contaminación con aflatoxinas del maíz blanco en Costa Rica*. Paper presented at the Seminario Latinoamericano y del Caribe sobre Micotoxinas Argentina.
- Müller, H. (1982). Decontamination of mycotoxins. *Physical methods* 10, 95-122.
- Ochoa, M. A., Torres, C. P., Moreno, I. G., Yépiz, G. S., Álvarez, C. R., Marroquin, J. A., Silveira, G. M. (1989). Incidencia de Aflatoxina B1 y Zearalenona en trigo y maíz almacenado en el estado de Sonora. *Rev. Cien. Alim.*, 1, 16-20.
- OMS. (2011). *Estadísticas Sanitarias Mundiales 2011*.
- Pavao, A. C., Soares-Nieto, L. A., Ferreira-Neto, J., & Leao, M. B. (1995). Structure and activity of aflatoxins B and G. *J. Molecular Structure*
- Pemberton, A. D., & Simpson, T. J. (1991). *Mycotoxins and Animal Foods*. In S. J. E. H. R. S. (Ed.). Boca Ratón: CRS.

- Pleis, J. R., Ward, B. W., & Lucas, J. W. (2010). Summary health statistics for U.S. adults: National Health Interview Survey, 2009. *Vital Health Stat* 10(249), 1-207.
- Prüss-Üstün, A., & Corvalán, C. (2006). Preventing disease through healthy environments. Towards an estimate of the environmental burden of disease. France: World Health Organization.
- Rodricks, J. V., & Stoloff, L. (1977). Aflatoxin Residues from Contaminated Feed in Edible Tissues of Food-Producing Animals. In C. H. H. a. M. A. M. Joseph V. Rodricks (Ed.), *Mycotoxins in Human and Animal Health* (pp. 67-69). Park Forest South Illinois: Pathotox Publishers, INC.
- Rodríguez del Bosque, L. A. (1996). Impact of Agronomic Factors on Aflatoxin Contamination in preharvest field corn in northeastern Mexico. *Plant Disease*, 80(9), 988-993.
- Sanchez, O. R. (1988). *Contaminación de Alimentos y piensos por micotoxinas y la metodología empleada en Cuba para su prevención y control*. Paper presented at the Seminario Latinoamericano y del Caribe sobre Micotoxinas, Argentina.
- Sargeant, K., O'Kelly, J., Carnaghan, R. B. A., & Allcroft, R. (1961). The assay of a toxic principle in certain groundnut meals. *Vet. Rec.*, 73, 1219-1222.
- SE. (2012). *Cadena de valor Maíz-Tortilla: Situación actual y factores de competencia local*. México.
- Sharma, R. P. (2004). *Mycotoxins in the food chain: a look at their impact on immunological responses*. Paper presented at the Proc. Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, 20vo Annual Symposium Alltech.
- Sheabar, F. Z., Groopman, J. D., Qian, G. S., & Wogan, G. N. (1993). Quantitative analysis of aflatoxin-albumin adducts. *Carcinogenesis*, 14, 1203-1208.
- Shouman, B. O., El Morsi, D., Shabaan, S., Abdel-Hamid, A. H., & Mehrim, A. (2012). Aflatoxin B1 level in relation to child's feeding and growth. *Indian J Pediatr*, 79, 56-61.
- Skipper, P. L., Hutchins, D. H., Turesky, R. J., Sabbioni, G., & Tannenbaum, S. R. (1985). Carcinogen binding to serum albumin. *Proc Am Assoc Cancer Res*, 26, 356-361.
- Influence of mycotoxins on protein and aminoacid utilization (1982).
- Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. (2002).
- Torres-Espinoza, E., Acuña-Askar, K., Naccha-Torres, L., & Castellon-Santa Ana, J. P. (1995). Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, Mexico. *Food Add Contam.*, 12, 383-386.
- Torres, P., Guzmán-Ortiz, M., & Ramírez-Wong, B. (2001). Revising the Role of pH and Thermal Treatments in aflatoxin content reduction during the tortilla and deep frying processes. *J. Agric. Food Chem*, 49, 2825-2829.
- Trucksess, M., Stack, M., & Nesheim, S. (1994). Multifunctional Column Coupled with Liquid Chromatography for Determination of Aflatoxins B1, B2, G1, and G2 in Corn, Almonds, Brazil Nuts, Peanuts, and Pistachio Nuts: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 77(6), 1512 - 1521.
- UNA. (2014). Retrieved Abril, 2014, from <http://www.una.org.mx/index.php/component/content/article/2-uncategorised/19-indicadores-economicos>
- Wild, C. P., Jiang, Y. Z., Sabbioni, G., Chapot, B., & Montesano, R. (1990). Evaluation of methods for quantitation of aflatoxin-albumin adducts and their application to human exposure assessment. *Cancer Res*, 50, 245-251.

Wu, F., Stacy, S. L., & Kensler, T. W. (2013). Global Risk Assessment of Aflatoxins in Maize and Peanuts: Are Regulatory Standards Adequately Protective? *Toxicological Sciences*, 135(1), 251-259. doi: <http://doi.org/10.1093/toxsci/kft132>

-

ANEXO 1



Determinación de aflatoxinas y compuestos tóxicos en alimentos consumidos por población infantil en San Luis Potosí

ENCUESTA DE CONSUMO

Fecha _____

Folio

Muestra

Número

Nombre: _____

Nombre niño(a): _____

Edad: _____

Tortillas

1 Consumo diario _____

2 Consumo diario niño(a) _____

3 Origen del maíz: _____

Propio

Comprado local

Diconsa

Otro _____

4 Preparación _____

10 Cosecha del maíz _____

11 Tiempo de almacenamiento _____

12 Tipo almacenamiento _____

13 Casa habitación: _____

14 ¿Dónde compran alimentos? _____

Leche

5 Consumo a la semana _____

6 Marca _____

Huevos

7 Consumo semanal _____

8 Origen: _____

Comprado

Propio _____

9 Alimento _____

15 Alimentos consumidos de temporada _____

ANEXO 2

ALMACENAMIENTO DE MAÍZ EN TOCOY, SAN ANTONIO



Tapancos o doble altura en las casas. Enero de 2014.



Maíz colgado sobre la estufa, generalmente semillas seleccionadas para la próxima siembra. Febrero 2015.



Maíz almacenado en rejas. Casa en Toco, San Antonio. Enero de 2014.

ANEXO 3

INFORMACIÓN PROVEEDORES DE E. BOCAS

30 de junio de 2015

Tortillería 1 (M)

Forrajera y viene de Abastos de San Luis Potosí.
En febrero venden también tortillas de maíz local.

La composición de las tortillas es:

75 % maíz

25 % Harina (Maseca o Agroinsa)

Regularmente la formulación es de:

70 % maíz

30 % Harina (Maseca o Agroinsa)

Agroinsa no se consigue en la comunidad, por lo que la pide para que se la traigan.

Forrajera

Lo traen de la Central de Abastos de la ciudad de San Luis Potosí.

Surte 300 kg al día para las tortillas

Casi no venden a particulares. Los particulares van a la "Conasupo" o Diconsa.

Dos días de almacenamiento como máximo.

Este maíz que les surten ya viene curado o fumigado.

El maíz es de bodega y puede durar 1 ó 2 años.

Tortillería La Única

Se surte de la Central de Abastos de San Luis Potosí, de la forrajera y de maíz local cuando hay disponibilidad. Es posible que de octubre a febrero haya maíz local.

La composición de las tortillas es de:

50 % Maíz

50 % Harina (Maseca*, Agroinsa, Minsa)

El tiempo máximo de almacenamiento es de una semana. No se cuenta con métodos de conservación especial.

No hay humedad, según refiere el encargado.

El costo de un costal de Maseca es de \$200.0. EL tiempo de almacenamiento de la harina es de una semana. La harina Agroinsa es más barata que la Maseca o la Minsa.

Agroinsa normal

Harina de maíz nixtamalizado, enriquecida con vitaminas y minerales.

- Sin conservadores
- Rendimiento normal
- Harina fina
- Duración 18 horas
- Sin aditivos

Uso: tortillas, tamales, tostadas y frituras

Rendimiento: 38 kg

Tiempo de amasado: de 3 a 4 minutos

Agua: 26 a 28 litros por bulto

Diconsa #190

1500 kg por semana a \$4.00 el kilogramo

1 bulto= 50 kg \$200.0

>500 kg/ semana de la harina ya procesada Sedesol/ Diconsa

ANEXO 4

ENCUESTA ALIMENTACIÓN DE GANADO VACUNO DE PRODUCTORES LOCALES DE LECHE

Fecha: _____

Productor: _____

Tipo de alimento

Composición:

_____ %
_____ %
_____ %
_____ %
_____ %
_____ %
_____ %
_____ %

Alimento comercial: ____% Proteína

Humedad: _____%

Tiempo de almacenamiento máximo: _____

Cantidad de alimento por día: _____

Producción propia: _____

Ensilado durante los meses: _____

ANEXO 5

ALIMENTO PARA GANADO LECHERO

Ficha Técnica

LECHERO 20 TEC

Ingredientes:

Cereales, pastas de oleaginosas, grasas de origen vegetal, macro y micro minerales, aminoácidos, vitaminas A, D y E.

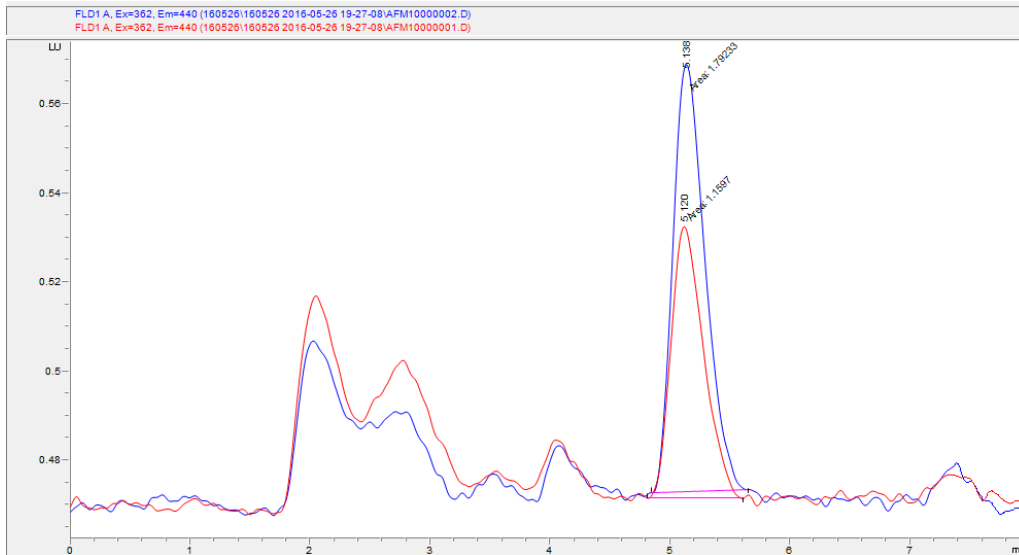
Proteína cruda	Min 20%
Grasa cruda	Min 4%
Fibra cruda	Máx 6%
Humedad	Máx 12%
Cenizas	Máx 8%
E.L.N.	53%

Dosis y vía de administración

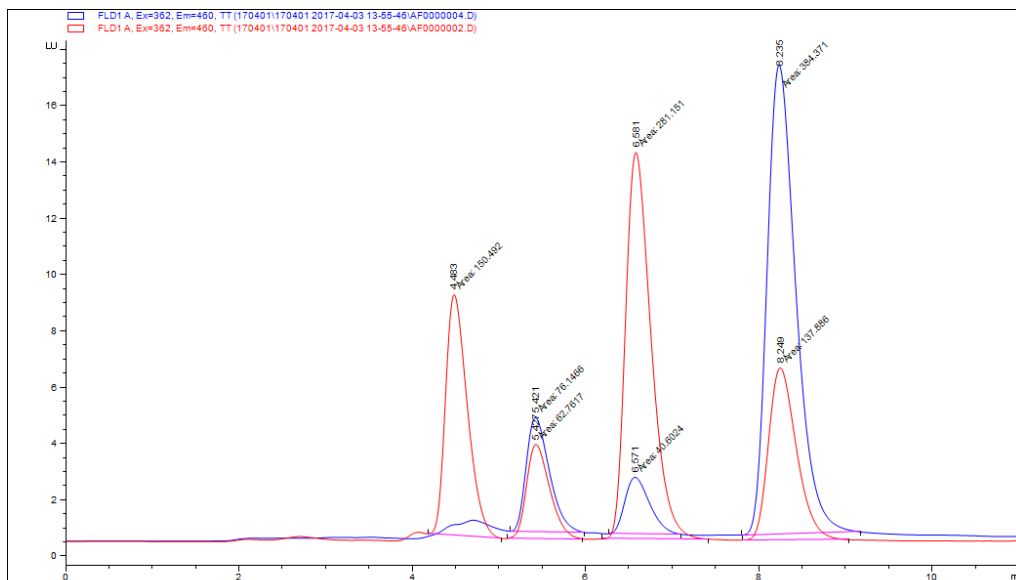
Administrar de 8 a 12 kg por día. Forraje libre acceso.

ANEXO 6

CROMATOGRAMAS DE HPLC CON DETECCIÓN DE FLUORESCENCIA



Cromatograma de una muestra de leche (señal roja), y estándar fortificado en leche entera (señal azul).



Cromatograma del Estándar Certificado en alimento para AFB1, AFB2 y AFG1 (señal azul), y estándar fortificado en tortilla (señal roja).

ANEXO 7

PREPARACIÓN DEL NIXCÓN

20 de agosto de 2016

Sra. A. Hernández

1. Almacenamiento

El maíz lo compra en Diconsa en costales de 50 kg, que le duran de 22 a 30 días. Lo almacena en el mismo costal, en el cuarto de las niñas. Está protegido del sol y no está directamente en el piso.



2. Limpieza del maíz



Se realiza una limpieza física, retirando partículas, tallos, piedras, hojas y otra materia presente en el maíz. Después se pasa a través de una criba y entonces se comienza con la preparación de la masa.

3. Preparación de la masa

En una cubeta de 20 L aproximadamente, se vierten $\frac{3}{4}$ de agua y medio vaso de cal. Se procede a hervir (10 a 15 min) y entonces se agrega el maíz (4 kg aproximadamente). El agua con cal debe cubrir en su totalidad el maíz. El color del maíz cambia a amarillo con la cocción. A continuación se coloca una bolsa sobre la cubeta y una tapa para favorecer la remoción del pericarpio. Al siguiente día, a las 7-8 de la mañana, procede al lavado con agua hasta remover completamente el pericarpio. Enseguida se procede a la molienda y a la adición de Maseca. De acuerdo con la información brindada, esta adición permite que las tortillas sean más suaves.



La cantidad de cal no varía, aunque la calidad el maíz sea diferente. Si agrega mucha cal, entonces las tortillas huelen mucho a cal y el color es muy amarillo, lo cual resulta poco deseable para la mayoría de las mujeres encuestadas.





Las variables detectadas en la preparación, fueron las siguientes:

- Cantidad de cal
- Tiempo de cocción
- Tiempo de reposo
- Enjuague
- Limpieza del grano

Las variables detectadas en el almacenamiento, fueron las siguientes:

- Tiempo de almacenamiento
- Lugar de almacenamiento
- Tipo de maíz

ANEXO 8

ANÁLISIS DE HUEVO

Para conocer la procedencia de este alimento en la comunidad, se incluyeron preguntas al cuestionario relacionadas al consumo de huevo. De las 30 mujeres encuestadas, el 30% tenía gallinas propias y por lo tanto el abasto de huevo provenía de las mismas. De este porcentaje, el 60% utiliza un alimento preparado especialmente para gallinas, el cual compran en la cabecera Municipal. El resto las alimenta con maíz, masa y sobras de alimentos. Bajo este supuesto, era entonces conveniente que las muestras de huevo se obtuvieran en la misma fecha que las tortillas.

En la fecha en que se aplicó el cuestionario, el 70% de las familias compraban el huevo en la tienda de abarrotes de la comunidad, que a su vez se abastece de la cabecera Municipal y de Tanlajás. En el primer semestre del 2015, casi el 100% de las familias tenían gallinas propias, ya sean las llamadas “ponedoras” o las que denominan “de patio”. Las primeras fueron donadas por SEDESOL y se les da alimento preparado para asegurar que produzcan con mayor frecuencia.

Para la comunidad de Bocas, se encontró que cerca del 50% consumen huevo de gallinas de patio o gallinas productoras locales; es decir, compran los huevos a familias en lugar de comprarlos en la tienda. De esta manera se obtuvieron tres tipos de huevo en la comunidad, aunque falta conocer a profundidad el origen de las gallinas y su alimentación.

ANEXO 9

INFORMACIÓN PARA LA POBLACIÓN BUENAS PRÁCTICAS DE ALMACENAMIENTO

1. Secar

Los niveles de humedad al momento de la cosecha deben ser bajos para almacenar las mazorcas. Puede secar al sol para eliminar humedad, pero debe tener cuidado del sitio sobre el cual coloca el maíz, ya que puede contaminarse en el suelo.

2. Limpiar

Siempre que sea posible, dedique tiempo en detectar mazorcas o granos fracturados, dañados, golpeados o infectados con hongos. Observe si hay presencia de gorgojos u otros insectos. Estos granos dañados pueden favorecer a la contaminación de los granos que se encuentran saos y en buenas condiciones para el consumo.

3. Proteger

Una vez limpio el maíz, almacene en un contenedor adecuado. Es ideal que se encuentre en un lugar con temperatura constante y protegido de la humedad exterior.

- Si utiliza costales, verifique que el costal esté libre de insectos y tierra. Coloque el costal sobre una base para evitar que esté en contacto directo con el suelo. Mantenga lejos de ventana directa para proteger del sol, la lluvia y animales.
- Si utiliza el tapanco para almacenar las mazorcas, evite el acceso a ratones y aves, ya que pueden dañar los granos y favorecer la contaminación por hongos.

4. Inspeccionar

Si almacena el maíz por más de 15 días, haga inspecciones a los contenedores, costales o tapancos para detectar problemas de contaminación.

Otras medidas

- Si almacena granos de maíz en contenedores, puede usar cal para prevenir la contaminación por hongos e insectos.
- Si almacena mazorcas colgadas, asegúrese de limpiar correctamente antes del consumo, para evitar consumir el hollín que se acumula en el maíz.
- Si se moja el maíz, trate de secarlo lo antes posible para poder almacenarlo otra vez y evitar contaminación.

RECUERDE QUE: Los hongos pueden contaminar el maíz fácilmente cuando hay daños en el maíz. Los insectos y roedores pueden dañar los granos y comenzar la contaminación. Cuide sus alimentos para evitar la contaminación.