

T
1125

 XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

23925

123925



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE SUSTANCIAS
PROPIAS Y EXTRAÑAS DE LECHE CRUDA,
ORGÁNICA Y CONVENCIONAL

T E S I S

(Idónea Comunicación de Resultados)
Que para obtener el grado de
Maestra en Ciencias Agropecuarias

P R E S E N T A

M.V.Z. Pamela Berenice Rosell Chávez

COMITÉ TUTORAL

DIRECTOR:

DR. SALVADOR VEGA Y LEÓN

ASESORES:

DR. REY GUTIÉRREZ TOLENTINO

DR. GILBERTO DÍAZ GONZÁLEZ

México, D.F. Diciembre 2010.

*Dos caminos se bifurcan en la floresta ocre,
y sentí no poder tomar ambos
siendo yo un solo caminante; mucho estuve
observando uno de ellos hasta que torcia
allá, en la maleza inaccesible.*

*Me fijé entonces en el otro, similar,
acaso con mayores atractivos,
pues su forraje invitaba a ser andado;
aunque, a decir verdad, el paso allí
les había hecho el mismo estrago.*

*Allí estaban de iguales esa mañana
con hojas que las pisadas no habían marchitado.
¡Oh, dejaré el primero para otra ocasión!
Mas, sabiendo que un camino conduce a otro,
no sé si volveré a pasar por aquí.*

*He de repetir esto con un suspiro,
siglo tras siglo en algún sitio:
dos caminos se bifurcan en la floresta, y yo
tomé de ellos el más virgen.
Eso marcó la diferencia.*

Robert Lee Frost

Agradecimientos

Primero que nada, quiero agradecer a ese ser divino que siempre me acompaña, me cuida y me da la fuerza necesaria para luchar por alcanzar mis sueños y las metas que me propongo.

A mis padres Carmen y Manuel por todo su amor, su apoyo, su comprensión, su atención que siempre me han brindado y por enseñarme el valor de la vida, pero sobre todo por dejarme aprender a volar sola y confirmar que vale la pena soñar.

A mis hermanos Jon y Gaby por su amor y porque de una forma particular sembraron en mí, el deseo de superarme personal y profesionalmente. Agradezco a la vida por tener la familia tan maravillosa con la que comparto cada día, "los quiero".

Al Dr. Salvador Vega y León por la orientación, el estímulo y el apoyo brindado en todo momento. Al Dr. Rey Gutiérrez Tolentino por su apoyo, su compromiso y sus consejos, pero sobre todo por haber creído y confiado en mí.

A la M en C. Acacia Ramírez, a la M en C. Beatriz Schettino y a la profesora Irma Escobar por su apoyo académico y moral. A todos mis compañeros del Laboratorio de Análisis Instrumental (Fátima, Karina, Jesús, Rutilio y Lulú) que me ayudaron para hacer posible la conclusión de ésta tesis.

Índice

Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Capítulo 1. Antecedentes	6
1.1 Producción de leche	6
1.1.1 Sistemas de producción	7
1.2 Producción orgánica	8
1.2.1 Producción de leche orgánica	9
1.3 Composición de la leche cruda de bovino	9
1.3.1 Factores que afectan la composición de la leche	12
1.4 Adición de agua en la leche	13
1.5 Residuos y contaminantes en leche	14
1.5.1 Micotoxinas	15
1.5.2 Aflatoxinas	15
1.5.2.1 Aflatoxina B1	16
1.5.2.2 Aflatoxina M1	17
1.6 Fundamentos de las técnicas analíticas empleadas	17
1.6.1 Espectroscopia de infrarrojo (Milko-scan)	17
1.6.2 Crioscopia	18
1.6.3 Cromatografía	18
1.6.3.1 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	19
Capítulo 2. Metodología general	20
2.1 Esquema general de la metodología	20
2.2 Zonas de estudio	20
2.3 Toma de muestras	21
2.4 Conservación de muestras	22
2.5 Análisis de características físicas de la leche	22
2.5.1 Determinación de pH	22
2.5.2 Determinación de acidez	22
2.6 Análisis de características químicas de la leche	23
2.6.1 Análisis de grasa, proteína, lactosa, sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) por espectroscopia de infrarrojo	23
2.6.2 Determinación de caseína	24
2.7 Análisis para la determinación de sustancias extrañas en leche	24
2.7.1 Determinación del punto crioscópico	24
2.7.2 Determinación de aflatoxina M1 en leche por HPLC	25
2.8 Análisis estadístico de los datos obtenidos	29
Capítulo 3. Resultados y discusión	30
3.1 Características físicas de la leche	30
3.1.1 Leche convencional	30
3.1.2 Leche orgánica	31
3.2 Composición de la leche	32
3.2.1 Leche convencional	32
3.2.2 Leche orgánica	34
3.3 Sustancias extrañas en la leche	36

3.3.1 Adición de agua en la leche	36
3.3.1.1 Leche convencional	36
3.3.1.2 Leche orgánica	38
3.3.2 Aflatoxina M1	39
3.3.2.1 Leche convencional	41
3.3.2.2 Leche orgánica	42
3.4 Conclusiones	43
Capítulo 4. Recomendaciones	44
Bibliografía	45
Anexos	54

Índice de tablas

1 Producción anual de leche de bovino en México	6
2 Especificaciones de leche entera de acuerdo a la NOM-155-SCFI-2003	13
3 Características físicas de la leche cruda proveniente de Tizayuca, Hidalgo	30
4 Características físicas de la leche cruda orgánica proveniente de Tuxpan, Veracruz	31
5 Composición de la leche cruda proveniente de Tizayuca, Hidalgo	32
6 Composición de la leche cruda orgánica proveniente de Tuxpan, Veracruz	34
7 Punto crioscópico en muestras de leche convencional producida en Tizayuca, Hidalgo	37
8 Punto crioscópico en muestras de leche orgánica producida en Tuxpan, Veracruz	38
9 Frecuencia de ocurrencia de AFM1 en leche cruda orgánica y convencional por intervalo de concentración (LMP= 0.5µg/Kg)	39
10 Frecuencia de ocurrencia de AFM1 en muestras de leche cruda orgánica y convencional en relación a la época del año (LMP=0.5 µg/Kg)	40

Índice de figuras

1	Estructura química de la aflatoxina B1	16
2	Estructura química de la aflatoxina M1	17
3	Metodología general	20
4	Ubicación geográfica del municipio de Tizayuca, Hidalgo	21
5	Ubicación geográfica del municipio de Tuxpan, Veracruz	21
6	Determinación de aflatoxina M1 en leche por cromatografía de líquidos de alta resolución	25
7	Perfil cromatográfico del estándar de la aflatoxina M1 derivatizada [1µg/ml], volumen de inyección 50µl	28
8	Perfil cromatográfico de muestra de leche cruda sin presencia de aflatoxina M1, volumen de inyección 50µl	28
9	Perfil cromatográfico de muestra de leche cruda contaminada con aflatoxina M1, volumen de inyección 50µl	29
10	Composición de la leche convencional proveniente de Tizayuca, Hidalgo	34
11	Composición de la leche orgánica proveniente de Tuxpan, Veracruz	36
12	Punto crioscópico en muestras de leche cruda convencional de Tizayuca, Hidalgo	37
13	Punto crioscópico en muestras de leche cruda orgánica de Tuxpan, Veracruz	39
14	Medianas y percentiles para el contenido de AFM1 en muestras de leche cruda orgánica y convencional	40
15	Contenido de aflatoxina M1 en leche cruda convencional de Tizayuca, Hidalgo	41
16	Contenido de aflatoxina M1 en leche cruda orgánica de Tuxpan, Veracruz	42

Índice de abreviaturas

AFB1: Aflatoxina B1
AFM1: Aflatoxina M1
AOAC: Asociación de Químicos Analíticos Oficiales
CCFAC: Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos
CCS: Cuenta de células somáticas
COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos
FAO: Organización Mundial para la Agricultura y la Alimentación
FIL: Federación Internacional de Lechería
g: Gramos
G: Gravedades
HPLC: Cromatografía de líquidos de alta resolución
HPTLC: Cromatografía de capa fina de alta resolución
IARC: Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer
INEGI: Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática
IR: Infrarrojo
IUPAC: Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
LMR: Límite máximo de residuo
L: Litro
LOQ: Límite de cuantificación
µg: Microgramo (10^{-6} g)
mL: Mililitro
µL: Microlitro (10^{-6} L)
m/m: Relación masa sobre masa
N: Normalidad
nm: Nanómetro (10^{-9} m)
NOM: Norma Oficial Mexicana
OMS: Organización Mundial de la Salud
OPS: Organización Panamericana de la Salud
P.C: Punto Crioscópico
pH: Potencial de hidrógeno
ppb: Partes por billón ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)
(p/v): Relación peso a volumen
QLIF: Proyecto de ingreso de alimentos de baja calidad
RILAA: Red Interamericana de Laboratorios de Análisis de Alimentos
seg: Segundos
SNG: Sólidos no grasos
Spp: Especies
ST: Sólidos totales
TFA: Ácido Trifluoracético
v/v: Relación volumen a volumen
°C: Grados Celsius
°H: Grados Horvet

RESUMEN

En los últimos años el aseguramiento de la calidad e inocuidad de los alimentos se ha convertido en un tema de gran importancia para la población humana. Las cualidades nutritivas de la leche y sus derivados la sitúan entre los alimentos básicos por excelencia, y su calidad se refiere al ajuste de especificaciones establecidas basadas principalmente en su composición física y química, además de cualidades sensoriales y microbiológicas. La calidad de la leche puede afectarse por la adición de agua, adición de conservadores o neutralizantes, adición de suero de proteína, etc. Estas adulteraciones ocurren en cualquier etapa de la producción. La inocuidad de la leche es la condición que garantiza que no causara daño al consumidor y puede ser afectada por la contaminación de los alimentos y el agua que ingiere la vaca o bien, por el uso de materiales inadecuados en la producción lechera. La leche puede estar contaminada con aflatoxinas que son metabolitos secundarios producidos por algunas especies del género *Aspergillus* en condiciones de humedad y temperaturas elevadas. La aflatoxina M1 (AFM1) es excretada en la leche de los animales que han ingerido alimento contaminado con aflatoxina B1 (AFB1). La AFM1 es considerada la de mayor acción tóxica para los humanos. El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades físicas (acidez y pH) y químicas (grasa, proteína, lactosa, sólidos totales, sólidos no grasos y caseína), así como la presencia de sustancias extrañas (agua y aflatoxina M1) de muestras de leche cruda orgánica y convencional durante épocas de lluvias y seca. Se analizaron 11 muestras de leche cruda orgánica y 12 muestras de leche cruda convencional, provenientes de los municipios de Tuxpan, Veracruz y de Tizayuca, Hidalgo, respectivamente durante un año. Se observó el efecto de la época del año en la calidad e inocuidad de la leche. Se empleó espectrofotometría de infrarrojo y otras técnicas analíticas de laboratorio aprobadas por la Federación Internacional de Lechería (FIL) para el análisis de propiedades físicas y químicas, la técnica de crioscopia para la detección de adición de agua, y cromatografía de líquidos de alta resolución para la determinación de AFM1 en ambos tipos de leche cruda. Los resultados mostraron que no existió diferencia significativa ($P>0.05$) en los componentes de la leche convencional en época de lluvia y seca. En la leche orgánica se observó efecto de la época de seca en el porcentaje de lactosa ($P<0.05$), al igual que el porcentaje de acidez durante la época de lluvia, presentando disminución de los valores. Las medias del punto crioscópico de las muestras de leche convencional y orgánica analizadas (-0.545 y -0.546°H , respectivamente) cumplieron con los límites establecidos en la norma oficial mexicana para leche (FIL-IDF 108 B: 1991), sin embargo se observaron 5 muestras con valores fuera de los límites, debido a la posible adición de agua y al crecimiento bacteriano. No se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$), por lo que la época del año no tuvo efecto sobre el punto crioscópico de la leche. El 54.55% de las muestras de leche orgánica y el 50% de las muestras de leche convencional sobrepasaron los límites máximos permisibles (LMP) de AFM1, establecidos en México ($0.5\mu\text{g}/\text{Kg}$). Las medianas de AFM1 de las muestras de leche orgánica y leche convencional fueron 0.5300 y $0.5050\mu\text{g}/\text{Kg}$, ligeramente por arriba del LMP.

ABSTRACT

In recent years the quality assurance and food safety has become a topic of great importance to the human population. The nutritional qualities of milk and dairy products are among the basic food par excellence, and as regards the adjustment of specifications established based mainly on their physical and chemical composition, as well as sensory and microbiological qualities. The milk quality can be affected by the addition of water and chlorides, addition of preservatives or neutralizing, the addition of whey protein, etc. These alterations to occur at any stage of production. The safety of milk is the condition that guarantees that will not cause harm to the consumer and may be affected by the contamination of food and water to eat the cow or by the use of inappropriate materials in milk production. Milk may be contaminated aflatoxin which are secondary metabolites produced by certain species of the genus *Aspergillus* in wet conditions and high temperatures. Aflatoxin M1 (AFM1) is excreted in the milk of animals that have eaten feed contaminated with aflatoxin B1 (AFB1). The AFM1 is considered the most toxic action for humans. The aim of this study was to evaluate the physical properties (acidity, and pH) and chemical (fat, protein, lactose, total solids, solids non-fat and casein), and the presence of foreign substances (water and aflatoxin M1) samples organic and conventional raw milk. We analyzed 11 samples of organic raw milk and 12 samples of conventional raw milk, from the towns of Tuxpan, Veracruz and Tizayuca, respectively for a year. Noted the effect of season on quality and safety of milk. We used infrared spectrometry and other analytical techniques laboratory approved by the IDF for the analysis of physical and chemical properties, cryoscopy technique for the detection of added water, and high performance liquid chromatography for determining resolution in both AFM1 types of raw milk. The results showed no significant differences ($P > 0.05$) in the conventional milk components during the rainy season and dry. In the milk produced under organic production system showed that the season had an effect on fat percentage and total solids ($P < 0.01$) a decrease in these values in the rainy season, as the content of lactose in the dry season with a significant difference of 95% ($P < 0.05$). The means of the cryoscopic point of the samples analyzed organic and conventional milk (-0545 and -0553 °H, respectively) met the limits established in the Mexican Official laws for milk (FIL-IDF 108 B: 1991), however there were six samples with values outside the limits, collected in the rainy season, due to the possible addition of water, increasing the percentage of acidity of milk, the presence of microorganisms. There were no significant differences ($P > 0.05$), so that the season had no effect on the cryoscopic point of milk. The 54.55% of the organic milk samples and 50% of conventional milk samples exceeded the maximum permissible limits (LMP) for AFM1 established in Mexico (0.5µg/Kg) Median organic milk samples was 0.5300 mg/kg and is at 6% above the PML, while the median of conventional milk samples was 0.5050 mg/kg and is 1% above 0.5 mg/kg.

INTRODUCCIÓN

El aseguramiento de la calidad e inocuidad de los alimentos se ha constituido en los últimos años en una meta importante de acción internacional y nacional, y resultan preocupantes tanto los peligros microbiológicos como los químicos. Entre los peligros químicos, la Organización Mundial de la Salud ha establecido a la contaminación de los alimentos y de las raciones para los animales con micotoxinas, entre otros (FAO, 2004).

La calidad e inocuidad de los alimentos es un tema que preocupa e interesa a la población humana y la sociedad demanda alimentos cada vez más variados, sanos y nutritivos para cubrir sus necesidades y que contribuyan a mejorar su calidad de vida. La calidad de los alimentos que consume la población se encuentra condicionada por su origen y procedencia (Espinosa y col., 2007). Entre los alimentos, la composición nutrimental de la leche, después del huevo de gallina es la más completa y equilibrada para el organismo humano (González, 2005).

En la actualidad se observan dos formas de producción de leche, la orgánica y la convencional. Los productos orgánicos se pueden definir como derivados de un sistema de producción que utiliza insumos naturales y prohíbe el uso de plaguicidas, fertilizantes sintéticos, antibióticos y transgénicos (FAO, 1999). Mientras que en la agricultura convencional se utilizan métodos, técnicas e insumos que pueden provocar contaminación y degradación del suelo, agua, biodiversidad y medio ambiente, así como el uso de productos químicos de síntesis industrial (NOM-037-FITO-1995).

El modelo de agricultura convencional adoptado desde la década de los cincuenta del siglo pasado, se fundamenta en un sistema de producción de alta eficiencia, dependiente del empleo de insumos sintéticos, donde el manejo de monocultivos se justifica como herramienta fundamental para lograr la mayor eficacia del proceso productivo (Espinosa y col., 2007). En los años ochenta del siglo pasado, se establecieron algunas granjas orgánicas y se inició la venta de alimentos orgánicos a las cadenas cooperativas de los supermercados, lo cual representó un gran apoyo para los productores agropecuarios (Vega y col., 2006).

La agricultura orgánica representa el tres por ciento del área total utilizada en la agricultura mundial (Perea, 2007), por lo tanto todavía es una pequeña rama de actividad económica, pero está adquiriendo creciente importancia en el sector agrícola de algunos países, independientemente de su estado de desarrollo (FAO, 1999). En el 2007 la producción y las exportaciones de alimentos obtenidos orgánicamente aumentaron un 25-30 % en todo el mundo (Perea, 2007). Aunque la venta de productos orgánicos representa menos del dos por ciento del mercado mundial de alimentos, estos productos han atraído la atención de gobiernos, productores, operadores del mercado, consumidores y medios de información (García, 2001), por lo que ha llegado a representar una parte significativa del sistema alimentario: 10% en Austria, 7.8% en Suiza y en países como Estados Unidos, Francia, Japón, Singapur, entre otros, se están registrando tasas de crecimiento anual superiores al 20% (FAO, 1999).

Los alimentos denominados orgánicos tienen la característica de ser más caros que los convencionales, se han detectado alimentos que cuestan el doble o más. En Europa, el sobreprecio que paga el consumidor por los productos orgánicos con respecto a los mismos productos convencionales es superior al de otros países, en el caso de la leche es hasta del 42% superior (García, 2001).

Como parte de esta tendencia, México se encuentra en un proceso de desarrollo de sistemas de producción orgánica y de nuevas maneras para la comercialización de estos productos, debido principalmente a que por lo general alcanzan un precio 30-50% más alto que los productos convencionales. Por ejemplo, la leche orgánica tiene un precio mayor a \$25.00 por litro, mientras que el litro de leche convencional cuesta \$13.00. México al inicio del milenio ocupaba el decimoquinto lugar mundial en la producción de alimentos orgánicos (García, 2001), y poco a poco se están integrando los pequeños productores, mediante la participación y promoción de organizaciones no gubernamentales (Espinosa y col., 2007). En México la producción orgánica se comenzó a desarrollar rápidamente en la década de los noventa del siglo pasado. En el caso de la producción de leche orgánica su desarrollo ha sido lento; sin embargo en el mercado de la ciudad de México ya existían en el 2007 cuatro marcas de leche orgánica (Perea, 2007).

Los datos financieros sobre las diferencias de los productos orgánicos respecto a los convencionales, así como el crecimiento constante de la producción orgánica, supondrían características de mayor aprecio. En los productos orgánicos, como mayor contenido de nutrimentos y sustancias funcionales y, menor contenido de sustancias indeseables como plaguicidas, metales y aflatoxinas, entre otros. Algunos trabajos han tratado de explicar la presencia de éstas sustancias en los alimentos, para el caso particular de la leche, Espinosa y col., (2007) informan, que la leche orgánica, es más propensa a contaminarse por micotoxinas derivadas de mohos que la leche convencional, ya que la primera no ha sido tratada con agentes químicos para el control de dichos organismos. La leche puede ser contaminada por micotoxinas, de las cuales las más importantes son las aflatoxinas (Oliveira y col., 2006). Las aflatoxinas son producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, mohos que pertenecen a la flora de almacenamiento (Gimeno y Martins, 2003).

Existen hasta el momento, 18 tipos de aflatoxinas de las cuales las más tóxicas son la aflatoxina B1 (AFB1) y la aflatoxina M1 (AFM1) (Gimeno, 2000). La AFM1, es un hepatocarcinógeno encontrado en la leche de los animales y está considerado como posible carcinógeno humano de importancia para la salud humana (Oliveira y col., 2006).

El consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas por animales productores de leche representa un riesgo potencial a la salud pública, particularmente en la población infantil, debido a la eliminación de la AFM1 en leche (Reyes y col., 2009). La AFB1 es metabolizada a AFM1 por enzimas encontradas primariamente en el hígado. Luego que la AFM1 es formada, es excretada en la orina y la leche (Gimeno, 2000).

Resumiendo, la leche tanto convencional como orgánica debe proveer a la población nutrimentos de primera calidad que contribuyan a su crecimiento y desarrollo y además estar libre de sustancias extrañas que pongan en peligro la salud de los consumidores, por lo que es deseable determinar la influencia de efectos como el origen y época del año que afectan la composición propia de la leche y la presencia de sustancias ajenas como agua y aflatoxina M1.

El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades físicas de la leche (acidez y pH) y la composición de sustancias propias (grasa, proteína, lactosa, sólidos totales, sólidos no grasos y caseína), y la presencia de sustancias extrañas (agua y aflatoxinas) de muestras de leche cruda orgánica y convencional, mediante espectrofotometría de infrarrojo y otras técnicas aprobadas por la Federación Internacional de Lechería (FIL), considerando dos sistemas de producción diferentes, uno convencional y otro de tipo orgánico, así como el efecto de la época del año sobre las variables físicas y químicas.

Capítulo 1. ANTECEDENTES

1.1 Producción de leche

La producción de leche bovina es una de las ramas de la ganadería de mayor relevancia a nivel nacional e internacional, ya que juega un papel fundamental dentro de la economía del sector primario e industrial. La producción de leche se hace con la expresa intención de proporcionar un alimento de composición nutrimental adecuada para la población humana, pero para que la leche cumpla con lo anterior debe reunir una serie de requisitos asociados a sus características físicas, a su composición química, cualidades sensoriales y número de microorganismos presentes (Vargas, 2001), así como ausencia de contaminantes tóxicos como aflatoxinas.

En 1997 en la sede de la Organización Panamericana de la Salud se llevó a cabo una reunión de consulta con la intención de establecer una Red Interamericana de Laboratorios de Análisis de Alimentos (RILAA), la cual tendría la misión de promover el aseguramiento de la inocuidad y calidad de los alimentos en la región de América, con la intención de prevenir las enfermedades que se transmiten por los mismos, al mismo tiempo que se protege la salud del consumidor y se facilita el comercio, dentro del marco de los programas nacionales integrados de protección de los alimentos (COFEPRIS, 1999).

En México, de acuerdo a cifras del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), con información de la SAGARPA se presenta en la tabla 1, la producción nacional de leche de bovino.

Tabla 1
Producción anual de leche de bovino en México

Año	Producción (en millones de litros)
2000	9 mil 311
2001	9 mil 472
2002	9 mil 658
2003	9 mil 784
2004	9 mil 864
2005	9 mil 868
2006	10 mil 88
2007	10 mil 346
2008	10 mil 589
2009	10 mil 592

Fuente: SIAP, 2010.

1.1.1 Sistemas de producción

En la actualidad se desarrollan diferentes sistemas de producción lechera dependiendo de las condiciones agroecológicas que se presentan en cada sector (Jahn, 1996), como: el de doble propósito, el familiar, el intensivo, el semintensivo y el extensivo.

Sistema de doble propósito: En este sistema predominan las razas Cebuñas y sus cruces, y el ganado sirve tanto para la producción de carne como de leche. El manejo del ganado se da en forma extensiva, confinándose a los animales en corrales solo durante la noche, su alimentación se basa en el pastoreo y con un mínimo de complementos en alimentos concentrados. El ordeño es manual (INEGI, 2007a).

Sistema tipo familiar o de traspatio: Se limita a pequeñas extensiones de terreno, cuando se ubican cerca de la vivienda se denomina de traspatio. Las razas varían desde Holstein y Suizo Americano y sus cruces, la alimentación se basa en el pastoreo o en el suministro de forrajes y esquilmos provenientes de los que se producen en la misma granja (INEGI, 2007a).

Sistema intensivo o confinamiento absoluto: Las características de este sistema son que las vacas permanecen en confinamiento absoluto desde su nacimiento hasta la venta, que en condiciones normales se realiza a una edad aproximada de siete años. Requieren alimentos como forraje de buena calidad fresco o conservado y alimentos concentrados en la dieta. En el confinamiento total, los costos de maquinaria e infraestructura son altos, pero se contrarrestan con los altos niveles de producción obtenidos (FAO, 1998).

Sistema semintensivo o mixto: Este sistema es altamente dependiente de la conservación del forraje por lo que presenta una baja estacionalidad. Ocasionalmente, se usan praderas de riego. La estabulación es esporádica, sin superar los seis meses, por lo cual sus niveles de inversión son más bajos en infraestructura. El manejo es con pastoreo directo en el periodo otoño-primavera-verano y en confinamiento en los meses de invierno. La alimentación se basa en praderas, y se suplementa con concentrados durante las épocas de pastoreo y en forraje conservado (heno y ensilaje), y concentrados durante el invierno (FAO, 1998).

Sistema extensivo o pastoril: Se basa en la utilización de especies ganaderas de interés zootécnico capaces de aprovechar eficazmente los recursos naturales mediante el pastoreo. En general estas especies ganaderas están adaptadas a los factores limitantes y ecológicos del medio en el que se desarrollan (Bellido y col., 2001). Los niveles de producción son más bajos que en los otros sistemas, ya que la alimentación se basa ciento por ciento en la pradera, con una adecuada fertilización y un buen manejo del pastoreo, se pueden lograr producciones competitivas. El confinamiento es ocasional, dependiendo del invierno, y muchas veces sólo ocurre de noche (FAO, 1998).

1.2 Producción orgánica

Todo lo relacionado con la producción orgánica se identifica, tanto a nivel nacional como internacional, como: orgánico, ecológico o biológico. El término "orgánico" conceptualiza al establecimiento agropecuario como un organismo en el cual todos sus componentes interactúan para crear un todo estable y coherente. La denominación de "ecológico" hace referencia al enfoque del ecosistema, promoviendo su autosuficiencia, el uso de tecnologías de proceso y la minimización de insumos externos. La palabra "biológico" se refiere a que estos sistemas se basan fundamentalmente en la exaltación de sus procesos biológicos (Comerón y Salto, 2000).

Los productos orgánicos se pueden definir como productos derivados de un sistema de producción que utiliza insumos naturales y prohíbe el uso de plaguicidas, fertilizantes químicos, antibióticos y transgénicos, es decir que están libres de residuos y contaminantes (Campos, 2004). Aunque se sabe que, de acuerdo al Codex Alimentarius, no existe un alimento libre de residuos y contaminantes (FAO y OMS, 2003)

La ganadería orgánica es un sistema holístico de gestión de la producción que mejora y fomenta la salud de los agroecosistemas y la salud de los animales, así como la calidad de los alimentos de origen animal (Brunnet y col., 2003).

La preocupación por los consumidores de adquirir un producto de calidad y además inocuo, ha generado que la producción orgánica ya no sea considerada como una moda, sino como una realidad tangible de oferta de productos sanos para los consumidores y una actividad rentable para los productores (Comerón y Salto, 2000).

En la actualidad existen 15 agencias a nivel mundial certificadas para productos orgánicos que pueden dar su sello una vez que éste haya pasado estrictos estándares de calidad; entre éstas: Certimex (México), Naturland (Alemania), IMO Control (Suiza), QAI (EU), Bioagricert (Italia), y Demeter (Alemania).

Entre los principales países productores de alimentos orgánicos se encuentran: la mayoría de los integrantes de la Comunidad Europea, Australia, Canadá, Estados Unidos, y Japón, que generan el 76% de la producción total mundial. En estos países, los alimentos orgánicos certificados se venden generalmente a precios más altos que los alimentos convencionales. Por consiguiente, además de su reconocido carácter inocuo para el medio ambiente, la agricultura orgánica ofrece oportunidades de mercado alentadoras (Perea, 2007).

En México los estados de Chiapas y Oaxaca son los principales productores y exportadores de productos orgánicos con un 43 y 27% de la producción total, respectivamente. La gran mayoría se dedica al cultivo del café, pero también se producen especias, hortalizas, leche, maguey, maíz, mango, manzana, naranja, entre otros (Ñuñoa, 2008).

En el 2004 el proyecto Quality Low Input Food (QLIF) fue creado para ampliar y profundizar la comprensión sobre calidad de los alimentos orgánicos. El QLIF es un proyecto que pretende apoyar la investigación y el desarrollo en sistemas de calidad, en la seguridad alimentaria y en la eficiencia de métodos de producción orgánica (Bergamo y col., 2005). El mercado de productos lácteos orgánicos se encuentra en plena expansión debido al incremento de las innovaciones técnicas así como a las campañas publicitarias emprendidas, sobre todo en naciones europeas (Vega y col., 2006).

1.2.1 Producción de leche orgánica

La producción de leche orgánica se define como un complejo ganadero que aspira a producir leche con buena composición nutrimental, practicando métodos de producción que rechazan el uso de agroquímicos (Perea, 2007), basada en normas específicas y precisas, cuya finalidad es lograr un sistema óptimo de producción, sostenible desde el punto de vista social, ecológico y económico (Vallone y col., 2006).

La producción de leche orgánica se basa generalmente en vacas de razas lecheras con un alto potencial genético, al igual que en las granjas convencionales. Sin embargo la agricultura orgánica es una estrategia de desarrollo que trata de cambiar algunas de las limitaciones encontradas en la producción convencional. La salud y el bienestar de los animales son componentes elementales de un sistema de producción orgánica (Espinosa y col., 2007) y que además fomenta agroecosistemas óptimos que sean sostenibles desde el punto de vista social, ecológico y económico (FAO, 1999).

En México y en el mundo, no existe un marco regulatorio para la producción de leche orgánica, así como tampoco hay en la actualidad evidencias científicas que demuestren que la leche orgánica sea más sana y nutritiva en comparación con la producida de forma convencional (Vega y col., 2004).

La leche orgánica, es la proveniente de vacas que pastan en forma libre en praderas naturales en donde no se utilizan plaguicidas ni herbicidas. Las vacas no están sometidas a estrés ni son tratadas con hormonas ni antibióticos. Este producto no contiene conservadores, colorantes ni saborizantes artificiales (Godínez, 2007).

1. 3 Composición de la leche cruda de bovino

La calidad de la leche, como de cualquier otro producto o insumo se refiere al ajuste del mismo a las especificaciones establecidas. La conforman tres aspectos bien definidos: composición físico química, cualidades sensoriales y microbiológicas todas éstas establecidas por las normativas legales vigentes para leche cruda (Vargas, 2001).

La leche es un líquido de composición compleja y está compuesto por: agua, grasa, proteínas (caseína, albúmina y globulina), lactosa, sales minerales, vitaminas, entre otros (Pineda, 2007).

Agua: En todos los animales el agua es el nutrimento requerido en mayor cantidad y la leche suministra un gran cantidad de ella (90% aproximadamente) (González, 2005). El agua es la fase dispersante, en la cual los glóbulos grasos y demás componentes de mayor tamaño se encuentran emulsionados o suspendidos. El punto de congelación se relaciona con el contenido de la lactosa y sales disueltas (Agudelo y Bedoya, 2005). La cantidad de agua en la leche es regulada por la lactosa que se sintetiza en las células secretoras de la glándula mamaria. El agua que va en la leche es transportada a la glándula mamaria por la corriente circulatoria (González, 2005).

Grasa: La materia grasa se encuentra en emulsión y el 98% de ella está constituida por triacilglicéridos (una molécula de glicerol con tres ácidos grasos). Según la longitud de la cadena, los ácidos grasos se clasifican en ácidos grasos de cadena corta (4-12 átomos de carbono), los de cadena media (14-16 átomos de carbono) y los de cadena larga (18-22 átomos de carbono).

La leche bovina contiene desde 3% hasta un 6% de grasa (Godínez, 2007), la concentración de la materia grasa de la leche y su composición están sujetas a importantes variaciones, explicadas en gran medida, por factores alimenticios, sanitarios y genéticos (INTA, 2002).

La grasa es el componente más variable entre razas, la raza que produce leche con mayor contenido de grasa es la Jersey (Morales y María, 1999).

Proteínas: Las proteínas constituyen una suspensión y su contenido en la leche es de 3.5% variando desde 2.9 hasta 3.9% (Agudelo y Bedoya, 2005). El porcentaje está influenciado por la raza de la vaca y en relación con la cantidad de grasa en la leche, es decir, cuanto mayor es la cantidad de grasa, mayor es la cantidad de proteína (Ralph, 1998).

Las proteínas se clasifican en dos grupos: caseínas (80%) y proteínas séricas (20%). Cada proteína está conformada por bloques de aminoácidos en diferente orden (González, 2005).

La *caseína* es la proteína más abundante e importante, además de ser una característica propia de la leche por no encontrarse en otros alimentos. El valor biológico de la caseína en la alimentación obedece a su contenido en aminoácidos indispensables que se separan de la parte acuosa (Agudelo y Bedoya, 2005), y es relativamente constante a lo largo de la lactancia y entre razas lecheras. Existe una disminución de este porcentaje durante los primeros días de la lactancia debido al contenido elevado en inmunoglobulinas en el calostro (INTA, 2002).

Las caseínas contienen fósforo y se encuentran casi siempre en forma de micelas y precipitan a un pH de 4.6. Se conocen seis tipos de caseínas: alfa s1,

alfa s2, beta, gamma, kappa y lambda (Galindo y col., 2006; Agudelo y Bedoya, 2005).

Dentro de las proteínas también se encuentra la albúmina y la globulina. La *albumina* es la proteína de la leche que sigue en cantidad a la caseína (0.5%) y se desnaturaliza con facilidad al calentarla, por lo cual en la pasteurización se pierde gran parte de la proteína sérica.

Las *globulinas* presentan mayores fluctuaciones en el transcurso de la lactación, desde 9% a 16% del total de las proteínas, que es la tasa que puede alcanzar en el calostro (Agudelo y Bedoya, 2005).

El comportamiento de los diferentes tipos de caseína en la leche al ser tratada con calor y pH diferente y concentraciones de sal variables, proveen las características de los quesos, los productos de leche fermentada y las diferentes formas de leche como la condensada, en polvo, entre otras (González, 2005).

La raza Jersey y Guernsey producen leche con mayores porcentajes de proteína total (caseína y suero) (Morales y María, 1999).

Lactosa: es un disacárido exclusivamente de la leche de los mamíferos y es sintetizada en la ubre a partir de la glucosa sanguínea; sin embargo es el hidrato de carbono más lábil frente a la acción microbiana (INTA, 2002).

La principal función biológica de la lactosa es la regulación del contenido de agua en la leche y así la regulación del contenido osmótico y por ende la lactosa es el componente más constante de la leche (Morales y María, 1999). En la leche bovina existen pequeñas concentraciones de monosacáridos incluyendo glucosa y galactosa, oligosacáridos neutros y ácidos, así como los hidratos ligados a las proteínas (Ralph, 1998).

La lactosa, las sales minerales y otras sustancias nitrogenadas se encuentran disueltos en la leche (INTA, 2002).

Sales minerales: la leche es una fuente excelente de sales minerales, ya que contiene principalmente calcio, magnesio, sodio, potasio, fosfato, manganeso, hierro, cobalto, cobre, yoduros y fluoruros (Godínez, 2007; Agudelo y Bedoya, 2005), además de cloruro y citrato. Las concentraciones de hierro en la leche son bajas y no alcanzan a satisfacer las necesidades del consumidor, pero su concentración limita el crecimiento bacteriano en la leche.

La digestibilidad del calcio y fósforo es alta, en parte debido a que se encuentran en asociación con la caseína de la leche. (González, 2005), además de verse influenciado por la época del año. En época de seca la leche es más pobre en cobre, que en época de lluvia (Agudelo y Bedoya, 2005).

Las sales minerales están en una concentración de aproximadamente 7 a 9 g/Kg (0.7%), esta fracción tiene una gran importancia nutricional y tecnológica, en particular por los aportes de calcio y fósforo. Una leche sin alteraciones

tiene un 65% de calcio, 60% de magnesio y el 50% de fósforo asociado con las caseínas.

Vitaminas: La leche contiene una gran cantidad de componentes en muy pequeñas concentraciones, como son las vitaminas hidrosolubles (vitaminas de los grupos B y C) y las vitaminas liposolubles (A, E y D) (INTA, 2002). Las vitaminas al igual que las sales minerales se encuentran constantes y no están sujetos a modificaciones por manipulación genética ni por la alimentación del animal (Morales y María, 1999).

El calostro contiene una riqueza vitamínica, la cual se ve influenciada por la época del año, tiempo atmosférico, ambiente y por la alimentación (Agudelo y Bedoya, 2005).

Enzimas: Las enzimas contenidas en la leche se aprovechan para efectos de inspección y control, ya que muchas de ellas influyen en la calidad de la leche y en el origen de distintas alteraciones, por que sirven como indicadoras de la calidad microbiológica de la leche (Agudelo y Bedoya, 2005).

1.3.1 Factores que afectan la composición de la leche

Los factores que afectan a la composición de la leche se pueden dividir en dos grupos: 1) Genéticos que influyen en un 45% y 2) Nutricionales y de manejo influyendo en 55% sobre la calidad del producto (Martínez y col., 2007).

La composición de la leche no es estable a lo largo de la lactancia y puede verse afectada por factores internos y externos del animal (Agudelo y Bedoya, 2005). Aún así, algunas de las relaciones entre los componentes son muy estables y pueden ser utilizados para indicar si ha ocurrido alguna adulteración en la composición de la leche (González, 2005).

La calidad fisicoquímica se ve afectada directamente por la sanidad del rebaño y por la alimentación, sin embargo también se ve afectada por la raza, la carga genética, el manejo, factores ambientales, el estado fisiológico y por los eventuales estados patológicos (Morales y María, 1999; Vargas, 2001; Reyes y Soltero, 2006).

La Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003 "Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba" ha establecido las especificaciones para la características físicas y químicas de la leche cruda (ver tabla 2).

Tabla 2

Especificaciones de leche entera de acuerdo a la NOM-155-SCFI-2003

CARACTERÍSTICA	LÍMITE
Acidez g/L	1.3 – 1.7
pH	6.6 – 6.8
Punto crioscópico (°H)	-0.536 a -0.560
Grasa butírica g/L	3.0 min
Proteínas g/L	3.0 min
Lactosa	4.3 – 5.0
Sólidos totales (ST) g/L	12 min
Sólidos no grasos (SNG) g/L	8.3 min
Caseína g/L	2.1 min

En leche, la relación caseína- proteína debe ser al menos de 70% (m/m)
 *min: mínimo

1.4 Adición de agua en la leche

En la actualidad en ciencia de los alimentos el reto es conseguir productos de óptima calidad que aseguren, por un lado una buena nutrición así como también un producto apto para el mejor procesamiento tecnológico (Medina y col., 1998).

La calidad es de gran importancia para todas las entidades involucradas en el manejo y tratamiento de la leche y de los productos lácteos (Medina y col., 1998). El concepto de calidad de leche cruda involucra los requisitos que ella debe cumplir para ser aceptable a los propósitos de su utilización y consumo humano y está determinado por las propiedades tecnológicas, higiénicas y sanitarias (Reyes y Soltero, 2006), así como el contenido nutrimental (proteína, grasa, lactosa y sales minerales) (Medina y col., 1998).

Los criterios que generalmente se aplican para evaluar la calidad de la leche cruda son:

- Ausencia de sustancias extrañas (inhibidoras de la coagulación, antisépticas, conservadoras y tóxicas)
- Bajo contenido de microorganismos
- Ausencia de microorganismos tecnológicamente indeseables
- Bajo contenido de células somáticas (CCS)
- Color, olor, sabor y composición propias de la leche (Reyes y Soltero, 2006).

Entre las adulteraciones más frecuentes que se hacen a la leche, se pueden mencionar: adición de sustancias químicas no permitidas como la adición de agua y cloruros; adición de conservadores o neutralizantes; tratamientos térmicos inadecuados que alteran la conformación nativa de las proteínas; adición de suero de quesería, entre otros. Estas adulteraciones ocurren en cualquier etapa de la producción como en el transporte o en el procesamiento

de la misma, con el fin de aumentar los volúmenes de leche para incrementar las ganancias de producción (Galindo y col., 2006; FCV, 2002).

El punto de congelación del agua a resolución normal es de 0 °C, pero al disolver en ella una sustancia (soluto), se obtiene una solución cuyo punto de congelación es inferior al del solvente, a la diferencia entre ambos puntos de congelación se le denomina descenso crioscópico.

La leche por poseer numerosas sustancias en solución, tiene un punto de congelación inferior al agua; su valor se considera una constante fisiológica que solamente varía dentro de límites muy reducidos, porque depende de la resolución osmótica de la secreción láctea, la cual en condiciones normales se mantiene constante, por depender a su vez de la resolución osmótica de la sangre (FCV, 2002).

1.5 Residuos y contaminantes en leche

A nivel mundial se observa un aumento en la preocupación de los consumidores por el cuidado de su salud en función de los alimentos que consumen, así como en la conservación del medio ambiente donde habitan. Desde el punto de vista de la producción de alimentos, esto implica garantizar la exclusión de residuos químicos y tóxicos en los productos; la conservación del ambiente manteniendo la biodiversidad de los sistemas y su sustentabilidad; y la trazabilidad del producto en toda la cadena desde el campo hasta la mesa (Comerón y Salto, 2000).

La calidad y la inocuidad de los alimentos han sido y siguen siendo el problema más importante para los servicios epidemiológicos y sanitarios, así como para la certificación de alimentos y normalización por centros, laboratorios e industrias de alimentos (Komarova, 2000).

Según la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA por sus siglas en inglés), un residuo es un producto de desecho indeseable generado en las actividades de producción o consumo que causa daño a los organismos vivos. La contaminación es la presencia o incorporación al ambiente de sustancias o elementos tóxicos que son perjudiciales para los seres vivos. En la inmensa mayoría de los casos, los alimentos no cambian su aspecto u otras de sus características por lo que la contaminación no puede reconocerse a simple vista y pasa inadvertida (Ortega y col., 2002).

La leche no está exenta de riesgos para el consumidor ya que puede alterarse en cada uno de los múltiples pasos que van desde su secreción hasta su consumo. Los principales riesgos son microbiológicos y químicos. El primero es causado por microorganismos patógenos o micotoxinas; mientras que la contaminación química puede tener procedencias muy distintas, ya sea por contaminación de los alimentos y el agua que ingiere la vaca o bien por el uso de materiales inadecuados durante la obtención, manipulación, almacenaje y transporte de la leche (Rivas y Godoy, 2005).

1.5.1 Micotoxinas

Las micotoxinas constituyen un problema en el ámbito mundial por su alta incidencia y niveles de ocurrencia en los alimentos para humanos y animales (Duarte y Villamil, 2006), por lo que actualmente representan un tema de mayor importancia relacionado con la inocuidad de los alimentos (FAO, 2004).

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por diferentes géneros y especies de hongos, éstos colonizan y contaminan sustratos que son utilizados en la alimentación humana y animal, se estima que el 25 % de la producción mundial de cereales se encuentra contaminada (Duarte y Villamil, 2006).

Entre los principales hongos toxogénicos se encuentran los géneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. y de las familias más importantes de micotoxinas se encuentran: aflatoxinas, tricotecenos, ocratoxina A, fumonisinas y zearalenona (Duarte y Villamil, 2006).

La leche puede estar contaminada por micotoxinas (Oliveira y col., 2006), hasta el momento se han descubierto más de 3500 micotoxinas con diferentes niveles de toxicidad, de las cuales las más importantes son las aflatoxinas que son producidas por los hongos *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* y *A. nomius* (Carvajal, 2002).

1.5.2 Aflatoxinas

Las aflatoxinas son un grupo de sustancias producidas por algunos hongos en pequeñas cantidades, como metabolitos secundarios. Actualmente se conocen más de 15 compuestos químicamente similares, de elevada toxicidad y carcinogenicidad. Las aflatoxinas fueron descubiertas en 1960 por un grupo de investigación británico. Su nombre procede de la toxina del *Aspergillus flavus*, el cual fue propuesto por sus descubridores en 1962 (Godínez, 2007)

Las aflatoxinas son sustancias tóxicas para la salud humana y animal que ocasionan cirrosis y daño agudo en hígado, inducción de tumor con efectos inmunosupresivos, mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos. Las aflatoxinas se encuentran como contaminantes naturales de los alimentos siendo producidas principalmente por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* cuando las condiciones ambientales de temperatura y humedad en campo, almacenamiento y durante el procesamiento de los alimentos son adecuadas, se favorece su desarrollo (Reyes y col., 2009).

Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), las aflatoxinas son contaminantes naturales de varios alimentos: cacahuete, arroz y maíz, entre otros (Steyn y Stander, 1999) y pueden causar depresión del sistema inmunológico y de desarrollo, el cáncer y la muerte. Como resultado de las regulaciones destinadas a reducir la exposición humana, la contaminación de cultivos con aflatoxinas causa pérdidas económicas importantes para los

productores, comercializadores y procesadores de diversos cultivos susceptibles (Cotty y García, 2007).

De los 18 tipos de aflatoxinas que se conocen hasta el momento las más tóxicas son la AFM1 y la AFB1 (Gimeno, 2000). La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) incluye a las AFB1 y AFM1 como compuestos carcinógenos de grupo 1A. Aunque la AFM1 es menos potente que AFB1, el alto consumo de leche y sus derivados incrementa el riesgo de exposición a este tóxico en la población (Reyes y col., 2009).

1.5.2.1 Aflatoxina B1

Dentro del grupo de aflatoxinas la de mayor importancia en salud pública es la AFB1, ya que está relacionada con el desarrollo de carcinoma hepatocelular en poblaciones que consumen alimentos contaminados (Duarte y Villamil, 2006). La AFB1 es una micotoxina producida por *Aspergillus sp.*, que crece en los granos, especialmente en maíz, cacahuete, semillas de algodón y forrajes (Gimeno, 2000). Su estructura química se muestra en la figura 1.

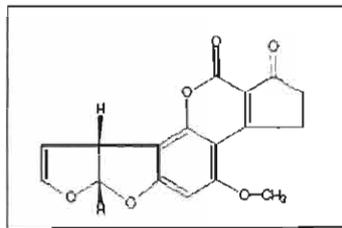


Figura 1. Estructura química de la aflatoxina B1

Fuente: Urrego y Díaz, 2006.

La contaminación con AFB1 puede ser elevada cuando las condiciones ambientales son difíciles, como en casos de lluvias y sequías intensas o infestación de insectos. Las condiciones inadecuadas de almacenamiento como humedad relativa mayor al 80% también pueden propiciar la contaminación de aflatoxinas una vez recogida la cosecha. La humedad relativa alta y la temperatura mayor a 37°C favorecen el crecimiento de *Aspergillus flavus*, su propagación en el alimento y la producción de AFB1 que llega por esta vía a los animales (CCFAC, 2008)

1.5.2.2 Aflatoxina M1

La AFM1 es un metabolito hidroxilado de la AFB1, secretada en la leche de los animales (Urrego y Díaz, 2006), tiene una masa molecular relativa de 328 Da. Su fórmula molecular es $C_{17}H_{12}O_7$ y su estructura se muestra en la figura 2.

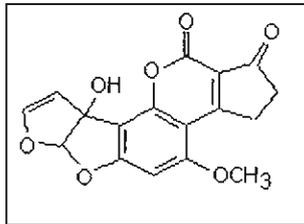


Figura 2. Estructura química de la aflatoxina M1

Fuente. Henry y col., 2002.

El ganado lechero produce leche con AFM1 luego de comer alimentos contaminados con AFB1. La AFB1 es metabolizada a AFM1 por enzimas encontradas primariamente en el hígado. Luego que la AFM1 es formada, es excretada en la orina y la leche (Gimeno, 2000). La tasa de conversión de AFB1 en AFM1 oscila entre 0.4 y 3%, pero se ha generalizado en 1% (Urrego y Díaz, 2006). El porcentaje de humedad relativa y el pH de la leche son factores que llegan a influir en la contaminación por AFB1 en la leche (Montaño y col., 2007). La AFM1 está ubicada en la lista del grupo 2B IARC como posible carcinógeno humano, siendo la AFM1 una de las más relevantes para la salud humana (Oliveira y col., 2006).

1.6 Fundamentos de las técnicas analíticas empleadas

1.6.1 Espectroscopia de infrarrojo (Milko-scan)

Principio

El análisis por espectroscopia infrarroja (IR) se basa en el principio de que casi todas las sustancias orgánicas se comportan absorbiendo selectivamente ciertas longitudes de onda de la región infrarroja del espectro, y además grupos funcionales en una molécula son susceptibles de absorber dicha radiación a una longitud de onda característica que está poco afectada por el resto de la molécula. El método se aplica a la determinación de grasa, proteínas, lactosa en leche cruda e industrializada (FIL-IDF 141A, 1990).

1.6.2 Crioscopia

Principio

En México se considera que el punto crioscópico de la leche fresca es de -0.530 a -0.560°H (-0.512 a -0.541°C) con un valor promedio de -0.525°C , debido a algunas variables como son el manejo del ganado, la estación del año y el procesamiento de la leche (NOM-F443-1983; SS, 1989).

La leche es sobreenfriada a una temperatura apropiada (varios grados por debajo de su punto de congelación), para luego inducir su cristalización repentina por vibración mecánica, esto provoca que la temperatura se eleve debido al calor de fusión desprendido, hasta alcanzar el punto de congelación de la muestra (FIL-IDF 108 B: 1991).

1.6.3 Cromatografía

La cromatografía es un método muy utilizado en todas las ramas de la ciencia que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en mezclas complejas. Ningún otro método de separación es tan potente y de aplicación tan general como la cromatografía (Gómez y col., 2008).

La cromatografía se introduce como método de separación en 1903 y su posterior desarrollo y evolución se produce hacia 1930. El botánico ruso Miguel Tswett (1872-1913) en 1906, eligió el término cromatografía procedente de las palabras griegas *khromatos* (color) y *graphos* (escrito) ya que utilizó el término cromatografía para describir la separación de pigmentos vegetales en distintas zonas coloreadas. Aunque la mayor parte de las separaciones que se realizan actualmente son de compuestos incoloros, el término inicial cromatografía se ha mantenido (www.labquimica.wordpress.com, 2008).

Según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) "La cromatografía es el método, usado principalmente para la separación de los componentes de una muestra, en el cual los componentes son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras que la otra es móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido soportado en un sólido o en un gel (matriz). La fase estacionaria puede ser empaquetada en una columna, extendida en una capa o distribuida como una película (Noa y col., 2005).

Las separaciones cromatográficas se consiguen mediante la distribución de los componentes de una mezcla entre la fase fija y la fase móvil. La separación entre dos sustancias empieza cuando una es retenida más fuertemente por la fase estacionaria que la otra, que tiende a desplazarse más rápidamente en la fase móvil (www.labquimica.wordpress.com, 2008).

1.6.3.1 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés), se desarrolló a mediados de los años setentas del siglo pasado y fue adquiriendo con rapidez varias aplicaciones gracias a la generación de nuevas fases estacionarias (Noa y col., 2005).

La cromatografía líquida de alta resolución, es el método más habitual para el análisis de micotoxinas, debido a la posibilidad de separar sustancias termolábiles, no volátiles, polares y apolares con aceptable presión entre sustancias químicamente similares, de manera rápida y reproducible. Los detectores más utilizados para la determinación de micotoxinas son: el ultravioleta, que es universal pero poco selectivo ya que muchas moléculas absorben a la misma longitud de onda que las micotoxinas; y el detector de fluorescencia, que por lo contrario es muy selectivo (Zinedine y col., 2007; Soriano, 2007).

Capítulo 2. METODOLOGÍA GENERAL

2.1 Esquema general de la metodología

La presente investigación corresponde a un estudio prospectivo, longitudinal, descriptivo y experimental. La parte práctica de la tesis se realizó en dos etapas: 1) Caracterización física y química de las muestras de leche cruda orgánica y convencional y 2) Determinación de sustancias propias y extrañas en leche cruda orgánica y convencional.

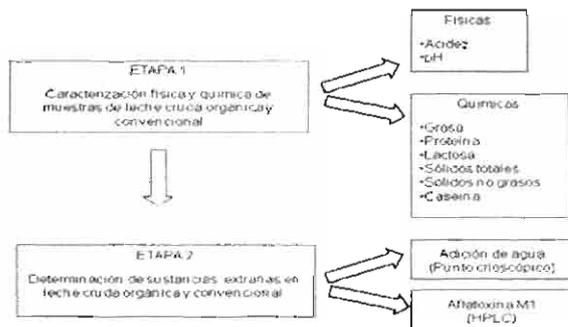


Figura 3. Metodología general

2.2 Zonas de estudio

Las zonas de estudios se seleccionaron a juicio (Cochran, 1976), en función del convenio institucional que existe entre la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco y las unidades de producción lechera ubicadas en el municipio de Tizayuca, Hidalgo y Tuxpan, Veracruz.

El municipio de Tizayuca, Hidalgo está ubicado a una latitud de 19°50'14'', su longitud oeste es de 98°59'12'' y tiene altitud de 2,260msnm (INEGI, 2007b). El municipio de Tuxpan en el estado de Veracruz cuenta con clima tropical (24.9°C), latitud norte de 21°4'36'', longitud oeste de 97°27'34'', altitud de 10msnm y precipitación anual de 1.241mm (INEGI, 2007c).



Figura 4. Ubicación geográfica del municipio de Tizayuca, Hidalgo

Fuente: www.explorandomexico.com.mx/map-gallery/0/38/



Figura 5. Ubicación geográfica del municipio de Tuxpan, Veracruz

Fuente: www.explorandomexico.com.mx/map-gallery/0/45/

2.3 Toma de muestras

Se colectaron muestras mensualmente durante un año, de leche cruda de vaca proveniente de unidades de producción lechera establecidas en Tuxpan, Veracruz (orgánica) y Tizayuca, Hidalgo (convencional). La primera se obtiene de un sistema de producción orgánica que cuenta con ganado cruza de cebú con Holstein, alimentado con forraje fresco (pastoreo) y una porción de concentrado (0.5kg) durante el ordeño; y la segunda se obtiene de un sistema de producción intensivo o de confinamiento absoluto con ganado Holstein con una dieta basada en una mezcla de alfalfa, ensilado y concentrado.

El total de muestras fue de 23 (12 muestras de leche cruda convencional y 11 de leche cruda orgánica), con un volumen mínimo por muestra de un litro con previa homogeneización de los acopios originales (leche cruda), para ello se siguieron los criterios establecidos por la Federación Internacional de Lechería (FIL-IDF 50B: 1995 y COFOCALEC, 2006).

2.4 Conservación de muestras

Las muestras se conservaron durante su transporte a una temperatura de 0 a 4°C. El tiempo transcurrido en llegar al laboratorio fue de menos de 24 horas después de la toma de muestra. Las muestras se conservaron en frascos de cristal sin exposición a luz solar directa y a temperaturas fuera de los límites establecidos por la FIL-IDF 50B: 1995 y COFOCALEC, 2006.

2.5 Análisis de características físicas de la leche

2.5.1 Determinación de pH

Principio

El pH no es un valor constante, puede variar en el curso del ciclo de la lactación así como por el tipo de alimentación del ganado lechero. El pH normal de la leche fresca es de 6.6-6.8. Valores superiores se observan en leches mastíticas y en leches provenientes de vacas tratadas con medicamentos y otras sustancias. Los niveles inferiores indican acidificación (Noa y col., 2005).

Procedimiento

El valor se mide directamente leyendo la escala del potenciómetro calibrado con una solución buffer de pH conocido.

2.5.2 Determinación de acidez

Principio

Un volumen conocido de muestra se tituló con una solución alcalina de NaOH de concentración 0.1N con ayuda de un indicador (fenolftaleína) y un patrón de color, el cual indicó el punto final de la titulación.

Procedimiento

Se tomó con una pipeta 10mL de la muestra y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 100mL, se agregaron 0.5mL de fenolftaleína. Se tituló la mezcla con una solución de NaOH hasta la aparición de un color rosa pálido. Se leyó el volumen gastado de la solución alcalina, con exactitud de 0.01mL.

Cálculo

$$\% \text{ de ácido láctico} = \frac{V \times N \times 90}{100}$$

Donde:

V= mL de NaOH gastados en la titulación

N= normalidad de la solución de NaOH

2.6 Análisis de características químicas de la leche

2.6.1 Análisis de grasa, proteína, lactosa, sólidos totales (ST) y sólidos no grasos (SNG) por espectroscopia de infrarrojo

Procedimiento

Se homogeneiza la muestra de leche y se mide con el espectrofotómetro de IR (Milko-scan) la cantidad de luz absorbida por:

- Los grupos carbonilo de los enlaces éster de los acilglicéridos, aproximadamente a, $5.73\mu\text{m}$ (filtro A), o por los grupos CH_2 , aproximadamente a, $3.48\mu\text{m}$ (filtro B), en la determinación de grasa.
- Los grupos amino secundarios de los enlaces peptídicos, próximamente a $6.46\mu\text{m}$ para la determinación del contenido de proteínas.
- Los grupos hidroxilo de la lactosa, aproximadamente a $9.61\mu\text{m}$ en la determinación del contenido de lactosa.

La medida de la concentración de cada componente se hace refiriéndola a la cantidad de luz absorbida, ya sea por el agua a la misma longitud de onda o por la leche a una longitud de onda diferente a la que sólo hay absorción por el componente que se mide.

Antes de proceder a determinar el contenido de los parámetros (grasa, proteína, lactosa, ST y SNG) de las muestras de leche estudiadas, se realizó la calibración automática del equipo Milko-scan, cuyo objetivo fue establecer los valores de ordenada de origen y pendiente ("SLOPE" y "BIAS") que guardaran la máxima correlación entre los resultados dados por el equipo Milko-scan y los resultados de los métodos de referencia correspondientes de las mismas muestras.

Por definición, la calibración se refiere al ajuste de la señal del instrumento, de tal manera que para cada nivel de concentración del componente el promedio de duplicado de un análisis dado por el instrumento se aproxima al valor verdadero dado por el método de referencia. Las funciones de calibración del instrumento no deben cambiarse cuando el instrumento es estable, es decir, cuando la respuesta producida por un impulso dado, representado en este caso por el análisis de una leche control, permanece durante un periodo de tiempo prefijado, dentro de los límites de confianza de la reproducibilidad del instrumento. Una buena estabilidad indica que el instrumento está trabajando apropiadamente y que las condiciones que pueden influir la señal son constantes.

Para efectuar la calibración, el operador introduce una serie de resultados de referencia en la memoria del Milko-scan y mide las mismas muestras con el equipo. A continuación, el aparato hace los cálculos necesarios y presenta los nuevos parámetros de calibración sugerido al operador.

2.6.2 Determinación de caseína

Principio

Se basa en la determinación de las proteínas totales de la leche con un aparato de espectroscopía infrarroja (Milko-scan). Se elimina la caseína por coagulación mediante aplicación de una solución ácida, para determinar por el mismo procedimiento las proteínas del suero. El resultado del contenido en caseína se expresa en función de la diferencia entre ambas lecturas (Pinto y col., 1996).

Procedimiento

Esta técnica constó de tres etapas:

1.- *Determinación de las proteínas totales:* Se determinaron las proteínas totales de la muestra por medio del Milko-scan, lo que da origen a la lectura A.

2.- *Eliminación de caseína por aplicación de una solución ácida:* en un vaso de precipitados se vertieron 100mL de la muestra y se llevó a 40°C en baño térmico. Se añadió gota a gota y agitando una solución ácida de H₂SO₄ 1N, hasta alcanzar un pH de 4.6. El suero obtenido se filtró y se centrifugó a 1,200G durante cinco minutos.

3.- *Determinación de las proteínas del suero:* en el suero sobrenadante de la centrifugación se determinó el contenido de las proteínas mediante el Milko-scan y de esta manera se obtiene la lectura B.

Cálculos

El contenido en caseína de la leche se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ caseína (m/m)} = K (\text{lectura A} - \text{lectura B})$$

2.7 Análisis para la determinación de sustancias extrañas en leche

2.7.1 Determinación del punto crioscópico

Procedimiento

Se eliminó de la muestra por filtración todo cuerpo extraño visible o toda partícula de materia de grasa sólida. Se vertió la muestra en un tubo limpio y se colocó en el crioscopio, se encendió el equipo que a su vez hizo todo el examen automáticamente, al terminar apareció en la pantalla el resultado del punto de congelación y el porcentaje de agua en la muestra.

Nota: Antes de colocar la siguiente muestra se limpió el termistor y el agitador con un papel limpio y suave.

Cálculos

El equipo informó en la pantalla la lectura obtenida en °C. Para corregir los resultados de un método de calibración a otros se utilizan las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned} ^\circ\text{C} &= 0.9656 \times ^\circ\text{H} \\ ^\circ\text{H} &= 1.0356 \times ^\circ\text{C} \end{aligned}$$

2.7.2 Determinación de aflatoxina M1 en leche por HPLC

La AFM1 se extrae de la leche sobre una columna de fase sólida C18 y eluida con éter dietílico sobre otra columna de sílica y eluida con diclorometano alcohol. La AFM1 es derivatizada con ácido trifluoroacético. Para su determinación se emplea un detector fluorescente acoplado a un cromatógrafo de líquidos de alta resolución, empleando una columna de fase reversa (AOAC, 1995b).

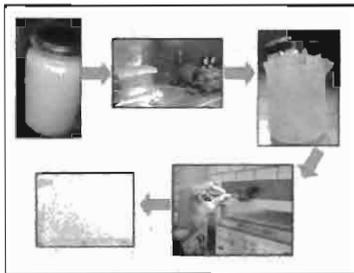


Figura 6. Determinación de aflatoxina M1 en leche por cromatografía de líquidos de alta resolución

Procedimiento

- Activación de sílica gel

Se colocaron 100g de sílica gel en una cápsula de porcelana, se activó en una estufa durante una hora a 105°C, posteriormente se pasó a un desecador y cuando se enfrió, se le adicionó 1mL de agua destilada, se agitó y se dejó toda la noche equilibrándose.

- Preparación de la columna de fase sólida

Se colocó en la columna un filtro de membrana de fibra de vidrio de 47mm, posteriormente se adicionó 1g de sílica gel, seguido de 1g de sulfato de sodio y finalmente se puso en otro filtro.

- Preparación de la muestra

Se midieron 25mL de la muestra (leche cruda) previamente homogeneizada y se le adicionaron 30mL de agua destilada caliente (80°C), se mezcló perfectamente.

- Extracción

1.-La columna de fase sólida (C18) se colocó en una bomba de vacío. Se acondicionaron 25mL de metanol, dejando que drenaran; posteriormente se agregaron 25mL de agua destilada y sin dejar secar, se incorporó la muestra de leche. El paso de la muestra se realizó a una velocidad de 2 a 3mL por minuto. Los drenados se descartaron.

2.-La columna C18 se lavó con 30mL de agua: acetonitrilo (95:5 v/v), se dejó drenar totalmente aumentando el vacío para remover lo más posible la solución de lavado.

3.-De forma independiente se activó la columna de silica gel con 7mL de éter dietílico.

4.-Una vez seca la columna C18 se le adicionaron 750µL de acetonitrilo dejándola reposar de 30 a 60s.

5.-Se acoplaron las columnas C18 y la de silica gel (activada), se les agregaron 8mL de éter dietílico, a flujo lento. La fracción del lavado se descartó.

6.-Se colocó bajo las columnas acopladas un tubo colector (limpio) y se eluyeron las aflatoxinas con 20mL de diclorometano: metanol (95:5 v/v).

7.-El eluato obtenido se secó en un rotoevaporador, bajo presión reducida a una temperatura de 30°C.

8.-El residuo obtenido se transfirió a un vial, recuperándolo con 500µL de diclorometano. Se evaporó hasta sequedad bajo nitrógeno y se guardó tapado a una temperatura de 0 a -20°C (cubriéndolo de la luz).

- Derivatización de las aflatoxinas

Al residuo seco se le adicionaron 100µL de hexano y se agitó con el vortex por 1 minuto, posteriormente se agregaron 50µL de ácido trifluoroacético (TFA), el tubo se tapó y se mezcló nuevamente en el vortex por 1 minuto y se colocó en baño térmico a 40°C por 30 minutos.

Posteriormente el preparado se evaporó bajo nitrógeno. El residuo se resuspendió en 500µL de fase móvil (metanol: acetonitrilo: agua, 2:2:6) antes de someterlo a la cromatografía. Para derivatizar el estándar se tomaron 50µL de la concentración conocida del patrón, se llevó hasta sequedad bajo nitrógeno y se procedió de la misma forma anteriormente descrita (AOAC, 1995a).

- Detección por cromatografía de líquidos de alta resolución

Se utilizó una columna C18, con detector de fluorescencia a 365nm de excitación y 420nm de emisión, con un flujo de 1mL/min. Una vez encendido el cromatógrafo de líquidos, se eliminaron todas las burbujas de aire que se encontraron en la línea, y se dejó funcionando a un flujo de 0.5mL/min durante diez minutos para estabilizarlo.

Primero se aplicó la fase móvil seguido del estándar (ver figura 7), para comprobar los tiempos de retención y ajustar la sensibilidad del equipo, posteriormente se inyectaron 50µL del eluato al equipo (ver figura 8 y 9). Después de cada aplicación la jeringa fue lavada primero con metanol (diez veces), luego con acetona (diez veces), y finalmente con la fase móvil (diez veces).

- Cálculo e interpretación de resultados

La identificación de la AFM1 se logró por comparación de los tiempos de retención de las señales o picos de las muestras problema, con los tiempos de retención del estándar. En las figuras 7, 8 y 9 se pueden observar los cromatogramas del estándar de AFM1 y de las muestras con y sin presencia de AFM1. La cuantificación se llevó a cabo mediante la integración del área bajo la curva y la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración de AFM1 (ng/g)} = \frac{H \times C_p \times V_{L_1} \times V}{H_p \times W \times V_L}$$

Donde:

H: es la altura del pico de la muestra

H_p: es la altura del pico del estándar

C_p: es la concentración del estándar (ng/µL)

V_{L₁}: es el volumen inyectado del estándar

V_L: es el volumen inyectado de la muestra

V: es el volumen final de la muestra (µL)

W: es el volumen de la muestra (25mL)

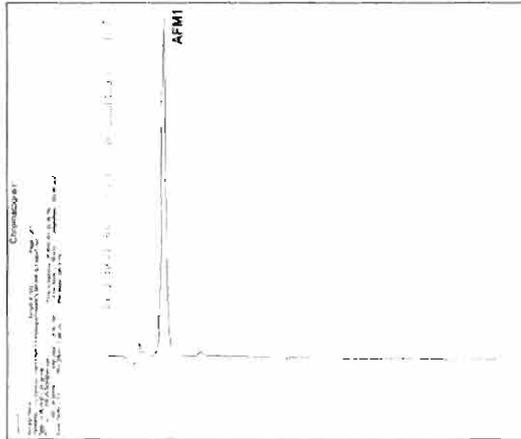


Figura 7. Perfil cromatográfico del estándar de la aflatoxina M1 derivatizada [1µg/ml], volumen de inyección 50µl

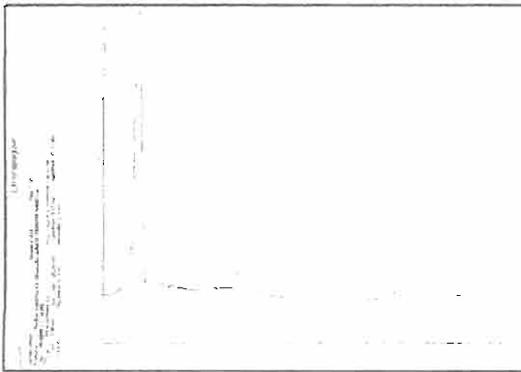


Figura 8. Perfil cromatográfico de muestra de leche cruda sin presencia de aflatoxina M1, volumen de inyección 50µl

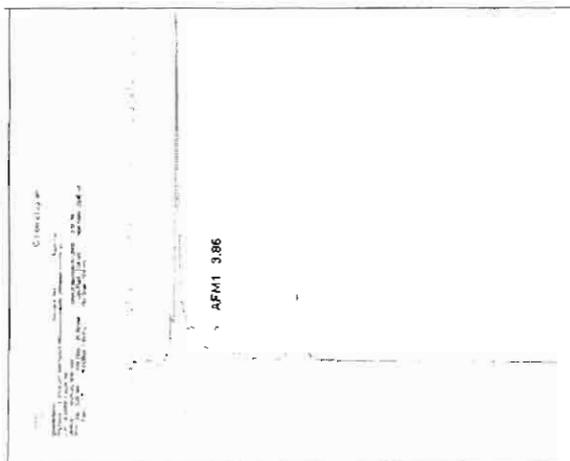


Figura 9. Perfil cromatográfico de muestra de leche cruda contaminada con aflatoxina M1, volumen de inyección 50µl

2.8 Análisis estadístico de los datos obtenidos

Después de obtener los datos de cada una de las características físicas y químicas propias de la leche se realizó un análisis de estadística descriptiva. Posteriormente se empleó una prueba de T-Student, utilizando el software SPSS versión 15.0 para conocer la significancia ($P \leq 0.05$) en las sustancias propias de la leche cruda producida de forma convencional y orgánica, en relación a la época del año.

Con los resultados de la determinación del punto crioscópico y de AFM1 en muestras de leche orgánica y convencional, se realizó un análisis de estadística descriptiva y prueba de T-Student ($P \leq 0.05$), para el análisis de AFM1 también se empleó medianas y percentiles con grafica de caja y bigote, utilizando el software SPSS versión 15.0 (Afifi y col., 2004).

NO REPRODUCIRSE SIN AUTORIZACIÓN DEL COMITÉ DE VIGILANCIA

Capítulo 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características físicas de la leche

3.1.1 Leche convencional

Los valores de acidez y de pH de las muestras de leche cruda convencional se muestran en la tabla 3.

Tabla 3

Características físicas de la leche cruda proveniente de Tizayuca, Hidalgo

Característica	Muestra												X	DS	CV
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
	Feb 09	Mar 09	Abr 09	May 09	Jun 09	Jul 09	Dic 09	Ene 10	Mar 10	Abr 10	May 10	May 10			
Acidez (%)	1.7	1.8	1.8	1.8	1.9	1.6	1.6	1.8	1.9	1.7	1.9	1.7	1.77	0.11	6.07
pH	6.7	6.8	6.9	6.8	6.6	6.7	6.6	6.7	6.6	6.7	6.6	6.6	6.69	0.10	1.54

X: Media

DS: Desviación estándar

CV: Coeficiente de variación

La leche cruda convencional presentó valores de acidez que van de 1.6% a 1.9% con una desviación estándar (DS) de 0.11 y un coeficiente de variación (CV) de 6.07%, siendo la media de esta característica 1.77%, cuyo valor está en el límite máximo establecido por la NOM-155 de México. En las muestras tomadas en los meses de junio 2009, marzo y mayo 2010 se presentaron valores por encima del máximo indicado para ésta variable (1.9%).

La acidez tuvo una media de 1.7% en época de seca y un 1.8% en época de lluvia, sin detectar diferencia significativa. Vargas (2001), indicó que la acidez en la leche varía de 1.6 -1.7%, y que este valor se ve afectado por el complejo enzimático químico propio del contenido de la leche cruda y el lento crecimiento microbiano, dejando al valor fuera de lo establecido por las normas, así mismo la acidez puede ser incrementada por el tiempo de almacenamiento en las condiciones no adecuadas de refrigeración.

Se observaron valores de pH de 6.6 hasta 6.9 con una media de 6.69, una DS de 0.10 y un CV de 1.54%. La muestra de abril del 2009 presentó el valor máximo (6.9), el cual no cumple con la normativa mexicana para pH en leche cruda. El promedio de pH en época de seca fue de 6.71 con un rango de 6.6 a 6.9, mientras que en época de lluvias fue de 6.6 a 6.8 con una media de 6.65, no observándose diferencia significativa ($P>0.05$) en ésta variable en las dos épocas del año estudiadas.

3.1.2 Leche orgánica

En la tabla 4 se presentan los datos obtenidos del análisis físico (acidez y pH) de las muestras de leche cruda orgánica producida en Tuxpan, Veracruz.

Tabla 4

Características físicas de la leche cruda orgánica proveniente de Tuxpan, Veracruz

Característica	Muestra											X	DS	CV
	1 Oct 08	2 Dic 08	3 Ene 09	4 Mar 09	5 Abr 09	6 May 09	7 Jun 09	8 Jul 09	9 Sep 09	10 Nov 09	11 Dic 09			
Acidez (%)	1.4	1.6	1.4	1.9	1.7	1.5	1.3	1.4	1.6	1.8	2.0	1.6	0.23	14.25
pH	6.8	6.8	6.9	6.7	6.7	6.7	6.8	6.8	6.7	6.8	6.4	6.7	0.13	1.88

X: Media

DS: Desviación estándar

CV: Coeficiente de variación

Los valores mínimos y máximos del porcentaje de la acidez en la leche orgánica fueron de 1.3% y 2.0% con una DS de 0.23 y un CV de 14.25%. La media de esta variable fue de 1.6%, la cual está en el intervalo establecido por la NOM-155, además de mostrar gran variación durante el estudio. Los valores de acidez durante la época de lluvia arrojaron una media de 1.4% y un 1.7% en época de seca, presentando diferencia significativa del 95% ($P < 0.05$) en las dos épocas del año.

En la tabla 4 se observa que la media del pH en las muestras de leche orgánica fue de 6.7 permaneciendo en el límite máximo establecido por la NOM-155, con una DS de 0.13 y un CV de 1.88%. Los valores mínimo y máximo fueron de 6.4 y 6.9, que corresponden a las muestras colectadas en los meses de diciembre y enero del 2009 respectivamente. El promedio de pH en época de lluvia fue de 6.75 con un rango de 6.7 a 6.8, mientras que en época de seca fue de 6.4 a 6.9 con una media de 6.71, no observándose diferencia significativa ($P > 0.05$) en esta característica durante el año de estudio.

En Pakistán se realizó un estudio de las características físicas y químicas de muestras de leche cruda de vaca. Los valores de la acidez titulable reportados oscilaron en un rango de 0.81% y 1.84%, y los valores de pH fueron de 6.59 ± 0.59 , que difieren con lo encontrado en este trabajo (Mohammad y col., 2008).

3.2 Composición de la leche

3.2.1 Leche convencional

Tabla 5

Composición de la leche cruda proveniente de Tizayuca, Hidalgo

Característica (%)	Muestra												X	DS	CV
	1 Feb 09	2 Mar 09	3 Abr 09	4 May 09	5 Jun 09	6 Jul 09	7 Dic 09	8 Ene 10	9 Mar 10	10 Abr 10	11 May 10	12 May 10			
Grasa	3.38	3.35	2.62	2.71	3.04	4.01	3.24	3.4	3.06	3.21	4.3	3.15	3.29	0.48	14.47
Proteína	3.26	3.18	3.33	3.18	3.15	3.03	3.15	3.19	3.15	3.1	3.18	3.05	3.16	0.08	2.59
Lactosa	4.86	4.86	4.71	4.63	4.9	4.83	4.87	4.87	4.84	4.88	5.03	4.88	4.85	0.10	2.03
ST	12.2	12.09	11.36	11.19	11.78	12.57	11.96	12.16	11.74	11.88	13.2	11.78	11.9	0.53	4.42
SNG	8.83	8.74	8.74	8.47	8.74	8.56	8.72	8.76	8.69	8.68	8.91	8.63	8.70	0.11	1.32
Caseína (%)	2.39	2.23	1.71	1.76	2.21	1.99	2.39	2.33	2.25	2.31	1.94	2.29	2.15	0.24	11.08

ST: Sólidos totales

SNG: Sólidos no grasos

X: Media

DS: Desviación estándar

CV: Coeficiente de variación

Se encontró que el valor porcentual mínimo y máximo para la variable grasa fue de 2.62 a 4.3, los valores menores al 3% de los meses de abril y mayo del 2009 no cumplen con lo establecido en la norma mexicana (NOM-155). Las diferencias de valores obtenidos arrojan una desviación estándar (DS) de 0.48 y un coeficiente de variación (CV) de 14.47%, lo cual indica que la grasa, es el componente de la leche que más varía a lo largo del año.

El promedio de la grasa butírica fue de 3.29%, las variaciones mensuales pueden atribuirse a la modificación de la dieta de los animales. La media de grasa en época de seca fue de 3.18% y de 3.44% en la época de lluvia, no presentando diferencia significativa para éste componente. Los resultados de grasa de este estudio difieren con lo reportado por Guevara y col., (1998) quienes realizaron un estudio para conocer el efecto de la época del año en el porcentaje de grasa en leche producida por vacas Holstein en estabulación, los resultados arrojaron que en época de seca (abril) se produjo leche con un 3.73% de grasa y en época de lluvia (julio) con un 3.99% del contenido de grasa en la leche, lo cual indica diferencias altamente significativas ($P < 0.01$) para el contenido de grasa láctea.

Los valores mínimo y máximo de proteína obtenidos de las muestras de leche convencional fueron de 3.03% y 3.33% con una DS de 0.08 y un CV de 2.59%. El promedio de ésta variable fue de 3.16%, cuyo valor cumple con lo establecido en NOM-155, al igual que la media de la época de seca y época de lluvia (3.19% y 3.12%, respectivamente).

La diferencia de los valores de caseína de las muestras de leche convencional mostraron una DS de 0.24 y un CV de 11.08%, con un promedio de 2.15% cumpliendo de esta manera con lo indicado en la normativa antes señalada; éste componente mostró una variabilidad importante a lo largo del año. En la época de lluvia el contenido de caseína presentó valores bajos en comparación a la época de seca, lo cual puede deberse al cambio de alimentación y/o al periodo de lactación (Martínez y col., 2007).

El valor mínimo y máximo de la lactosa en las muestras de leche convencional analizadas en este estudio fue de 4.63% y 5.03%, con una DS de 0.10 y un CV de 2.03%. El promedio de esta variable fue de 4.84%, lo cual está en los límites establecidos por la NOM-155 (ver tabla 5), de igual manera que la media de lactosa en la época de seca (4.84%) y época de lluvia (4.85%).

La información obtenida en este experimento es similar a la obtenida por Castelán y col., (2006) quienes evaluaron la calidad de leche cruda proveniente del centro de México, todas las muestras presentaron niveles mayores de 30g/L de grasa, 30g/L de proteína y un mínimo de 43g/L en el contenido de lactosa, observando en el contenido de grasa diferencias significativas ($P < 0.05$) entre periodos, lo que coincide con la mayor producción de forraje en época de lluvias.

Algunos otros autores han reportado valores parecidos a los de este experimento con respecto al contenido de grasa, proteína y lactosa en leche cruda, como es el caso de Taverna y Coulon (2000) quienes estudiaron la leche producida por vacas Holstein en la Cuenca lechera central de Argentina (3.48%, 3.17% y 4.57%) y Morales y María (1999) en Chile (3.6%, 3.2% y 4.7%) respectivamente. A nivel nacional Pedraza (1999) reportó un $3.11 \pm 0.51\%$ de materia grasa y $3.04 \pm 0.25\%$ para proteína en leche producida en el estado de México.

En la tabla 5 se observa que la media del contenido de sólidos totales (11.99%) se encuentra en el límite mínimo establecido por la NOM-155. Los valores arrojaron para ésta variable una DS de 0.53 y un CV de 4.42%. De las doce muestras de leche estudiadas, solo cinco cumplen con dicha norma y coinciden con los meses en los cuales el contenido de grasa y caseína fueron menores.

En julio del 2009 (época de lluvia) se presentó la precipitación pluvial más elevada del año (114.7mm^3) (INEGI, 2007c), al igual que los porcentajes de grasa y sólidos totales de la muestra de leche tomada en el mismo mes, lo que puede ser atribuible a la mayor cantidad de alimento (forraje y concentrado) ofrecido al ganado. Similares resultados fueron observados por Bernal y col., (2007) en la evaluación de la calidad fisicoquímica de leche producida en dos zonas del estado de México, observando diferencias significativas ($P < 0.05$) en el contenido de grasa y sólidos totales por periodo de muestreo.

El contenido de sólidos no grasos de las muestras de leche convencional permaneció en los límites establecidos por la norma oficial mexicana sobre especificaciones fisicoquímicas en lácteos (NOM-155-SCFI-2003).

En la figura 10 se puede observar que las sustancias propias de la leche convencional que más variaron durante el año estudiado fueron: grasa (14.47%), caseína (11.08%) y sólidos totales (4.42%).

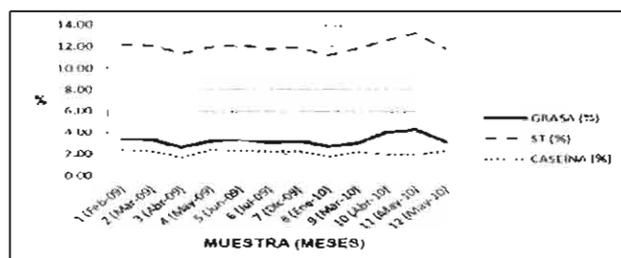


Figura 10. Composición de la leche convencional proveniente de Tizayuca, Hidalgo

Según la época del año, el estudio demostró que las épocas de lluvia o seca no influyeron en la calidad de la leche producida de forma estabulada ($P \geq 0.05$).

3.2.2 Leche orgánica

Tabla 6

Composición de la leche cruda orgánica proveniente de Tuxpan, Veracruz

Característica	Muestreo											X	DS	CV
	1 Oct 08	2 Dic 08	3 Ene 09	4 Mar 09	5 Abr 09	6 May 09	7 Jun 09	8 Jul 09	9 Sep 09	10 Nov 09	11 Dic 09			
Grasa (%)	4.38	4.54	4.13	5.48	2.88	2.82	2.76	3.37	3.98	4.59	3.98	3.90	0.86	22.15
Proteína (%)	3.59	3.64	3.4	3.46	3.29	3.26	3.11	3.42	3.6	3.84	3.72	3.48	0.22	6.23
Lactosa (%)	4.56	4.52	4.47	4.54	4.82	4.87	4.93	5.15	4.93	4.72	4.72	4.75	0.21	4.51
ST (%)	13.24	13.41	12.7	14.18	11.69	11.58	11.51	12.64	13.24	13.85	13.11	12.83	0.91	7.09
SNG (%)	8.86	8.87	8.57	8.69	8.81	8.78	8.75	9.27	9.26	9.26	9.14	8.93	0.25	2.83
Caseína (%)	2.7	2.6	2.46	2.37	2.52	2.43	2.34	2.59	2.67	2.74	2.55	2.54	0.13	5.22

ST: Sólidos totales
 SNG: Sólidos no grasos
 X: Media
 DS: Desviación estándar
 CV: Coeficiente de variación

En la tabla 6 se observa que el promedio de grasa butírica de las muestras de leche orgánica fue de 3.9%, cumpliendo con lo requerido en la NOM-155. Se obtuvieron valores mínimo y máximo de 2.76% y 5.48%, con una DS de 0.86 y una variación de 22.15% en los resultados. Sin embargo en los meses de abril, mayo y junio (época de lluvia), presentan valores por debajo de lo señalado en

la norma mexicana sobre especificaciones fisicoquímicas en lácteos (NOM-155-SCFI-2003), lo cual posiblemente se deba al cambio de alimentación del ganado. El cambio y tipo de alimentación del ganado, el estado de madurez y tamaño del forraje también influye en el contenido de grasa en la leche, así como el estado de la lactancia, ya que al inicio el contenido de grasa y proteína se encuentran altos, posteriormente disminuyen y aumentan gradualmente al final de la lactancia (Morales y María, 1999). Este comportamiento se observó a lo largo del muestreo realizado para el presente estudio (octubre 2008 a diciembre 2009).

El contenido de grasa láctea no presentó diferencias significativas en relación a la época del año. Guevara y col., (1998) realizaron un estudio en el que encontraron que la producción y calidad de la leche analizada puede bajar y afectarse debido a las altas temperaturas y humedad relativa del ambiente durante la época de lluvias.

El valor porcentual mínimo y máximo para el contenido de proteína fue de 3.11 y 3.72 con una DS de 0.22 y un CV de 6.23%, la media de ésta variable fue de 3.48%, lo cual indica estar dentro del límite establecido por la normativa mexicana (ver tabla 6). Los resultados de este estudio difieren con lo observado por Morales y María (1999) quienes estudiaron los factores que afectan a la composición de la leche bovina y reportaron que si existe un efecto de la estación del año sobre el contenido de grasa, donde los meses de lluvia se caracterizan por promediar un 0.4% menos de grasa que en los meses de seca; sin embargo los porcentajes de proteína son mayores durante la época de seca que lo obtenido en época de lluvia, lo cual se puede relacionar directamente por los cambios de manejo y alimentación; un alimento con alto contenido de hidratos de carbono fermentables, causan un cambio de pH en el rumen y como consecuencia una depresión en la digestión de fibra, disminuyendo el sustrato disponible para la síntesis de grasa en la glándula mamaria. Todos los factores que afectan a la fermentación ruminal y el crecimiento bacteriano afectan al contenido de proteína.

Comerón y col., (1999) realizaron una evaluación de la calidad de muestras de leche orgánica durante dos años, alimentando a los animales (vacas Holstein) con pastura y concentrado. El contenido de grasa para el primer año (1997) fue de 3.53%, 3.09% de proteína, 1.5 a 1.7% en acidez y con un pH que osciló entre 6.6 y 6.8; en el segundo año (1998) se observó un 3.41% de grasa, 3.13% para proteína, 1.5 a 1.7% de acidez y un valor de 6.7 para pH. Sus resultados fueron similares a los de este estudio.

En la tabla anterior se muestran los valores del contenido de caseína de las muestras de leche cruda orgánica. Tanto el contenido de caseína de las muestras, como la media obtenida (2.54%) para éste componente, se ubican en el intervalo marcado por la NOM-155.

El promedio de la lactosa en las muestras de leche orgánica fue de 4.75% con valores mínimos y máximos de 4.47% y 5.15%. La media de la lactosa en muestras colectadas durante la época de lluvias fue de 4.89% y 4.63% en

época de seca, observándose una diferencia significativa del 95% ($P < 0.05$). El valor porcentual mínimo y máximo observado en el contenido de sólidos totales fue de 11.51 y 14.18. La media fue de 12.83% cumpliendo con los requerimientos, sin embargo en los meses de abril, mayo y junio (época de lluvia) se observaron valores por debajo de lo establecido en la normativa mexicana (NOM-155). El promedio del valor de sólidos no grasos fue de 8.93%, lo que indicó cumplimiento con la NOM-155.

Se encontró que las sustancias propias de la leche orgánica que más variaron durante el estudio fueron: grasa (22.15%), proteína (6.23%) y sólidos totales (7.09%) (ver figura 11); debido a que en el trópico las condiciones ambientales son más variables (temperatura y humedad relativa) y ejercen una influencia estacional en la producción y composición de la leche, lo que altera la fisiología de los animales con repercusión sobre su productividad. Este efecto negativo hace que el animal busque adaptarse a estas nuevas condiciones ambientales (Guevara y col., 1998; Martínez y col., 2007).

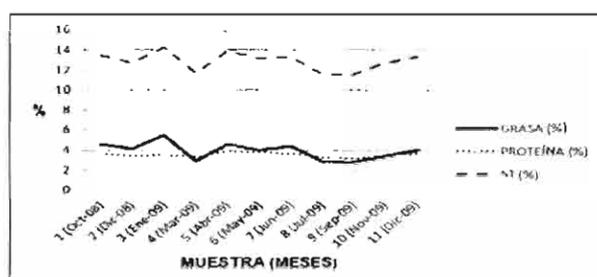


Figura 11. Composición de la leche orgánica proveniente de Tuxpan, Veracruz

Los resultados arrojaron que la época del año no tuvo efecto en el contenido de grasa, proteína, sólidos totales, sólidos no grasos y caseína, sin embargo el porcentaje de lactosa de las muestra de leche orgánica expresaron diferencias significativa del 95% ($P < 0.05$) entre las épocas de lluvia y seca estudiadas.

3.3 Sustancias extrañas en la leche

3.3.1 Adición de agua en la leche

3.3.1.1 Leche convencional

En la tabla 7 se muestran los valores del punto crioscópico durante el periodo de muestreo de leche cruda convencional (febrero 2009 a mayo 2010).

Tabla 7

Punto crioscópico en muestras de leche convencional producida en Tizayuca, Hidalgo

MUESTREO	PUNTO CRIOSCÓPICO (°H)
1 (Feb-09)	-0.550
2 (Mar-09)	-0.555
3 (Abr-09)	-0.545
4 (May-09)	-0.533
5 (Jun-09)	-0.546
6 (Jul-09)	-0.541
7 (Dic-09)	-0.555
8 (Ene-10)	-0.548
9 (Mar-10)	-0.538
10 (Abr-10)	-0.542
11 (May-10)	-0.541
12 (May-10)	-0.543
MEDIA	-0.545
D.S	0.01
C.V	1.20

Los valores del punto crioscópico (P.C) están dados en grados Horvet (°H)

Se observó que la media del punto crioscópico (-0.545°H) está dentro de lo establecido por la NOM-155, y sólo el 8.33% de las muestras estuvieron fuera del límite. En la muestra de mayo del 2009 la leche convencional presentó un punto crioscópico de -0.533°H, debido a una posible adición de agua, relacionada con una disminución en el contenido de grasa, caseína y sólidos totales, probablemente producto de una dilución de la leche con agua. La diferencia de estos valores mostró una DS de 0.01 y un CV de 1.20%, lo que indica que el punto crioscópico de las muestras de leche cruda convencional fue estable durante ambas épocas del año (ver tabla 7).

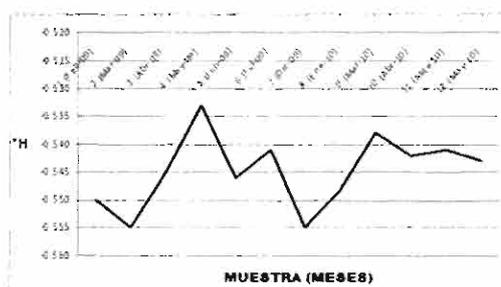


Figura 12. Punto crioscópico en muestras de leche cruda convencional de Tizayuca, Hidalgo

°H= grados Horvet
 Época de lluvia (mayo a octubre)
 Época seca (noviembre a abril)

El punto crioscópico de las muestras de leche cruda convencional no se vio afectado por las épocas del año (lluvia y seca). Los datos de este estudio difieren a lo estudiado en el 2007 por Bernal y col., quienes en dos regiones del estado de México encontraron que de 360 muestras analizadas, el 6.4% presentaron adición de agua durante la época de seca, ya que en esa época la condición corporal de los animales es mala debido a la limitación del alimento en comparación a la época de lluvia, por lo que el volumen de leche disminuye y propicia malas prácticas de producción, como el adición de agua.

3.3.1.2 Leche orgánica

En la siguiente tabla se muestran los valores del punto crioscópico de las muestras de leche orgánica.

Tabla 8

Punto crioscópico en muestras de leche orgánica producida en Tuxpan, Veracruz

MUESTREO	PUNTO CRIOSCÓPICO (°H)
1 (Ocl-08)	-0.543
2 (Dic-08)	-0.539
3 (Ene-09)	-0.555
4 (Mar-09)	-0.559
5 (Abr-09)	-0.533
6 (May-09)	-0.533
7 (Jun-09)	-0.533
8 (Jul-09)	-0.541
9 (Sep-09)	-0.547
10 (Nov-09)	-0.553
11 (Dic-09)	-0.567
MEDIA	-0.546
D.S	0.01
C.V	2.11

Los valores del punto crioscópico (P.C) están dados en grados Hortvet (°H)

Con base en la tabla 8, se pudo observar que el 36.36% de las muestras están fuera del límite con referencia a lo establecido en la NOM-155 (-0.536 a -0.560); sin embargo la media (-0.546°H) de esta variable permanecen en los límites estipulados por la legislación. Así mismo se puede observar que la DS obtenida en las muestras de leche cruda orgánica fue de 0.01 y el CV fue de 2.11%.

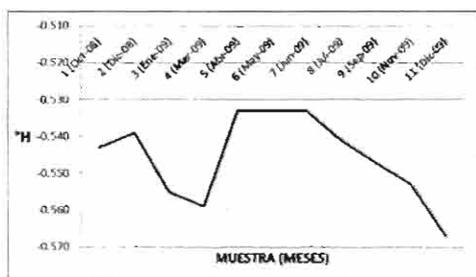


Figura 13. Punto crioscópico en muestras de leche cruda orgánica de Tuxpan, Veracruz

°H= grados Horvet
 Época de lluvia (mayo a octubre)
 Época seca (noviembre a abril)

Las muestras analizadas de leche orgánica presentaron en los meses de abril, mayo y junio valores del punto crioscópico ligeramente por encima de los establecido por la legislación, mientras que la muestra de leche de diciembre presentó el valor más bajo (-0.567), el cual tiene relación con el porcentaje de acidez y con el valor de pH de la misma muestra, debido posiblemente a la presencia de microorganismos en la leche. Guevara y col., (1998) informan que el punto crioscópico puede verse afectado por la acidificación de la leche, en cuyo caso el punto crioscópico disminuye.

Es importante mencionar que el punto crioscópico es afectado por las exigencias del mercado y por las condiciones de las diferentes épocas del año (Bernal y col., 2007), sin embargo en el presente estudio dicha variable no presentó diferencias significativas entre épocas de lluvia y seca.

3.3.2 Aflatoxina M1

En la tabla 9 se puede observar que el 54.55% de las muestras de leche orgánica y el 50% de las muestras de leche convencional sobrepasan los límites máximos permisibles (LMP) para aflatoxina M1 establecidos en México (0.5µg/Kg) (FAO, 2004).

Tabla 9

Frecuencia de ocurrencia de AFM1 en leche cruda orgánica y convencional por intervalo de concentración (LMP= 0.5 µg/Kg)

Tipo de leche	0 – 0.5	0.51 – 0.7	0.71 - 1	> 1µg/Kg	Mediana µg/Kg
Orgánica (n=11)	5	1	1	4	0.5300
Convencional (n=12)	6	1	2	3	0.5069

Total de muestras: 23

Tabla 10

Frecuencia de ocurrencia de AFM1 en muestras de leche cruda orgánica y convencional en relación a la época del año (LMP= 0.5 µg/Kg)

Época del año	0 - 0.5	0.51 - 0.7	0.71 - 1	> 1µg/Kg
Lluvia	5	1	1	3
seca	6	1	2	4

Total de muestras: 23
 Lluvia (mayo-octubre)
 Seca (noviembre- abril)

Se observó (ver tabla 10) que en la época de lluvia (mayo a octubre) el 21.73% de las muestras de leche convencional y orgánica se encontraron por debajo del LMP para aflatoxina M1 y el 26.08% en época seca, sin embargo el 21.73% de las muestras de leche convencional y orgánica excedieron el contenido de AFM1 en época de lluvia y el 30.43% en época seca, según lo dispuesto en la NOM-184-SSA1-2002.

Con el análisis de medianas y percentiles se observó que la mediana de las muestras de leche orgánica fue de 0.5300 µg/Kg y está al 6% por arriba del LMP establecido en México, mientras que la mediana de las muestras de leche convencional fue 0.5069 µg/Kg y está al 1.38% por arriba de 0.5 µg/Kg (ver figura 14).

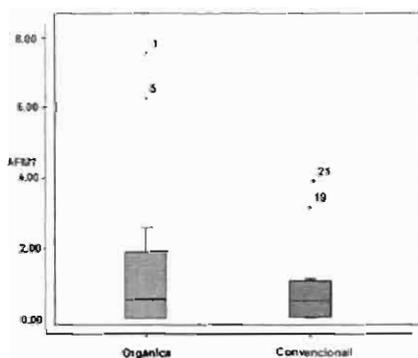


Figura 14. Medianas y percentiles para el contenido de AFM1 en muestras de leche cruda orgánica y convencional

3.3.2.1 Leche convencional

En el mes de diciembre (2009) y mayo (2010) no se detectó contenido de AFM1 en las muestras de leche, sin embargo el 66.66% de las muestras rebasó el LMP por la Comunidad Europea (UE), establecido en el 2003 por Official Journal of the European Union (0.05 µg/Kg); y el 50% el LMP en México (0.5 µg/Kg).

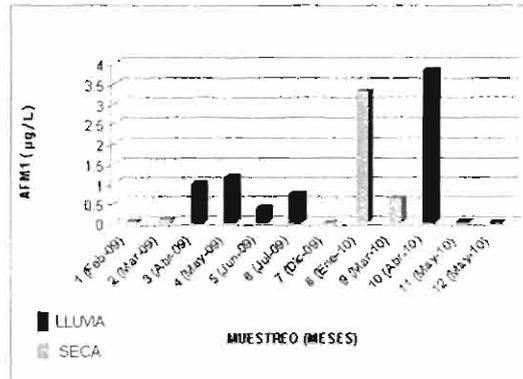


Figura 15. Contenido de aflatoxina M1 en leche cruda convencional de Tizayuca, Hidalgo

En la figura anterior se observan niveles altos de contenido de AFM1 en las muestras tomadas en la época de lluvia, lo cual refleja que la época del año puede influir en la inocuidad de la leche cruda producida de forma estabulada.

A partir de 1996 en países como Francia, Italia, Alemania, Holanda y Portugal se reportaron niveles de contaminación con AFM1 para leche fluida comercial de 0.001 y 0.060 µg/Kg (CAST, 2003).

En México los primeros estudios sobre la presencia de AFM1 en leche fluida fueron realizados por Esqueda y col., (1995), Carvajal y col., (2003), y Córdova y col., (2005). En el 2007, Pérez realizó un estudio con muestras de leche cruda y pasteurizada, encontrando que el 50 y el 60% de las muestras respectivamente, estaban por encima de lo establecido por la normativa europea (0.05 µg/Kg); obteniendo una mediana para leche cruda de 16.21 µg/Kg y una mediana de 16.1 µg/Kg para leche pasteurizada.

Los resultados del presente estudio fueron diferentes a los registrados por Reyes y col., (2009), quienes evaluaron 40 muestras de leche cruda provenientes del estado de Jalisco. La AFM1 se presentó en el 80 % de las muestras de leche analizadas, en niveles de 0.006 a 0.065 µg/Kg (media = 0.023 ± 0.016 µg/Kg). Ninguna de las muestras sobrepasó el nivel permitido por la regulación (0.5 µg/kg), mientras que los resultados de ésta investigación son similares a los determinados por Pérez, 2007.

Las concentraciones de AFM1 registradas en el presente trabajo difieren también con los resultados obtenidos en Portugal (2000) en donde se analizaron 101 muestras de leche fluida, la incidencia de contaminación fue del 80.6% para la leche cruda con intervalos de 0.005 a 0.05 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ y el 14.28% de la leche UHT presentaron valores menores a 0.005 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (Martins y Martins, 2000). También difieren de lo reportado para Italia en 2001 donde se analizaron 161 muestras de leche fluida; el 78% de las muestras presentaron contaminación con AFM1 entre 0.001 y 0.0235 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ con una media de 0.0063 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (Galvano y col., 2001).

Cabe mencionar que la producción agrícola se ve afectada en más de un 25% con la presencia de algún tipo de micotoxinas, por lo tanto es de esperarse que se encuentren niveles violatorios del Límite Máximo Permisible de AFM1 en leche para consumo humano (Escobar y col., 2005).

3.3.2.2 Leche orgánica

En las muestras de leche orgánica de los meses de diciembre 2008 y enero 2009 (época seca) además de junio y julio 2009 (época de lluvia) no se detectó AFM1. En octubre del 2008 (época de lluvia) se presentó el dato más alto de contenido de AFM1 (7.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (ver figura 16).

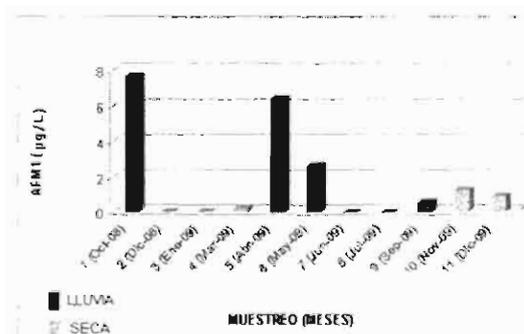


Figura 16. Contenido de aflatoxina M1 en leche cruda orgánica de Tuxpan, Veracruz

El 63.63% de las muestras de leche orgánica presentaron niveles de AFM1 por arriba de los límites establecidos por la Unión Europea y un 45.45% presentaron niveles superiores al valor establecido por la NOM-184-SSA1-2002 (0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

En el 2007, Pérez determinó la presencia de AFM1 en leche ultrapasteurizada orgánica que se comercializaba en la Ciudad de México y encontró que el 20% de las muestras presentaron AFM1 con valores superiores al LMP establecido por la Unión Europea (0.05 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), lo cual es similar en lo observado en las muestras de leche cruda orgánica de esta investigación.

México carece de estudios sobre la situación actual referente a la presencia de AFM1 en leche orgánica comercializada en el país; sin embargo se han realizado trabajos a nivel internacional sobre el efecto de la época del año en la presencia de AFM1 en leche. Montaño y col., (2007) analizaron 20 muestras de leche de cinco diferentes comunidades del Municipio de Achacachi, Bolivia, en dos épocas: lluvia (abril, mayo) y seca (agosto, septiembre). De las 20 muestras, 5 resultaron positivas con niveles de concentración por encima del LMP 0.05 µg/Kg, 4 de ellas en época de lluvia (0.18, 0.12, 0.089, 0.077 µg/Kg respectivamente) y en época seca, sólo una muestra presentó AFM1 (0.05 µg/Kg).

En Corea del Sur donde rigen valores de LMP más estrictos para AFM1, se encontró que de un total de 100 muestras, el 48% presentó AFM1 en niveles de 0.002-0.08 µg/Kg con valor medio de 0.026µg/Kg. El 60% de las muestras contaminadas contienen niveles de AFM1 por debajo del límite de la norma coreana (0.02 µg/Kg) (Eun-Lee y col., 2009).

La presencia de aflatoxina M1 en 120 muestras de leche cruda de vacas provenientes de Pakistán, presentaron un 52.5% de contaminación y el valor medio de las muestras fue de 0.044 µg/Kg (Hussain y col., 2008).

Los resultados del presente estudio son similares a los reportados en Kenya, de 613 muestras, el 77% de la leche resultó positivo; el 23% de las muestras positivas superaron el LMP por la OMS/FAO de 0.05 µg/Kg (Kang y Lang, 2009).

3.4 Conclusiones

En la composición de sustancias propias de la leche cruda tipo convencional (Tizayuca, Hidalgo), no se observaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en los componentes de la leche obtenida en época de lluvia y seca, esto se debe a que la alimentación en la producción estabulada es controlada durante todo el año.

En la producción orgánica y la composición física y química de la leche dependen de la alimentación (forraje), la cual está bajo influencia de las condiciones ambientales (humedad relativa y temperatura). En este estudio se observó que la época del año afectó al porcentaje de acidez y al contenido de lactosa ($P < 0.05$) de la leche orgánica, presentando una disminución de lactosa en la época de seca.

Las medias del punto crioscópico de las muestras de leche convencional y orgánica analizadas (-0.545 y -0.546°H respectivamente) permanecieron en los límites establecidos por la norma oficial mexicana para leche, sin embargo se observaron cinco muestras con valores fuera de estos límites. En la muestra de leche orgánica colectada en el mes de diciembre se observó que el valor del punto crioscópico (-0.567°H) tuvo correlación negativa con el porcentaje de acidez y pH de la muestra, debido probablemente a la presencia de

microorganismos. La muestra de leche convencional (mayo del 2009) y las muestras de leche orgánica (abril, mayo y junio) presentaron valores del punto crioscópico de -0.533°H , debido a una posible adición de agua. A pesar de que no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) es evidente que existe una variación del punto crioscópico en la leche cruda de ambos tipos, durante el año de estudio.

El 47.83% del total de las muestras de leche cruda (orgánica y convencional) presentaron niveles de AFM1 superiores al valor establecido por NOM-184-SSA1-2002, debido a que las fluctuaciones en el clima tienen efecto a favor de la contaminación fúngica de los alimentos, afectando el contenido de AFM1 en leche cruda obtenida en época de lluvia.

Capítulo 4. Recomendaciones

Con base en resultados obtenidos es importante para los ganaderos verificar la composición física y química de la leche cruda, para conocer si el producto cumple con las especificaciones descritas en las normas mexicanas, así como la posible adulteración de la leche por agua que afectan su calidad e inocuidad con la que llegan a los consumidores.

El consumo de alimentos contaminados con aflatoxinas por animales productores de leche representa un riesgo potencial a la salud pública y animal, por lo que se debe considerar los factores que favorecen el crecimiento de mohos como *A. flavus* y otros que producen micotoxinas como la AFB1. Así mismo es importante comprender el impacto que tiene el clima sobre la inocuidad de la leche, permitiendo el desarrollo de procedimientos de gestión, para un mejor monitoreo y ajuste de las prácticas de producción lechera tanto orgánica como convencional, en la previsión del cambio climático global.

Dada la poca información que existe en México sobre la calidad e inocuidad (AFM1) de la leche orgánica, es importante continuar realizando estudios considerando diferentes sistemas de producción animal, épocas del año y áreas geográficas para evaluar los niveles de contaminación en una región más amplia de México.

Bibliografía

- Affi, A., Clark, V. y May, S., (2004). Computer Aided Multivariate Analysis, Fourth Edition. Boca Raton. Probability for Analysts: Chapman and Hall, pp 1- 5.
- Agudelo, D. y Bedoya, O., (2005). Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. Revista Lasallista de Investigación. 2 (1): 38-42.
- AOAC, (1995a). Official Method 971.22. Standards for Aflatoxins. First Action 1981, Final Action 1988. *ISO 14718 Alimento balanceado para animales. Determinación del contenido de aflatoxina B1 en mezcla de alimentos balanceados: usando el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución*: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC, (1995b). Official Method 986 16. Aflatoxins M1 y M2 in fluid milk. Liquid Chromatographic Method. First Action 1986, Final Action 1990.
- Bellido, M., Escribano, M., Sánchez, F J., Díaz, M., Rodríguez, A. y García, P., (2001). Sistemas extensivos de producción animal. Archivos de Zootecnia. 50: 465-489.
- Bergamo, P., Torjusen, H., Wyss, G. y Brandt, K., (2005). Producción de Leche. Control de la Calidad y Seguridad en las Cadenas de Producción Orgánica. Research Institute of Organic Agriculture FIBL, CH-5070 Frick, Switzerland. pp 3-5.
- Bernal, L., Rojas, M., Vázquez, C., Espinoza, A., Estrada, J. y Castelán, O., (2007). Assessment of the physicochemical quality of the raw milk produced in smallholder dairy systems in two regions of the State of Mexico. Revista Veterinaria México 38 (4): 395-407.
- Brunnet, L., García, L., Vega, S., De León, F. y Castillo, H., (2003). La producción de leche orgánica, una primera aproximación documental. Ganadería mexicana en el nuevo milenio. Situación, alternativas productivas y nuevos mercados Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, pp: 231-239.
- Campos, M., (2004). Informe del sector orgánico. Ministerio de Economía y Producción. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos N° 6: 1-5. En sitio web: www.alimentosargentinos.gov.ar/03/organico/Informes/Organicos_2.pdf, consultado en mayo del 2009.
- Carvajal, M., (2002). Investigación sobre las Aflatoxinas. Departamento de Botánica. Instituto de Biología, UNAM. México. D.F, pp: 1-4.

- Carvajal, M., Bolaños, A., Rojo, F., y Méndez, I., (2003). Aflatoxin M1 in pasteurized and ultrapasteurized milk with different fat content in México. *Journal of Food Protection*. 66 (10):1885-1892.
- CAST (Council for Agricultural Science Technology), (2003). *Mycotoxins: Risks in Plant, Animal, Human Systems*. Task Force Report, N° 139. Ames, Iowa, pp: 1-199.
- Castelán, O., Bernal, L., Rojas, M., Rosales A., Vázquez, C. y Espinoza, A., (2006). Determinación de la calidad fisicoquímica de leche producida en sistemas campesinos del centro de México- Perspectivas de ingreso al mercado formal de lácteos. *Universidad Autónoma del Estado de México*, pp: 23-25.
- Cochran, W. (1976). *Técnicas de muestreo*. Compañía Editorial Continental. México, D. F, pp: 507.
- COFEPRIS, (1999). Red Interamericana de Laboratorios de Análisis de Alimentos (RILAA). En sitio web: <http://cofepris.salud.gob.mx/inter/rilaa.htm>, consultado en diciembre del 2009.
- Comerón, E., Andreo, N., Salto, C., Romero, L., Calvino, L., Maciel, M., Abdala, A. y Vottero, D., (1999). Leche y lácteos orgánicos certificados: Experiencia en productos e industrialización. *Revista Tecnología de alimentos*. Disponible en: http://rafaela.inta.gov.ar/productores97_98/p57.htm
- Comerón, E. y Salto, C. (2000). La producción orgánica de alimentos. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Disponible en: http://rafaela.inta.gov.ar/anuario2000/a2000_p69.htm
- CCFAC. Comité del Codex sobre Aditivos Alimentarios y Contaminantes de los Alimentos, (2008). Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación por aflatoxinas en los higos secos. pp1-7. En sitio web: www.codexalimentarius.net/download/standards/.../CXP_065s.pdf
- COFOCALEC. Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus derivados A.C. COFOCALEC NMX-F-718-COFOCALEC-2006. Sistema Producto Leche Alimentos Lácteos. Guía para el muestreo de leche y productos lácteos.
- Córdova, A., Muñoz, R., Peña, S., Pérez, J., y Saltijeral, J., (2005). Identification of Aflatoxin M1 in milk. *Journal Warchaw, Poland*. 2:380-383.

- Cotty, P. y García, R., (2007). Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *International Journal of Food Microbiology* 119: 109-115.
- Duarte, S. y Villamil, L., (2006). Micotoxinas en la Salud Pública. Universidad de Colombia. *Rev. Salud Pública*. 8(1): 129-135.
- Escobar, A., Vega, S., Gutiérrez, R., Coronado, M. y Díaz, G., (2005). Aflatoxina M1 en leche y derivados lácteos. Actualidad y perspectivas en América Latina. *Carnilac*, 4 (2):21-27.
- Espinosa, J., Palacios, A., Ávila, N., Guillen, A., Luna, R., Ortega, R. y Murillo, B., (2007). La ganadería orgánica, una alternativa de desarrollo pecuario para algunas regiones de México: una revisión. *Interciencia*. 32 (6): 385-390.
- Esqueda, M., Higuera, I., y Nieblas, J., (1995). Aflatoxina M1 en leche comercializada en Hermosillo, Sonora. *Revista Mexicana de Micología*, 11 (30):179-183.
- Eun-Lee, J., Kwak, B., Ahn, J. y Jeon, T., (2009). Occurrence of aflatoxin M1 in raw milk in South Korea using an immunoaffinity column and liquid chromatography. *Food Control*, 20:136–138.
- FCV. Facultad de Ciencias Veterinarias, (2002). Determinación de adulteración de la leche con agua, cloruros y sacarosa: Guía Práctica. Departamento de Producción e Industria Animal. Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, pp: 1-10.
- FAO, (1998). Sistemas de producción bovina en las Américas. En: <http://www.rlc.fao.org/es/prioridades/transfron/eeb/gana/sispro.htm>, consultado en febrero del 2009.
- FAO, (1999). Agricultura orgánica: Impactos mundiales. Extractos de la reunión del Comité de la Agricultura de la FAO. Roma, pp: 1-12. En sitio web: <http://www.fao.org/docrep/meeting/X0075s.htm>
- FAO, (2004). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003. Alimentación y nutrición. En: http://www.fao.org/es/ESN/index_en.stm
- FAO y OMS, (2003) Informe de la 30ª reunión de la Comisión del Codex Alimentarius sobre etiquetado de los alimentos, 6-10 de mayo de 2002, Canadá.
- FIL-IDF 50 B: 1995. Métodos estándares para la toma de muestras de leche y productos lácteos.

- FIL-IDF 108 B: 1991. Determinación del punto crioscópico (congelación) de la leche.
- FIL-IDF 141A: 1990. Determinación simultánea de la materia grasa, proteína y lactosa por espectroscopia Infrarroja.
- Galindo, L., Valbuena, E. y Rojas, E., (2006). Estandarización de la detección del glicomacropéptido como índice de Adulteración de leche. *Revista Científica*. 16 (3): 308-314.
- Galvano, F., Galofaro, V., Ritieni, A., Bognanno, M., y Galvano, G., (2001). Survey of the occurrence of aflatoxin M1 in dairy products marketed in Italy: second year of observation. *Food Additives and Contaminants*, 18: 644-646.
- García, J.E., (2001) Situación y perspectivas de la agricultura orgánica en México, pp: 116-124. En sitio web: http://web.catie.ac.cr/informacion/mip/rev64/agri_organica.pdf
- Gimeno, A., (2000). "Los hongos y las Micotoxinas en la Alimentación Animal; Conceptos; Problemas, Control y Recomendaciones". En: www.engormix.com, consultado en mayo del 2009.
- Gimeno, A. y Martins, M.L., (2003). Micotoxinas y Micotoxicosis en Animales y Humanos. *Special Nutrients*. Inc. USA (Ed.). Talleres gráficos del SRL, Buenos Aires, pp. 1-160.
- Godínez, C., (2007). Determinación de antibióticos en leche fluida orgánica por Cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) e identificación de aflatoxinas B1 y M1 por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC). Tesis Maestría en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana, pp 2-23.
- Gómez, R., Ullate, R. y Serrano, A., (2008). Cromatografía: Principios y aplicaciones. En: http://www.profeonline.com/laboratorioquimico/mod_12/docs/cromatografia_fundamentos_y_aplicaciones.pdf
- González, A., (2005). Características físico-químicas de la leche. *Babcock Institute, Michigan State University, Madison, U.S.A.* pp: 345-356.
- Guevara, L., Rodríguez, T., Pacheco, C y Verde, O., (1998). Factores climáticos sobre índices fisiológicos y producción de leche en vacas lechera. *Veterinaria Tropical, Venezuela* 5: 51-68.
- Henry, S., Whitaker, T., Rabbani, I., Bowers, J., Park, D., Price, W., Bosch, F., Pennington, J., Verger, P., Yoshizawa, Y., Egmond, H.,

Jonker, M. and Coker, R., (2002). Aflatoxin M1. Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. En sitio web: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v47je02.htm>

- Hussain, I., Anwar, J., Munawar, M. y Rafiq, M., (2008). Variation of levels of aflatoxin M1 in raw milk from different localities in the central areas of Punjab, Pakistan. *Food Control*, 19: 1126-1129.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e informática, (2007a). Producción de leche. En sitio web: <http://w4.siap.gob.mx/sispro/portales/pecuarios/lechebovino/situacion/descrpcion.pdf>, consultado en febrero del 2009.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e informática, (2007b). Anuario estadístico de Hidalgo, Pachuca. Gobierno del estado de Hidalgo, vol. 2, pp: 145-162.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística Geográfica e informática, (2007c). Anuario estadístico de Veracruz de Ignacio de la Llave. Gobierno del estado de Veracruz, vol.3, pp: 187-190.
- INTA. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Proyecto Nacional de Lechería, (2002). Composición química de la leche. Disponible en: http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/produccion_animal/calidad/pnl_cql.pdf
- Jahn, E. (1996). La pradera en los sistemas de leche bovina. *En*: Ruiz N., I. (Ed.) Praderas para Chile. 2ª ed. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Santiago, Chile, pp: 658-664.
- Kang, E. y Lang, K., (2009). Aflatoxin B1 and M1 contamination of animal feeds and milk from urban centers in Kenya. *African Health Sciences*, 9 (4): 218-226.
- Komarova, N., (2000). Determination of Aflatoxin M1 in Milk Using Solid-Phase Extraction and High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Journal of Analytical Chemistry*; 55 (10): 929-932.
- Martínez, M., Andrés, L. y Sánchez, J., (2007). Factores nutricionales que afectan a la composición de la leche. Disponible en: http://www.engormix.com/factores_nutricionales_afectan_composicion_s_articulos_1466_GDL.htm
- Martins, M., y Martins, H., (2000). Aflatoxin M1 in raw and ultra high temperature-treated milk commercialized. *Food Additives and Contaminants*, 17: 871-874.

- Medina, A. L., Gonzalez, I. y Quintero, F., (1998) Study of Cryoscopy-Chloride Relationships on Raw Milk Produced in the High Lands of Merida State, Venezuela. *Revista Científica, FCV-Luz*, 8 (4): 337-345.
- Mohammad, I., Hamayun, K., Syed, H. y Rasool, K., (2008). Características físico-químicas de las muestras de leche de distintos recursos existentes en Pakistán. *Universidad de Zhejiang B. Ciencia y Tecnología* 9 (7): 546-551
- Montaña, V., Chirico, M. y Gemio, R., (2007). Estudio Toxicológico de presencia de aflatoxina M1 en leche bovina recolectada del municipio de Achacachi. *Revista Boliviana de Química*, 24 (1): 89-93.
- Morales, S. y María, S., (1999). Factores que afectan la composición de la leche. *Facultad de Ciencias Veterinarias y pecuarias. Tecno Vet*, 5 (1): s/p.
- Noa, M., Pérez, N., Díaz, G. y Vega, S., (2005) Cromatografía de gases y de líquidos de alta resolución: Aplicación en el análisis de alimentos. Ed. UAM, México.
- Norma Oficial Mexicana NOM-184-SSA1-2002. Productos y servicios. Leche, fórmula Láctea y Producto Lácteo combinado. Especificaciones sanitarias.
- Norma Oficial Mexicana NOM-F443-1983; SS, 1989: Leche Fluida. Punto de Congelación, Crioscopio de Hortvet. Método de Prueba para productos lácteos y sus derivados.
- Norma Oficial Mexicana NOM-037-FITO-1995. Especificaciones del proceso de producción y procesamiento de productos agrícolas orgánicos.
- Norma Oficial Mexicana NOM-155-SCFI-2003, Leche, fórmula láctea y producto lácteo combinado-Denominaciones, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.
- Ñuñoa, J., (2008) Alimentos orgánicos, beneficios a la salud y al ambiente. Disponible en: <http://www.ecosistemas.cl/1776/article-80672.html>
- Official Journal of the European Union, (2003). Amending regulation (EC) 466/2001 as regard aflatoxins. 12 december 2003. Commission Regulation (EC) No. 2174/2003. L326/12.
- Oliveira, A.C., Rosmaninho, J. y Rosim, R., (2006). Aflatoxin M₁ and cyclopiazonic acid in fluid milk traded in Sao Paulo, Brazil. *Food Additives and Contaminants*. 23(2): 196-201.

- Ortega, J.A., Tortajada, J., Ortí, A., López, J.A., Canovas, A., García, J., Aliaga, J., Alcón, A., Beseler, E., Andreu, E., Molini, N., Navarro, I., (2002). Contaminantes medio-ambientales en la alimentación. Grupo de Trabajo de Salud Medioambiental de la Sociedad Valenciana de Pediatría, pp 69-76.
- Pinto, M., Vega, S. y Pérez, N., (1996). Análisis de los principales componentes de la leche. En: Métodos de análisis de la leche y derivados: garantía de calidad. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco. México, D.F. pp.157-273.
- Pedraza, A., (1999). Evaluación de costos de operación, de la producción de leche en pequeña escala en el ejido San Cristóbal, municipio de Almoloya de Juárez, Estado de México. Tesis de licenciatura Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma del Estado de México
- Perea, E., (2007). Perspectivas del mercado de leche orgánica en México. Tesis Maestría en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Pérez, J.J., (2007). Determinación de Aflatoxina M1 en quesos y leches cruda, ultrapasteurizada y orgánica que se comercializan en la Ciudad de México. Tesis Maestría en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Pineda, D., (2007) Identificación de antibióticos en leche fluida convencional por cromatografía de líquidos de capa fina de alta resolución (HPTLC) e identificación de aflatoxinas B1 y M1 por HPLC. Tesis Maestría en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Ralph, E., (1998). The Technology of Dairy Products. Germany First edition 1992, second edition 1998, pp: 35-46.
- Reyes, B. y Soltero, S., (2006). Requerimientos de mejora en calidad de leche cruda en México. Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus Derivados, A.C. (COFOCALEC), Organismo Nacional de Normalización y Evaluación de la Conformidad del Sistema Producto Leche en México. En: www.cofocalec.org.mx/REQUERIMIENTOS%20DE%20MEJORA%20EN%20CALIDAD.
- Reyes, W., Martínez, S., Espinosa, V., Nathal, M., De Lucas, E. y Rojo, F., (2009). Total aflatoxins in cows feed and AFM1 in milk in dairy herds from Jalisco State, Mexico. Técnica Pecuaria en México, 47(2):223-230.

- Rivas, F. y Godoy, B., (2005). La leche de vaca y sus contaminantes: Su historia y origen. En sitio web: <http://www.adinte.net/castelseras/Recetas/alimento/lechevac.htm>, consultado en agosto del 2009.
- SIAP. Sistema de información Agrícola y Pecuaria, (2010). Secretaría de Agricultura Ganadería y Recursos Pesqueros (SAGARPA). Disponible en: <http://www.siap.gob.mx>
Fecha de consulta: 9/09/2010.
- Soriano, J., (2007). Micotoxinas en alimentos. Ediciones Díaz de Santos. España, pp: 391.
- Steyn, P. y Stander, M., (1999). Mycotoxins as causal factors of disease in humans. *Journal of Toxicology-Toxin Reviews*, 18:229-243.
- Taverna, M. y Coulon, J., (2000). Calidad de la leche y de los quesos Ed. INTAPRDAN. Argentina: 89-115.
- Urrego, J. y Díaz, G., (2006). Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, pp 1-10.
- Vallone, L., Boscaroli, L. y Dragoni, I., (2006) Aflatoxins in Organic Milk and Dairy Products. *Veterinary Research Communications*. 30 (1) 369-370.
- Vargas, T., (2001). Calidad de la leche: visión de la industria láctea. Fundación INLACA; Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, pp: 321-339.
- Vega, S., García, L., Brunnet, L., Castillo, H. y De León, F., (2004). Elementos por considerar en el proceso de verificación de la calidad e inocuidad de la leche orgánica, en: Memorias del Congreso Nacional Agroindustrial 2004. Chapingo, Edo de México.
- Vega, S., Coronado, M., Gutiérrez, R., Garcia, A. y Díaz, G., (2006) Un aporte sobre la industria láctea orgánica y la innovación tecnológica. *Revista Mexicana de Agronegocios*. 19: 1-20.
- www.explorandomexico.com.mx/map-gallery/0/38/
- www.explorandomexico.com.mx/map-gallery/0/45/
- www.labquimica.wordpress.com/2008/08/26/la-cromatografia-review/, consultado en mayo del 2010.

- Zinedine, A., González, A., Soriano, J., Moltó, J., Idrissi, L. y Mañes, J., (2007). Presence of aflatoxin M1 in pasteurized milk from Morocco. *Internacional Journal of Food Microbiology*. 114 (1):25-29.

ANEXO 1

Material, equipos y reactivos utilizados para el análisis de características físicas y químicas de la leche (orgánica y convencional)

Material

- Bureta graduada en 1/10mL
- Envases de plástico con tapa de 50mL
- Frascos ámbar de capacidad de 1L
- Frascos de vidrio de capacidad de 1L con tapa
- Malla de acero
- Matraz Erlenmeyer de capacidad de 100mL
- Pipetas de 10 y 0,5mL
- Termómetro de 100 °C
- Vaso de precipitados de 100mL
- Vasos de precipitados de 200mL

Equipos

- Baño de agua Funke Gerber, modelo WB336
- Espectrofotómetro de infrarrojo "Milko-Scan 133B" Foss Electric
- Impresora EPSON, modelo LX-300
- Potenciómetro calibrado

Reactivos

- Agua destilada
- Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1N
- Solución buffer para pH
- Solución de hidróxido de sodio 0,1N
- Solución de fucsina al 0,0005% (m/v) en etanol al 70% (v/v)
- Solución neutra de fenolftaleína al 2% (m/v) en etanol al 70% (v/v)
- Solución de Stella
- Tritón al 0.1%

ANEXO 2

Material, equipos y reactivos utilizados para la evaluación de la adulteración de leche con agua, como sustancia extraña

Material

- Filtros Whatman # 4
- Pipetas volumétricas de 2mL
- Tubos para crioscopio limpios y secos

Equipo

- Crioscopio de termistancia Advanced Instruments, modelo 4D3

ANEXO 3

Material, equipos y reactivos utilizados para el análisis de AFM1 en leche (orgánica y convencional)

Material

- Cápsula de porcelana
- Columna de fase sólida C18
- Columnas para sílica
- Desecador
- Filtros de membrana de acetato de celulosa
- Filtros de membranas para solventes
- Jeringa para HPLC 100µL
- Matraces aforados de 500 y 1000mL
- Matraces cónicos para rotoevaporador de 25 o 50mL
- Micropipetas automáticas
- Probetas graduadas 50,100,250 y 1000mL
- Termómetro
- Tubos de ensayo
- Tubos para cámara de vacío

Equipos

- Balanza analítica Sartorius, modelo TE2101 (d=0.1g)
- Baño técnico Poly Science
- Baño ultrasónico Cavitalor
- Bomba de vacío Edwards, código A46226000
- Cámara de extracción de fase sólida
- Campana de extracción
- Congelador vertical marca Nieto, modelo CVC15 (temperatura de -20 °C)
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución Merck Hitachi, modelo L-6200A
- Detector de fluorescencia LaChrom Merck Hitachi, modelo L-7480
- Estufa Felisa
- Impresora HP
- Programa TOTALCHROM versión 6.2.1
- Recirculador de agua Polystat Cole Parmer
- Rotoevaporador Büchi, modelo R-114
- Vortex

Reactivos

- Acetonitrilo
- Ácido trifluoroacético
- Agua destilada
- Diclorometano
- Estándar aflatoxina M1
- Éter dietílico
- Hexano
- Metanol
- Nitrógeno (gas)
- Silica gel 60 de 230-400mesh (0.040-0.063mm)
- Sulfato de sodio anhidrido

*La vida es similar a un bosque,
ambos son bellos, a veces oscuros, misteriosos y profundos,
caminar por ellos es una gran travesía
e indagar pudiese provocar temor
pero me quedan promesas que cumplir
y millas por delante antes de dormir*