

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**EVALUACIÓN DE BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN HUMANA A
CONTAMINANTES AMBIENTALES DE ORIGEN BIOLÓGICO (MICOTOXINAS)
EN POBLACIÓN INFANTIL INDÍGENA DE LA HUASTECA POTOSINA**

PRESENTA:

L.Q. JESSICA GABRIELA SOLIS MERCADO

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ROGELIO FLORES RAMÍREZ

ASESORES:

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

DR. MARCO MARTÍN GONZÁLEZ CHÁVEZ

AGOSTO 2018

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

PROYECTO REALIZADO EN:

Esta tesis se llevó a cabo en el Laboratorio de Salud Total de la Coordinación para la Innovación Aplicada a la Ciencia y la Tecnología (CIACYT) de la Universidad Autónoma de San Luís Potosí

CON FINANCIAMIENTO DE:

Proyecto de desarrollo científico para atender problemas nacionales 2015-CONACYT

A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:

Rutas Académicas para Insertar a Comunidades en la Equidad Social (RAICES) (PN-2015-1340).

AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS

Becario No. 773958

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

RESUMEN

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios del grupo bis-furano-isocumarina producidas por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Estas micotoxinas suelen encontrarse en alimentos que forman parte de nuestra dieta diaria, en semillas y granos tales como el maíz, arroz, soya, centeno, cacahuates, pistaches, nueces entre otros, que al ser ingeridos afectan a la salud ya que presentan efectos cancerígenos, mutagénicos y teratogénicos. Su producción se da principalmente en lugares cálidos, de alta humedad y de bajos ingresos. La población humana, particularmente aquella cuya dieta básica incluye granos, está en riesgo de exposición a estas aflatoxinas. México es un gran consumidor de granos y semillas principalmente maíz, por consiguiente es necesario monitorear y controlar la contaminación por aflatoxinas en alimentos de consumo humano, así como en aquellos destinados a la alimentación del ganado. A pesar de contar con numerosos estudios que abordan la problemática de la presencia de aflatoxinas en maíz y otros alimentos, existe poca evidencia de estudios realizados sobre la exposición en población vulnerable como son los niños en nuestro país. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el biomarcador de exposición a aflatoxina B₁ lisina en población infantil de las comunidades de Toco, Xolol y Tanjacjtec, San Antonio S.L.P., para evaluar el riesgo a la salud. La cuantificación se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución con detector de fluorescencia, utilizando el aducto aflatoxina B₁-lisina en suero como biomarcador de exposición humana. Se recolectó muestra de sangre de un total de 31 niños de los cuales el 55% fueron niñas y el

45% niños. El promedio de edad fue de 8.9 ± 2.1 años, el peso promedio de 28.8 ± 7.62 kg y la talla promedio fue de 129.8 ± 12.7 cm. A partir de estos se calculó el IMC (Índice de Masa Corporal) con un promedio de 16.9 ± 2.37 . Se evaluó el peso, la talla y el IMC de cada niño para la edad obteniendo que el 13% presentó talla baja, el 9.7% sobrepeso y el 6.4% en obesidad. Se obtuvo un 45.2 % de detección con una mediana (mínimo-máximo) 5.59 (4.82-6.54) pg de AFB₁-lisina/mg de albumina. Derivado de los resultados de este trabajo, es necesario crear un programa de vigilancia de exposición a Aflatoxinas. El biomarcador de exposición AFB₁-lisina es una herramienta importante para la vigilancia de las AFs y sus efectos sobre la salud, por lo que adicionalmente a una intervención estratégica para la prevención de contaminación de sus alimentos promoviendo las buenas prácticas agrícolas y de almacenamiento en las comunidades, sería necesario realizar un monitoreo en población vulnerable (niños y mujeres) especialmente en zonas rurales, donde se ha observado mayor contaminación por estas micotoxinas.

Palabras clave: Aflatoxinas, *Aspergillus flavus*, cancerígeno, maíz, biomarcador.

ABSTRACT

Aflatoxins are secondary metabolites of the bis-furan-isocoumarin group produced by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. These mycotoxins are usually found in foods that are part of our daily diet, in seeds and grains, such as corn, rice, soybeans, rye, peanuts, pistachios, nuts and others, which have carcinogenic, mutagenic and teratogenic effects. These toxins are found mainly in warm places with high humidity and low income. The human population, whose basic diet includes grains, is at greater risk of exposure to these aflatoxins. Mexico is a large consumer of corn, due to this fact it is necessary to monitor and control aflatoxin contamination in foods for human consumption, as well as foods designated for cattle feed. Despite having many studies that address the problem of the presence of aflatoxins in corn and other foods, the evidence of studies conducted on exposure in vulnerable population such as children in our country is scarce. The aim of the present work was to evaluate the biomarker of exposure to aflatoxin B₁, AFB₁-lysine adduct, in children of the communities of Tocoay, Xolol and Tanjacjtec, San Antonio S.L.P., to assess the health risks. The quantification was performed by high performance liquid chromatography with fluorescence detector, using the aflatoxin B₁-lysine adduct in serum as biomarker of human exposure. A blood sample was collected from a total of 31 children of which 55% were girls and 45% boys. The average age, weight and height were 8.9 ± 2.1 years, 28.8 ± 7.62 kg and, 129.8 ± 12.7 cm respectively. From these, the BMI (Body Mass Index) was calculated with an average of 16.9 ± 2.37 . The age, weight, height and BMI of each child were obtained, resulting in 13% of short

stature, 9.7% of overweight and 6.4% of obesity. In 45.2% of the children the adduct was detected, obtaining a median (minimum-maximum) of 5.59 (4.82-6.54) pg of AFB1-lysine/mg of albumin. Derived from the results of this work, it is necessary to create an exposure surveillance program of AFs. The AFB1-lysine exposure biomarker is an important tool for the surveillance of AFs and their effects on health, so in addition to a strategic intervention for the prevention of contamination of food, the promotion of good agricultural practices and storage in communities, it would be necessary to conduct a monitoring in children, women and vulnerable animals, especially in rural areas, where there has been greater contamination by these mycotoxins.

Key words: Aflatoxins, *Aspergillus flavus*, carcinogenic, corn, biomarker.

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

Mi más sincero agradecimiento a mi asesor el Dr. Rogelio Flores Ramírez, por su apoyo, paciencia y dedicación durante la elaboración de esta investigación, por ser tan accesible, buen ser humano y empático con una servidora. Mi admiración para su labor como investigador.

A mis compañeras Lore y Maribel, ya que sin su apoyo no hubiera podido terminar con mi proyecto de tesis, mil gracias por su paciencia, y gran apoyo en momentos difíciles. Las admiro por ser unas personas tan trabajadoras y perseverantes en todo lo que hacen. La mejor de las suertes en todos sus proyectos futuros. Las quiero mucho.

A mis asesores el Dr. Fernando Díaz Barriga Martínez y al Dr. Marco Martín González Chávez por haber estado al pendiente de mi desenvolvimiento y avances.

A todas aquellas personas que me topé en este camino, les agradezco de todo corazón su granito de arena para una servidora.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Le agradezco principalmente a Dios por haberme permitido finalizar una meta más en mi vida, Él más que nadie sabe lo difícil o sencillo que fue para mí, terminar con este proyecto de maestría.

A mi esposo Pedro Pablo Martínez Cuevas, por su gran apoyo en momentos difíciles, por su paciencia en momentos de frustración, por ser mi soporte, mi compañero de vida, mi cómplice, mi amigo, mi vida, el padre amoroso y responsable, por levantarme los ánimos en momentos de estrés y por siempre sacarme una sonrisa cuando más lo necesitaba. Infinitas gracias mi vida. Te amo demasiado.

A mis hijos Jessica Giselle, Pedro Emmanuel y André Gael, por ser el motor de mi vida, por enseñarme que la vida es un gran regalo que hay que disfrutar a cada momento, por decirme un “TE AMO MUCHO MAMÁ” cuando más lo necesitaba, por entender mis ausencias a pesar de su corta edad, por iluminar mi día con sus tiernas caritas y encenderme por alguna travesura que son parte de la vida. Mil gracias mis amores. Los amo con toda mi alma, esto es por y para ustedes.

A mis padres Marichu y Pedro, por haberme dado la vida, por ser la afortunada hija única entre tres hombres, por amarme tanto, por estar siempre ahí, por su incondicional apoyo para con mi familia, por ser un ejemplo a seguir, gracias por dedicar su valioso tiempo para cuidar a mis hijos cuando lo necesité, por sacrificar situaciones, por limitar su tiempo, espacio, vida social para permitirme finalizar esta etapa de mi vida. Mami: infinitas gracias, sin tu gran ayuda no hubiera podido, eres la mejor. Papi: eres lo máximo. Los amo infinitamente.

A mis hermanos Pedro Luis, José Carlos y Alejandro, por ser parte importante de mi vida, porque cada uno tiene un lugar especial en mi corazón, por los momentos de convivencia, que atesoro para toda la vida, porque un abrazo suyo es una recarga de energía. Porque a pesar de las múltiples ocupaciones de cada uno, existe algún momento para coincidir. Nunca se rindan y a echarle ganas hermanos, que esto apenas comienza. Los amo muchísimo.

A mis suegros Ana Lilia y Manuel, por su gran apoyo para con mi familia, por ser tan buenas persona y excelentes abuelitos, por tener unos extraordinarios seres humanos de hijos, gracias cuñis, Saris y Manolo, por quererme como una hermana más y por querer a mis niños tanto y estar ahí cuando los necesitamos.

A mis cuñadas y sobrinos, por ser parte tan importante de este núcleo familiar tan especial. Por sus buenas vibras, cariño y palabras de aliento.

Los amo familia, porque sin ustedes no sé qué hubiera hecho, a todos ustedes les dedico esta tesis, todo mi esfuerzo, sudor, lágrimas, alegrías, desesperaciones y triunfos que me permitieron concluirlos.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características físico-químicas de las Aflatoxinas.	26
Tabla 2. Límites máximos permisibles de Aflatoxinas en productos derivados de maíz	34
Tabla 3. Condiciones del espectrómetro de masas	43
Tabla 4. Características generales de la población infantil, zona Tének.	51
Tabla 5. Comparación de concentraciones de AB1-lisina en población infantil en distintos sitios.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química de las aflatoxinas.....	23
Figura 2. Rutas de Biotransformación de la AFB ₁ (C.P. Wild & Turner, 2002)	28
Figura 3. Reacción de Epoxidación. Síntesis de AFB ₁ -8,9-epóxido.	40
Figura 4. Reacción de síntesis de AFB ₁ -dialdehído y AFB ₁ -diol.....	40
Figura 5. Reacción de formación del aducto AFB ₁ -lisina.....	41
Figura 6. Localización de las comunidades en el municipio de San Antonio, S.L.P. (INEGI, 2009).	45
Figura 7. Cromatograma de purificación del aducto AFB ₁ -lisina.	47
Figura 8. Cromatograma del aducto AFB ₁ -lisina purificado.	48

Figura 9. Identificación del espectro MS/MS del aducto AFB1-lisina purificado.	49
Figura 10. Cromatograma de muestra de suero de niño de Tocoay.	52
Figura 11. Consumo de alimentos con riesgo de contaminación por aflatoxinas de niños entre 5 y 12 años	53
Figura 12. Comparación de alimentos comprados contra alimentos de autoconsumo.	54
Figura 13. Consumo de tortilla a) por semana, b) por día, c) ingesta de tortilla al día	55
Figura 14. Procesos de Nixtamalización.....	56
Figura 15. Uso de agua de enjuague (nejayote).....	57
Figura 16. Materia prima del proceso de nixtamalización.....	57
Figura 17. Forma de almacenamiento del Maíz.	58
Figura 18. Maíz con hollín por el humo del fogón.	59
Figura 19. Formas de almacenamiento y conservación del maíz.....	59
Figura 20. Cromatograma de insecticida utilizado en maíz de consumo.....	60
Figura 21. Cromatograma de la extracción de muestra de maíz con presencia de clorpirifos.....	61

CONTENIDO

RESUMEN.....	3
ABSTRACT.....	5
AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS.....	7
AGRADECIMIENTOS PERSONALES.....	8
ÍNDICE DE TABLAS.....	9
ÍNDICE DE FIGURAS.....	9
CONTENIDO.....	11
1. ANTECEDENTES.....	14
1.1. Inocuidad alimentaria	15
1.1.1. Riesgos a la Inocuidad Alimentaria.....	16
1.2. Enfermedades No Transmisibles (ENT).....	18
1.3. Micotoxinas	19
1.3.1. Definición.....	19
1.3.2. Factores que promueven el desarrollo de micotoxinas.....	19
1.3.3. Principales micotoxinas	20
1.3.4. Aflatoxinas	21
1.3.5. Principales aflatoxinas	22
1.3.6. Propiedades fisicoquímicas de las aflatoxinas	25
1.3.7. Toxicología de la AFB ₁	26

1.3.8.	Legislación de regulación de niveles de aflatoxinas en alimentos	33
1.3.9.	Relevancia de contaminación del maíz por aflatoxinas en México	35
2.	JUSTIFICACIÓN.....	36
3.	OBJETIVO GENERAL.....	37
4.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
5.	METODOLOGÍA.....	39
5.1.	Diseño experimental.....	39
5.1.1.	Síntesis del aducto AFB ₁ -lisina	39
5.1.2.	Purificación de AFB ₁ -lisina.....	41
5.1.3.	Análisis por UPLC-MS del aducto AFB ₁ -lisina purificado	42
5.1.4.	Validación del método analítico	43
5.2.	Evaluación de la exposición a AFB ₁ en niños indígena.....	44
5.2.1.	Obtención y preparación de la muestra	45
5.2.2.	Procesamiento de muestras	46
6.	RESULTADOS	47
6.1.	Purificación del Aducto AFB ₁ -lisina	47
6.2.	Identificación del aducto AFB ₁ -lisina por UPLC-MS	47
6.3.	Validación del método.....	49
6.4.	Cuantificación de AFB ₁ -lisina en muestras de suero.....	50

6.5.	Frecuencia de consumo de alimentos.....	52
6.6.	Encuesta de nixtamalización.....	55
6.7.	Almacenamiento	58
6.8.	Factor de riesgo adicional detectado	60
7.	DISCUSIÓN.....	62
8.	CONCLUSIONES	71
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	74
10.	GLOSARIO	97
11.	ANEXOS.....	98
11.1.	ANEXO 1: Carta de Consentimiento Informado.....	98
11.2.	ANEXO 2: Encuesta Proceso de Nixtamalización	100
11.3.	ANEXO 3: Frecuencia de Consumo	102

1. ANTECEDENTES

La seguridad alimentaria existe cuando “todas las personas tienen en todo momento acceso físico, social y económico a suficientes alimentos seguros, inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias en cuanto a los alimentos, a fin de llevar una vida activa y sana” (1).

La seguridad alimentaria tiene cuatro componentes: *disponibilidad, estabilidad, utilización y acceso*. La disponibilidad de alimentos se refiere a la existencia de cantidades suficientes de alimentos de calidad adecuada, suministrados a través de la producción interna o de importaciones. La estabilidad significa solventar las situaciones de inseguridad alimentaria. La utilización es el uso de los alimentos a través de una alimentación adecuada, agua potable, saneamiento y cuidados sanitarios, para lograr un estado de bienestar nutricional en el que se satisfagan todas las necesidades fisiológicas, y el acceso a los alimentos es poder contar con los recursos adecuados para poder adquirir alimentos apropiados para una alimentación nutritiva y producir y vender alimentos para su consumo y comercialización (2,3).

La *disponibilidad* y el *acceso* de productos agrícolas se ve afectada por factores como el cambio climático, contaminación por plaguicidas, organismos genéticamente modificados, entre otros (4,5) . Estos elementos afectan directamente a través de sus impactos sobre los rendimientos de los cultivos, sus plagas y enfermedades, la fertilidad del suelo y las propiedades de retención de agua provocadas por la

escasez de los recursos naturales e indirectamente a través de sus impactos en el crecimiento económico, la distribución del ingreso y demanda agrícola, todo esto aunado a una dieta insalubre por la utilización inadecuada de los alimentos, hacen que la falta de seguridad alimentaria sea un factor de riesgo para la salud (6,7).

La inocuidad alimentaria se encuentra directamente relacionada con la dimensión *utilización*. La utilización de los alimentos se entiende como la forma en la que el cuerpo aprovecha los nutrientes presentes en los alimentos y está en función del estado de salud de las personas. La higiene y el saneamiento, la calidad del agua, las prácticas de cuidado de la salud, y la calidad e inocuidad de los alimentos son elementos que determinan el buen aprovechamiento de los alimentos por parte del cuerpo. Otros componentes de la utilización de los alimentos son las buenas prácticas de salud y alimentación, la correcta preparación de los alimentos, la diversidad de la dieta y la buena distribución de los alimentos dentro de los hogares. Si se combinan esos factores con el buen uso biológico de los alimentos consumidos, se tendrá una buena condición nutricional de los individuos (8).

1.1. Inocuidad alimentaria

Hace referencia a todos los riesgos, sean crónicos o agudos, que pueden hacer que los alimentos sean nocivos para la salud del consumidor (5) y busca mediante el conjunto de medidas, normas o controles, preservar la calidad de los alimentos (9).

Los alimentos contaminados pueden convertirse en los principales vehículos de incorporación de sustancias dañinas al ser humano, aumentando la morbilidad y mortalidad a nivel mundial de enfermedades transmisibles y no transmisibles (10). Por ejemplo, en la región de África, cada año 137,000 personas mueren por riesgos asociados a alimentos. Las enfermedades diarreicas causadas por *Salmonella* y *Escherichia coli*, son responsables del 70% de los casos, y el 25 % de la muertes son ocasionados por intoxicación por cianuro y aflatoxinas (11).

1.1.1. Riesgos a la Inocuidad Alimentaria

La contaminación de alimentos puede ocurrir en cualquier etapa de la cadena de distribución alimentaria y pueden ser riesgos de tipo físico, químico y biológico (5,10,12–14).

Los riesgos de contaminación de los alimentos se dividen en:

- **Contaminantes biológicos:** pueden ser bacterias, hongos, levaduras, virus o parásitos, que pueden estar ya presentes en la materia prima, o incorporarse después.
- **Contaminantes químicos:** pueden ser sustancias tóxicas que surgen naturalmente, o que se incorporan en forma accidental a los mismos. Por ejemplo: toxinas naturales (provenientes de hongos, plantas, peces o moluscos). Químicos añadidos como residuos de productos (antibióticos, plaguicidas, antiparasitarios, hormonas, etc.) que se utilizan en el sector agropecuario; productos de limpieza y

desinfección utilizados en las industrias y comercios de alimentos y aditivos de la industria alimentaria incorporados accidentalmente en concentraciones superiores a límites permisibles, entre otros.

- **Contaminantes físicos:** estos pueden ser muy variados en su origen, desde partículas de tierra, trozos de vidrio, metal, piedras, pelos, plumas, hueso, madera, plástico, piezas de equipos, etc., que de alguna manera y en un determinado momento llegan a la materia prima o al alimento, generalmente en forma accidental.

La contaminación de alimentos es un problema que debe ser considerado en un ámbito de carácter social, tecnológico, económico, cultural y político, por ser un problema recurrente en los países en vías de desarrollo, ya que no sólo repercuten en la salud y bienestar de las personas, sino que también tienen consecuencias económicas para individuos, familias, comunidades, empresas y países, afectando a las poblaciones más vulnerables como los lactantes, niños, mujeres embarazadas ancianos y enfermos (9,13,15–17).

La inocuidad de los alimentos, la nutrición y la seguridad alimentaria están relacionadas. El acceso a alimentos inocuos y nutritivos es fundamental para mantener y fomentar la salud. Los alimentos insalubres generan enfermedad y malnutrición. Se estima que por ingerir alimentos contaminados cada año enferman en el mundo unos 600 millones de personas y mueren 420,000 (18).

La malnutrición está asociada a enfermedades no transmisibles, como la diabetes, las cardiopatías, disminución de la respuesta inmune, enfermedades respiratorias, daños en el desarrollo físico y mental, anemia, osteoporosis y cáncer (19–21).

La pobreza, la falta de equidad social y de educación son los mayores obstáculos para lograr la seguridad alimentaria, aumentando así la aparición de ciertas enfermedades favorecidas por la falta de adopción de medidas sanitarias (14).

1.2. Enfermedades No Transmisibles (ENT)

Las ENT son también conocidas como enfermedades crónicas, tienden a ser de larga duración y resultan de la combinación de factores genéticos, fisiológicos, ambientales y conductuales (18).

El 80% de las muertes por ENT se dan en los países de ingresos bajos y medios, y se deben a cuatro factores de riesgo como el consumo del tabaco, la inactividad física, el uso nocivo del alcohol y las dietas malsanas (22,23).

La pobreza es un factor de susceptibilidad que pone en mayor riesgo a las personas de padecer enfermedades no transmisibles causadas por exposiciones ambientales (24). En este caso investigaremos aquellos asociados con riesgos químicos que surgen naturalmente como son las micotoxinas.

1.3. Micotoxinas

1.3.1. Definición

Los mohos son hongos filamentosos que crecen en forma de hifas constituyendo colonias o micelios, no forman un grupo taxonómico o filogenético, sino que se engloban en Zigomicetos y Ascomicetos, donde estos últimos comprenden las especies de mohos micotoxigénicos más importantes (25).

La palabra micotoxina se deriva del griego “mykes” que significa hongos y “toksykon” que significa veneno (26). Son metabolitos fúngicos secundarios, formados por una serie de reacciones consecutivas, catalizadas a partir de intermediarios bioquímicamente simples del metabolismo primario, bajo condiciones sub-óptimas y de estrés (27,28).

1.3.2. Factores que promueven el desarrollo de micotoxinas

Los factores que influyen en la proliferación del hongo y producción de micotoxinas son el contenido de humedad del substrato, la temperatura, el tiempo, el grado de invasión fúngica antes del almacenamiento (27), además de los daños mecánicos y la acción de agentes biológicos tales como insectos, roedores, ácaros, aves. Esto aumenta la susceptibilidad y facilitan la diseminación, añadiendo que estos mismos agentes pueden portar esporas de hongos e introducirlas en los productos afectados (29).

El hábitat fundamental de los hongos es el suelo, y sus esporas o conidios y fragmentos de micelio existentes en el ambiente son aerovagantes, lo cual hace a los

productos agrícolas un sustrato favorable a la contaminación. Sin embargo, el mayor problema de contaminación se presenta en las etapas de postcosecha (recolección, secado, almacenamiento y procesamiento), donde las condiciones para la proliferación de hongos saprófitos suelen ser favorables (26,29,30).

Las micotoxinas representan un peligro latente tanto para la salud humana y animal además causan grandes pérdidas económicas en todos los niveles de producción (25). Las micotoxinas pueden entrar en la cadena alimenticia de humanos y animales por contaminación directa o indirecta, de modo natural en un gran número de productos agrícolas y como residuos tóxicos de los productos de las explotaciones zootécnicas al ingerir alimento contaminado (leche, huevos, carnes) (28,31,32).

1.3.3. Principales micotoxinas

Los hongos productores de micotoxinas de mayor importancia pertenecen a tres géneros: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*(29).

La FAO estima que un 25% de las cosechas a nivel mundial son afectadas por micotoxinas (33). Aproximadamente 400 micotoxinas se conocen hasta la fecha con una gran diversidad estructural (30). Sólo un número limitado de micotoxinas se producen frecuentemente en concentraciones significativas en los alimentos. Las aflatoxinas, ocratoxinas, fumonisinas, tricotecenos (particularmente el deoxivalenol) y zearelonona se consideran más importantes en la inocuidad de los alimentos y la salud pública debido a su toxicidad (34).

1.3.4. Aflatoxinas

Estos compuestos son metabolitos secundarios de origen natural provenientes del género *Aspergillus* principalmente por las especies *A. flavus* y *A. parasiticus* (35), los cuales están considerados como hongos termo-tolerantes y micro-termofílicos. Los niveles máximos se han presentado en regiones tropicales y semitropicales(28), en estos sitios el clima favorece el crecimiento de los hongos productores de aflatoxinas por la alta humedad relativa y temperatura ambiental (36,37).

El crecimiento de estas micotoxinas se ha reportado en países en vías de desarrollo o de bajos ingresos, y se les relaciona principalmente con la etapa de almacenamiento post-cosecha. Adicionalmente por la pobreza no se cuenta con las medidas necesarias para su conservación y almacenaje (26,35). Se ha reportado en países de Asia, África y América Latina, concentraciones elevadas de aflatoxinas en distintos alimentos, tales como cacahuate, arroz, nueces, cebada, maíz entre otros (36,38–41).

Los cultivos que son frecuentemente afectados por *Aspergillus* incluyen cereales (maíz, sorgo, mijo perla, arroz, trigo), oleaginosas (cacahuate, soya, girasol, algodón), especias (cilantro, cúrcuma, jengibre), nueces (almendra, pistache, nuez, coco, nuez de Brasil), leguminosas (frijoles, lentejas, garbanzos, judías), productos de origen animal (carne, leche y sus derivados, huevo) (42,43) y también es frecuente su presencia en piensos para la alimentación de animales de granja (25).

1.3.5. Principales aflatoxinas

Las aflatoxinas son un grupo de derivados difuranocumarínicos relacionados estructuralmente. Se han descrito cerca de 20 tipos de aflatoxinas de las cuales las más frecuentes y que ocurren naturalmente en los alimentos son las AFB₁, AFB₂, AFG₁, y AFG₂ (**Figura 1**). La clasificación se debe por su fluorescencia azul en la luz ultravioleta (B₁ y B₂), mientras que las aflatoxinas G₁ y G₂ fluorescen de color amarillo verdoso (44). Los miembros de la serie azul fluorescente (B) se caracterizan por la fusión de un anillo de ciclopentenona con el anillo de lactona del resto cumarínico, mientras que las toxinas fluorescentes verdes (G) contienen un anillo de lactona condensada (45). Existe una variante de estas que se denomina AFM₁ y AFM₂ que son metabolitos hidroxilados de las aflatoxinas B₁ y B₂ (35,46).

Otras micotoxinas son AFP₁, AFQ₁ y AFD éste último derivado del tratamiento de la AFB₁ con amonio y el aflatoxicol (AFL) son hidroxilados producto del metabolismo animal o microbiano (36).

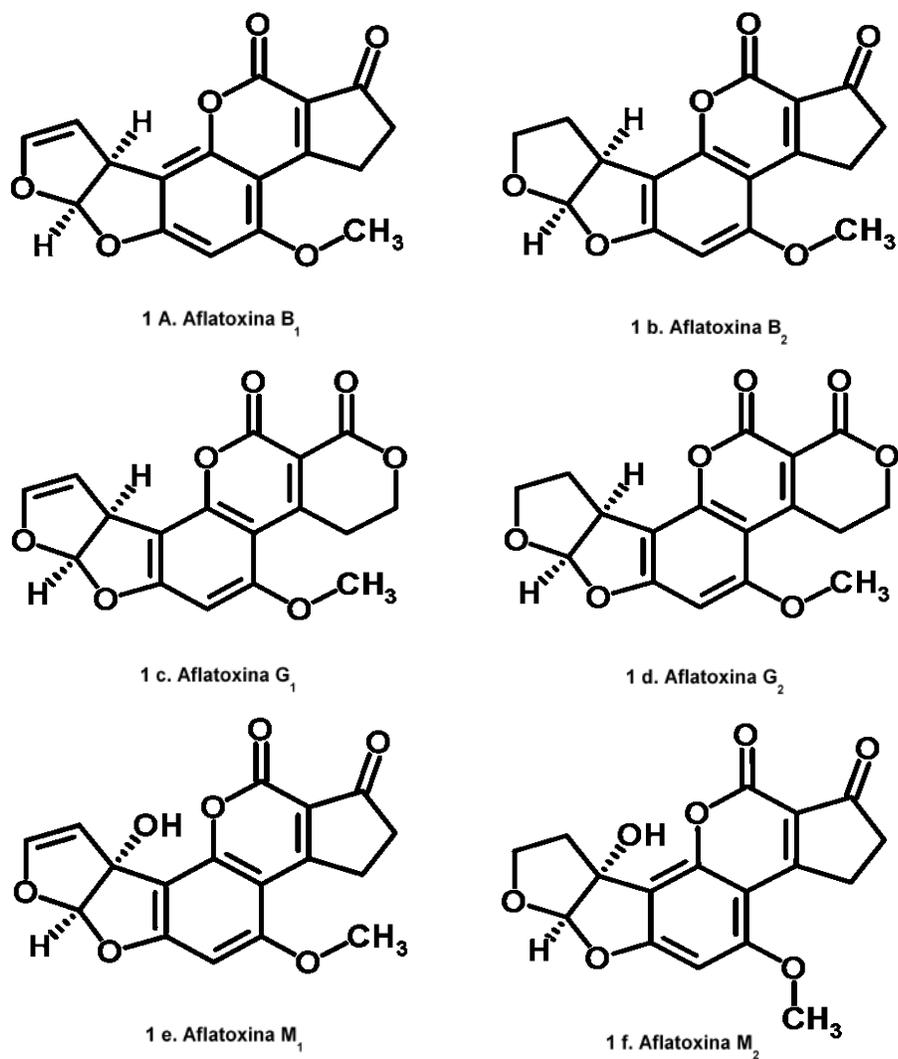


Figura 1. Estructura química de las aflatoxinas.

1.3.5.1. Aflatoxina B1

La AFB₁ es la más frecuente y tóxica producida por *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, normalmente se encuentran en los casos de aflatoxicosis, y es responsable de la toxicidad aguda y crónica dependiendo de la dosis de ingestión y el tiempo de exposición. Se ha reportado efectos relacionados con la genotoxicidad, carcinogenicidad y teratogenicidad por sus uniones con ADN

(28,42,47). La Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) ha clasificado a la AFB₁ y a la mezcla de estas (B₁, B₂, G₁, G₂, y M₁) dentro del grupo 1A (cancerígeno en humanos) por su relación con hepatocarcinoma (48–51).

1.3.5.2. Aflatoxina B₂

Producida naturalmente por las cepas toxigénicas *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*, es un compuesto que pertenece a las sustancias químicas conocidas como difurano-cumarino-ciclopentenonas. Es similar en estructura a la AFB₁ excepto por la saturación del primer anillo de furano, y es considerada menos tóxica y frecuente en alimentos que la AFB₁ (28,36,42).

1.3.5.3. Aflatoxina G₁

La AFG₁ es un contaminante alimentario producido generalmente por *Aspergillus parasiticus* (36). Pertenece a los compuestos conocidos como difuranocumarolactonas (42) y se asocia con toxicidad y carcinogenicidad hepática en poblaciones humanas y animales (29,42,52).

1.3.5.4. Aflatoxina G₂

La AFG₂ es una micotoxina producida en bajas cantidades por *Aspergillus parasiticus* (29). Pertenece a la familia de la serie difuranocumarolactonas. En su estructura contiene un anillo delta-valerolactona fusionado al resto del esqueleto de difuranocumarina. Es similar a la AFG₁ excepto por la saturación del primer anillo de furano, es menos tóxica y frecuente que la AFG₁ (28,42).

1.3.5.5. Aflatoxina M₁ y M₂

La AFM₁ y AFM₂ son los principales metabolitos hidroxilados que se originan en el hígado de los mamíferos luego del consumo de alimentos contaminados con AFB₁ y AFB₂, algunos productos de su metabolismo pueden ser excretados por los fluidos biológicos y considerados como mecanismo de detoxificación. Tal es el caso de la aflatoxina M₁ (AFM₁), secretada en la leche de los mamíferos, cuando han consumido alimentos contaminados con AFB₁ (53). La AFM₁ se excreta en las 48 horas siguientes a la ingestión refleja exposición aguda y representa entre el 1 a 4% de la AFB₁ ingerida (29,47,48,54)(48). La cantidad de AFM₁ secretada es proporcional a la cantidad de AFB₁ ingerida (42). La tasa de conversión de B₁ a M₁ es de 1% (0.3% a 3%) (46), sus efectos tóxicos son similares a los de AFB₁ pero su potencia carcinogénica es 10 veces menor que la AFB₁, siendo la población infantil la más expuesta por el periodo de lactancia (34,35,47,51).

1.3.6. Propiedades fisicoquímicas de las aflatoxinas

Las características fisicoquímicas de las AFs dependen de su estructura química, son cristales sólidos de color que va del blanco al amarillo, sin olor, sin sabor e incoloros, presentan solubilidad baja en agua (10-30 µg/mL) y solubles en solventes orgánicos (metanol, cloroformo, acetona, acetonitrilo y dimetilsulfóxido), cuando las AFs están en cloroformo o benceno son estables por años en refrigeración y la oscuridad. Las AFs en solución son fotosensibles, susceptibles a oxidación e hidrólisis alcalina, sensibles a ácidos suaves, son termoresistentes y estables en un

rango de pH de 3 a 10(42,55). En la **Tabla 1** se muestran las principales características de las aflatoxinas

Tabla 1. Características físico-químicas de las Aflatoxinas.

CARACTERÍSTICA	AFB ₁	AFB ₂	AFG ₁	AFG ₂	AFM ₁
Fórmula química	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	C ₁₇ H ₁₂ O ₇
Peso molecular	312.274	314.289	328.273	330.289	328.273
Forma	Cristales	Cristales	Cristales	Cristales	Cristales
Punto de Fusión (°C)	268-269	287-289	257-259	237-240	299
Punto de Ebullición (°C ±50)	528.2	521.0	612.1	602.5	644.3
Fluorescencia	Azul	Azul	Verde	Verde-azul	Azul-Violeta
pKa (ácido)	17.79	17.79	--	--	11.42
pKa (básico)	-4.4	-4.1	-4.4	-4.1	-4.4
Solubilidad (g/L)	0.23	0.39	0.42	0.48	0.99
Absorción UV (nm) (metanol)	223, 265, 362	222, 265, 363	243, 257, 264, 362	265, 363	226, 265, 357
Log Kow	1.23	1.45	0.50	0.71	--
Densidad (g/cm ³)	1.6	1.5	1.6	1.6	1.7

(42,56,57)

1.3.7. Toxicología de la AFB₁

1.3.7.1. Toxicocinética de la AFB₁

La ruta de exposición a las aflatoxinas es principalmente por ingesta de alimentos contaminados por aflatoxinas (54,58). Existe exposición ocupacional a las aflatoxinas

por ruta inhalatoria, mediante el polvo a través de esporas, esto ocurre durante el procesamiento y manejo de granos contaminados, en particular la alimentación animal (48,59).

Ha sido descrito que en humanos la administración oral de la AFB₁ sigue un modelo de absorción y eliminación bi-compartimental, con una fase de distribución rápida seguida de una fase eliminación lenta. En ratas, la absorción intestinal es rápida y sigue una cinética de primer orden (60,61).

Posterior a la absorción de AFB₁ ocurre el transporte al hígado por vía porta y es bioactivado por citocromo P450 principalmente por las enzimas CYP3A4 y CYP1A2 hacia *exo/endo* 8-9 epóxido (AFBO), el epóxido resultante forma aductos con residuos de Guanina del ADN. La biotransformación se da en dos fases (62,63):

- a) **Fase I.** Las aflatoxinas son absorbidas en el tracto gastrointestinal debido a su alta liposolubilidad. Cuando las personas ingieren AFB₁ esta es llevada vía porta hasta el hígado, es metabolizada por la familia de enzimas del citocromo P-450 en los hepatocitos produciendo, mediante reacciones de óxido-reducción, hasta el AFB₁ epóxido, el cual se une con el átomo N7 de la guanina, produciendo un aducto en el ADN y transversiones de guanina a timina. Este abre su anillo de imidazol y forma una molécula que le confiere mayor estabilidad tanto química como biológica. Adicionalmente se pueden formar aductos con la albúmina y con la lisina.

b) **Fase II.** En esta fase se pretende estabilizar e inactivar el epóxido (promutagénico) hidrolizándolo y conjugándolo con glutatión (GSH) para formar AF-GSH conjugado que será posteriormente excretado por la orina como ácido mercaptúrico.

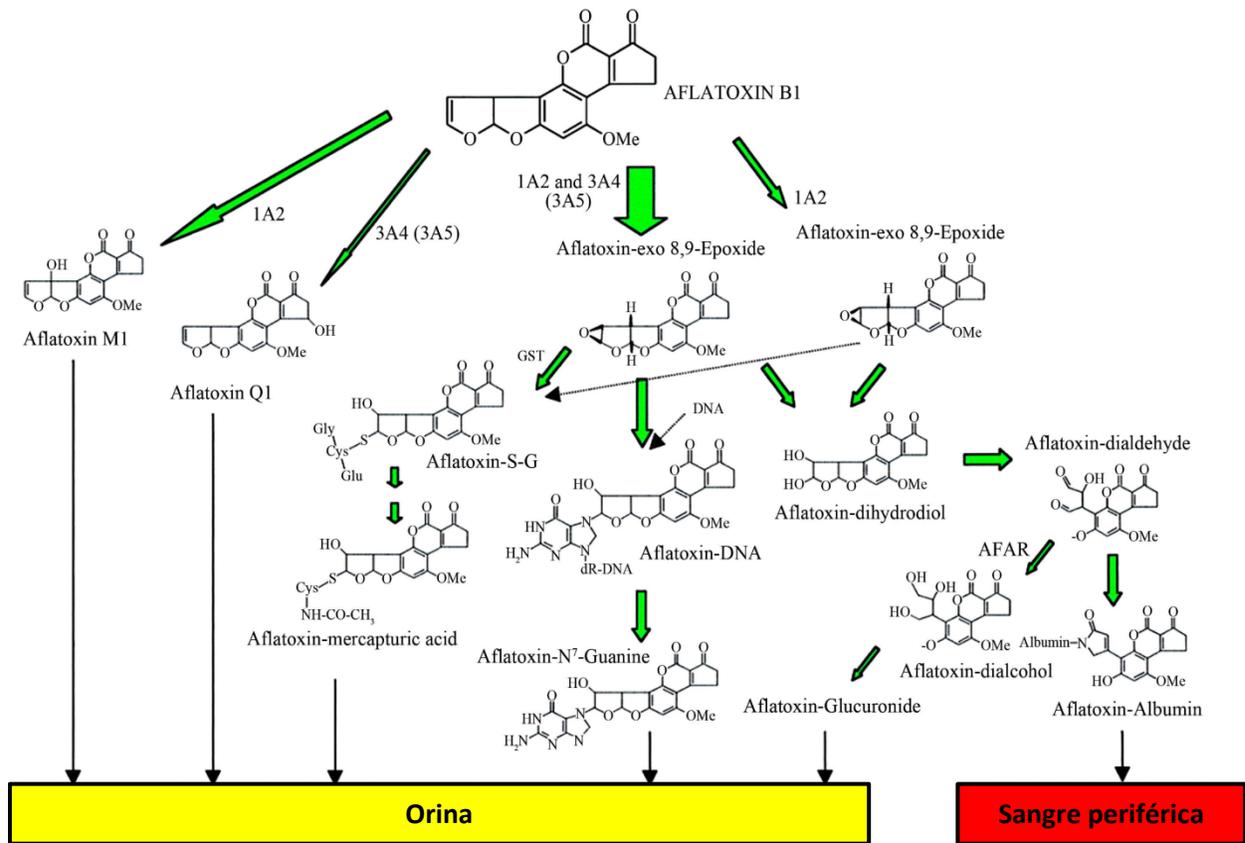


Figura 2. Rutas de Biotransformación de la AFB₁(64)

Por otra parte, puede formar aductos unidos a proteínas como albúmina los cuales se encuentran en niveles detectables en suero y sangre entera por lo que son utilizados como biomarcadores para poder determinar consumo indirecto de AFB₁

ingerida (29,65). El tiempo de vida media en plasma de AFB₁ es de 36.5 minutos, su volumen de distribución es de 14% del peso corporal y el aclaramiento renal es de 1.25 L/kg/h. Cerca del 80% de la dosis total de AFB₁ consumida es excretado en una semana; la AFM₁ se excreta en las 48 h después de la ingestión y representa entre el 1-4% de la AFB₁ ingerida (65).

1.3.7.2. Biomarcadores de exposición a AFB₁

La determinación de AFB₁ libre refleja exposiciones en las 24-48 h después de la ingestión, tanto los metabolitos AFP₁ y AFM₁ indican detoxificación metabólica del cuerpo cuando son complementados con determinación de aductos de AFB₁-N7-guanina en orina, estos son marcadores de exposición reciente.

El biomarcador de AFB₁-N7-guanina ha sido utilizado como biomarcador molecular del daño provocado por las aflatoxinas y es indicador de cáncer hepático primario y cirrosis (66)

El aducto AFB₁-lisina es considerado el biomarcador de elección para la evaluación de la exposición crónica a la AFB₁. Este aducto se forma como parte de la ruta metabólica de biotransformación de AFB₁. Los epóxidos (productos secundarios) pueden unirse a diferentes proteínas como albúmina (albúmina en suero se une en una concentración mayor del 1-3% de la AFB₁ después de 24 h de haberse ingerido); así mismo su tiempo de vida media en sangre es de 20 a 30 días (67,68). La cuantificación de aductos de AFB₁-lisina se ha realizado en suero y en muestras de

sangre entera, donde se cuantificó con el fin de determinar la exposición a AFB₁ en niños, jóvenes y mujeres embarazadas expuestos de manera crónica (44,69–73) .

1.3.7.3. Toxicodinamia de AFB₁

Camean et al. (2012) proponen tres formas de intoxicación por micotoxinas (74):

- **Primaria aguda:** se produce cuando se consumen concentraciones altas o moderadas de micotoxinas y causan manifestaciones específicas como síndrome de enfermedad aguda o muerte.
- **Primaria crónica:** se presenta cuando se ingieren niveles bajos a moderados de micotoxinas y son causantes de enfermedades específicas. El efecto más grave sucede en el ADN.
- **Indirecta:** cuando se ingiere concentraciones muy bajas de micotoxinas y aumentan la sensibilidad a otras enfermedades e infecciones.

Algunas enfermedades relacionadas con la exposición a AFB₁ incluyen hepatitis tóxica y fibrosis hepática, atrofia del crecimiento en niños y síndrome de Reye (hígado graso con encefalopatía) (75,76).

La exposición a altos niveles de aflatoxina produce necrosis aguda, cirrosis, y cáncer de hígado, daño agudo al hígado, alteración en la digestión, en la absorción o en el metabolismo de los nutrientes (54,77–81). Así mismo se conoce que las aflatoxinas tienen efectos teratogénicos. En animales se ha demostrado que el consumo de

AFB₁ produce anomalías viscerales como escoliosis, metacarpianos doblados, defectos cardíacos y microftalmia (82).

Algunos estudios se centraron en la evaluación de los efectos mutagénicos de AFB₁ sobre los cromosomas humanos, las células tratadas mostraron una alta tasa de aberraciones principalmente rupturas no aleatorias e intercambios (83,84)

La relación entre la exposición a AFB₁ y la aparición de hepatocarcinoma es debido a mutaciones que ocurren en el codón 249 del gen supresor p53. Esta mutación se ha encontrado en el 80% de los casos carcinoma hepatocelular en poblaciones con exposición a altas concentraciones de AFB₁ (85,86).

Varios estudios han correlacionado el consumo de aflatoxinas con necrosis tubular, nefrosis y daño renal, la mayoría de los estudios se han llevado a cabo en ratones, conejos, gallinas, peces y en líneas celulares de riñón, demostrando la asociación de ERC con el consumo de aflatoxinas. Se ha observado que una alta concentración de AFB₁ puede llegar a causar daños irreversibles; se presentan efectos como aumento del peso de los especímenes, retención de agua, espacio urinario aumentado, alteraciones en los túbulos, adelgazamiento de la membrana glomerular, lipidosis nefrotubular y necrosis tubular. (77,87–89).

Por otra parte, se ha demostrado que siete enzimas de aflatoxinas (P450/monooxigenasas) catalizan reacciones que producen especies reactivas de

oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) como subproductos, por lo que esto podría ser una fuente de la presencia de ROS intracelulares (90). Existen evidencias experimentales que implican ROS como mediadores primarios en la patogénesis del daño renal producido por: procesos isquémicos, tóxicos y reacciones antígeno anticuerpo. Las ROS producen lipoperoxidación de las membranas y organelos celulares especialmente en segmentos del túbulo proximal, generando daño de la integridad celular y alteración de la capacidad de transporte celular y la producción de energía. Además, existe daño microvascular principalmente mediado por citosinas de tipo proinflamatorias y lesiones morfológicas con alteración de la permeabilidad y la hemodinamia glomerular (91,92).

Por otro lado, los estudios en animales mostraron el efecto de la exposición a las aflatoxinas en las funciones renales, reducen el co-transporte de fósforo en el epitelio renal proximal en células de riñón (93), afecta el transporte renal de calcio y fósforo en aves(94) y decremento la función renal durante la eliminación de los metabolitos de las aflatoxinas (95). Asimismo, autopsias de riñón de niños expuestos a aflatoxinas en Nigeria mostraron cantidades detectables de aflatoxinas (96).

1.3.7.4. Efectos en población infantil

Dentro de los principales efectos en población infantil que presentan la exposición a aflatoxinas está el retraso en el crecimiento, lo que es más evidente en poblaciones vulnerables y expuestas a concentraciones altas y/o crónicas de este tipo de toxinas. Estudios en África demostraron que la alta exposición a las aflatoxinas durante la infancia altera el crecimiento y el desarrollo de los niños, ya que los niveles de aducto

AFB₁-lisina encontrados se asociaron con retraso en el crecimiento en los niños y demostraron una clara relación dosis-respuesta con los puntajes Z de altura para la edad y peso para la edad (39,69,97).

Con respecto a problemas nutricionales la exposición aflatoxina B₁ se ha asociado al padecimiento Kwashiorkor. Esta enfermedad presentan características clínicas que van desde un edema leve en un niño hasta un edema grave, una bioquímica alterada y funciones inmunológicas deprimidas. Este padecimiento se ha reportado por lo general en países tropicales o subtropicales (98–102).

Debido a que las aflatoxinas son potentes inmunosupresores en animales (103), se realizó un estudio en niños para verificar si la exposición a aflatoxinas estaba asociada con un espectro de pruebas inmunes, según lo medido por la prueba CMI (Concentración Mínima Inhibitoria), respuesta a vacunas y el nivel de sIgA (Inmunoglobulina secretora A). Los datos indicaron que los niños estaban expuestos a la aflatoxina a través de la dieta en niveles que comprometen el sistema inmune. Se observó asociación altamente significativa entre la exposición a aflatoxinas y la sIgA reducida en saliva (104).

1.3.8. Legislación de regulación de niveles de aflatoxinas en alimentos

En materia de regulación, la Unión Europea establece límites para los cereales y otros alimentos como la leche, nueces, cacahuates, alimento infantil y especias. En el caso de cereales en general, el valor límite es de 2.0 µg/ kg para AFB₁ y 4.0 µg/ kg de aflatoxinas totales (105), mientras que para maíz y sus derivados son los reportados en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Límites máximos permisibles de Aflatoxinas en productos derivados de maíz

TIPO DE AFLATOXINA	PRODUCTO	MÉXICO	UE
		LM µg/Kg	LM µg/Kg
AFB₁	Masa, Tortillas de maíz nixtamalizado	12	5 (para AFB ₁) y 10
+	Tostadas de maíz nixtamalizado		
AFB₂	Harinas de maíz nixtamalizado para preparar tortillas y tostadas	20	
+	Tortillas de trigo		
AFG₁	Tortillas integrales		
+	Harinas para preparar tortillas de trigo		
AFG₂	Harinas integrales para preparar tortillas		

En México se regula el contenido de aflatoxinas a través de las normas NOM-187-SSA1/SCFI-2002, (Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba); la NOM-188-SSA1-2002, (*Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias*) y NOM147-SSA1-1996, bienes y servicios. Cereales y sus productos. Harinas de cereales, sémolas o semolinas. Alimentos a base de cereales, de semillas comestibles, harinas, sémolas o semolinas o sus mezclas. Productos de panificación. Disposiciones y especificaciones sanitarias y nutrimentales. El valor límite establecido por estas últimas es de 20 µg/kg de aflatoxinas totales en los cereales arroz, avena, cebada,

centeno, maíz, sorgo, trigo y sus derivados. Sin embargo, no existe regulación o límites máximos en otros alimentos (106–108).

1.3.9. Relevancia de contaminación del maíz por aflatoxinas en México

Las aflatoxinas representan un gran peligro para la salud en México por las siguientes razones:

- a) México tiene uno de los más altos consumos per cápita de maíz en el mundo (≈ 325 g/día).
- b) México importa 6 millones de toneladas de maíz por año (a menudo de dudosa calidad) a un costo de 550 millones de dólares, representando el 11% del total de exportaciones norteamericanas;
- c) Las condiciones de almacenamiento del maíz en México no se encuentran lo suficientemente desarrolladas y no existe un monitoreo regular de la contaminación por aflatoxinas;
- d) No se han formulado leyes que regulen el comercio nacional e internacional de maíz contaminado con aflatoxinas (109).

2. JUSTIFICACIÓN

La inocuidad alimentaria es uno de los componentes de la seguridad alimentaria que necesita de mayor vigilancia debido a los posibles riesgos en salud asociados al consumo de alimentos contaminados. Las aflatoxinas son compuestos tóxicos generados principalmente por los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Contaminan frecuentemente una amplia variedad de alimentos como cereales, especies, semillas, cacahuates, leche y huevos. La producción depende del ambiente, factores tales como humedad, temperaturas cálidas, así como también pobres prácticas de cultivo y almacenamiento favorecen la proliferación del hongo.

Las aflatoxinas, principalmente la aflatoxina B₁, representa un problema de salud pública por los efectos tóxicos relacionados a su exposición. Existe evidencia de alimentos contaminados en países de América, Asia y Europa. En México, el maíz es frecuentemente contaminado por *Aspergillus flavus* (110). Sin embargo, las investigaciones se han enfocado en áreas urbanas, mientras que las zonas indígenas podrían presentar mayor riesgo de exposición debido a que consumen más productos derivados del maíz y por la carencia de acceso a infraestructura que les permita desarrollar buenas prácticas de higiene en el almacenamiento del maíz.

A pesar de contar con numerosos estudios que abordan la problemática de la presencia de aflatoxinas en maíz y otros alimentos, existe poca evidencia de estudios realizados sobre la exposición en población vulnerable como los niños. Los biomarcadores de exposición pueden ser una herramienta para prevenir e indicar el riesgo por exposición a aflatoxinas.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el riesgo a la salud humana en población infantil indígena expuesta a aflatoxinas mediante el biomarcador de exposición AflatoxinaB₁-lisina en suero.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar y validar un método analítico para la cuantificación del aducto Aflatoxina B₁-lisina en muestras de suero mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) acoplado a detector de fluorescencia.
- Evaluar el biomarcador de exposición Aflatoxina B₁-lisina en suero de población infantil de las comunidades de Tocooy, Xolol y Tanjacjnec del municipio de San Antonio, San Luis Potosí.
- Aplicar encuestas a población expuesta para determinar la frecuencia y el tipo de alimento con riesgo por contaminación.

5. METODOLOGÍA

5.1. Diseño experimental

La cuantificación del aducto AFB₁-lisina se realizó con modificaciones del método descrito por Sass y colaboradores (2014) (111,112).

5.1.1. Síntesis del aducto AFB₁-lisina

El AFB₁-8,9-epóxido se preparó oxidando la AFB₁. El ácido metacloroperbenzóico (MCPBA) (16 mg, 51 µmol) se disolvió en 1 mL de diclorometano y se lavó 4 veces con buffer de fosfatos (pH 7.4, 4 x 1 mL). La fase acuosa se removió y 0.8 mL de buffer de fosfatos (0.1 M, pH 7.6) se añadió a la fase orgánica. La mezcla se llevó a 0°C y se añadieron 0.65 mg de AFB₁ disueltos en 1 mL de diclorometano. La reacción permaneció en agitación durante 6 h a 0°C. Pasado este tiempo se retiró la fase acuosa, y la orgánica se disolvió en 2 mL de diclorometano, se evaporó con una corriente de N₂ a 32°C para disminuir el volumen del diclorometano. Posteriormente se lavó con tiosulfato de sodio 0.5 M (3 x 1 mL); se forma los compuestos de AFB₁-8,9-exo/endo-epóxido (**Figura 3**). Debido a la inestabilidad del AFB₁-epóxido, la mezcla anterior se sometió a una reacción con 0.8 mL de buffer de fosfatos (0.1 M, pH 7.6) para formar AFB₁-dialdehído en equilibrio con AFB₁-diol, los cuales son más estables. Después de 20 min de agitación la solución se lavó con diclorometano (3 x 0.8 mL) para remover la AFB₁ que no reaccionó (**Figura 4**). Se reserva 1 mL de solución y se posteriormente se agregaron 5 mg de L-lisina disuelta en 0.4 mL de buffer de fosfatos (0.1 M, pH 7.6), a la fase acuosa que contiene los productos AFB₁-dialdehído y AFB₁-diol. La reacción permanece bajo agitación durante 24 h para

finalmente formar el aducto AFB₁-lisina (**Figura 5**). Se evaporó para reducir volumen a 0.3 mL y se re-suspendió en tiosulfato. Después de este periodo la reacción se filtra a través de membranas de PTFE de 0.45 µm y el producto se purifica por medio de HPLC.

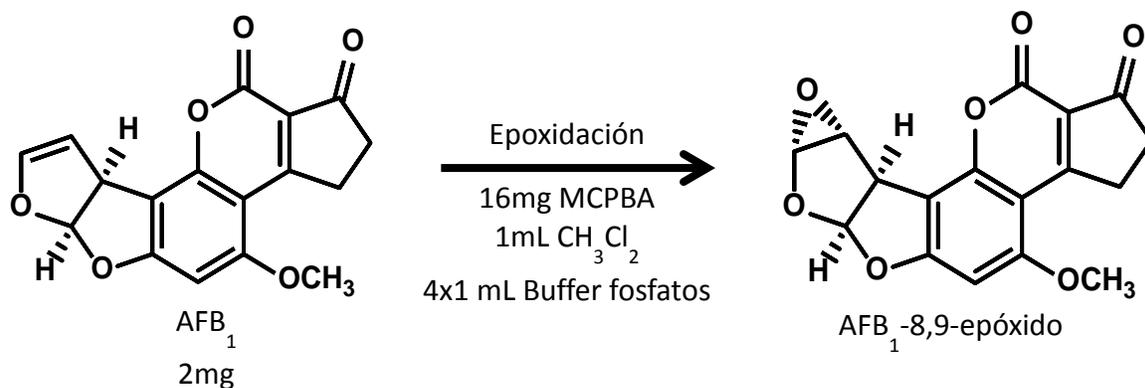


Figura 3. Reacción de Epoxidación. Síntesis de AFB₁-8,9-epóxido.

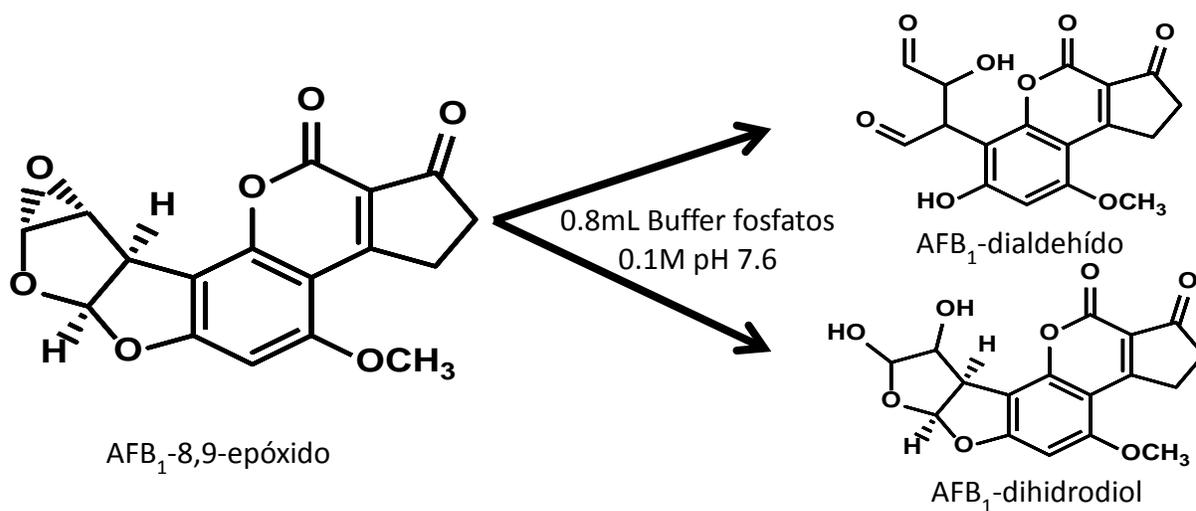


Figura 4. Reacción de síntesis de AFB₁-dialdehído y AFB₁-diol.

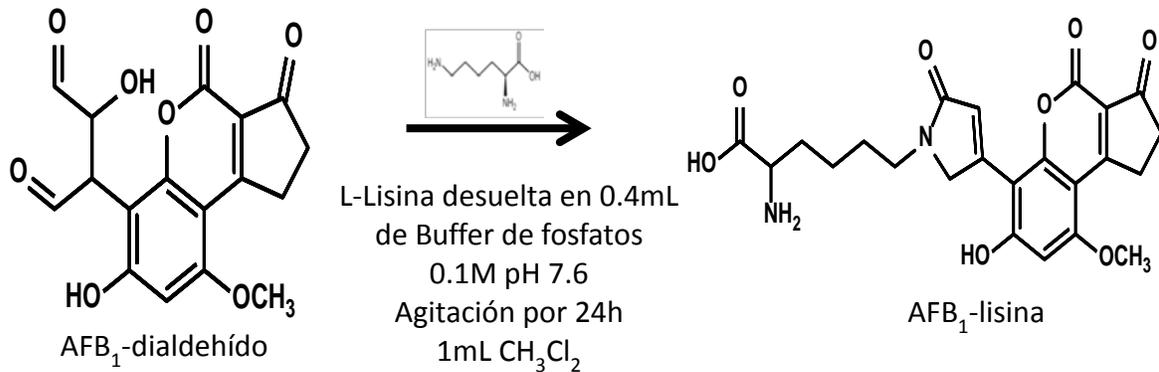


Figura 5. Reacción de formación del aducto AFB₁-lisina.

5.1.2. Purificación de AFB₁-lisina

La purificación de la AFB₁-lisina se llevó a cabo en un sistema de HPLC (Agilent 1260) equipado con detector de fluorescencia utilizando una columna de fase reversa Kinetex C18 (Phenomenex, Torrance, CA), 4.6 x 150 mm, 2.6µm de tamaño de partícula. Las muestras y la columna se mantienen a temperatura ambiente. La fase móvil consisten en eluyente A que contiene ácido acético al 1% en agua:metanol (95:5), eluyente B preparado con metanol: 0,1% de ácido acético en agua (95:5), eluyente C compuesto por 100% acetonitrilo. La elución se lleva a cabo por gradiente comenzando con 10% eluyente B con un incremento lineal hacia 30% durante 75 min, seguido por una elución isocrática hasta los 120 min. Durante la corrida cromatográfica el porcentaje de eluyente C permanece constante a 1% y el flujo permanece constante a 0.4 mL/min para evitar que se incremente la presión de la columna. El volumen total de aducto se evaporó bajo corriente de N₂ a un volumen de 0.3 mL y se resuspendió en tiosulfato, en un volumen total de 1.5 mL.

5.1.3. Análisis por UPLC-MS del aducto AFB₁-lisina purificado

La caracterización del patrón sintetizado se realizó en un sistema de cromatografía líquida de ultra alta resolución UPLC-MS-MS Waters Synapt G2 SI equipado con una columna BEH C18 (2,1 mm 50 mm, 1,7 mm) y acoplado a un espectrómetro de masas con ionización por electrospray (Waters).

La columna se mantiene a 40°C durante el análisis. Se inyectan 10 microlitros de muestra mantenidas a 10°C. Se realizaron por medio de elución de gradiente y para esta se empleó una fase móvil compuesta de agua (eluyente A) y acetonitrilo (eluyente B), conteniendo ambos 0.06% de ácido fórmico en acetonitrilo. Partiendo de 95% de eluyente A, el porcentaje de eluyente B se eleva linealmente hasta el 26% durante 3.0 min y se mantiene constante durante 4 min (7.0 min). Posteriormente el eluyente B aumenta hasta 90% durante 1.0 min, seguido por una reducción hasta 5% durante 0.2 min, y la columna se reequilibra a las condiciones iniciales durante 0.3 min.

El espectrómetro de masas se programa a partir de m/z 280-650, en modo MS/MS para buscar el ion objetivo de m/z 457.2. Todos los experimentos se llevan a cabo con ionización por electrospray en modo de iones positivos bajo las siguientes condiciones:

Tabla 3. Condiciones del espectrómetro de masas

PARÁMETROS	VALORES
Voltaje Capilar	0.75 kV
Temperatura de Fuente	150°C
Temperatura de Desolvatación	650°C
Flujo de Gas de Desolvatación	500 L / h
Flujo de Gas de Cono	150 L / h
Energía de Colisión	40V
Voltaje de Cono	30V

5.1.4. Validación del método analítico

El control de calidad interno y la validación del método se realizó con base a la Guía de Validación de Métodos Analíticos para Determinación de Compuestos Orgánicos en niveles de trazas (113), evaluando los siguientes parámetros: límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ), linealidad (r), sensibilidad (m) y precisión (repetibilidad y reproducibilidad).

Los LOD y LOQ se calcularon utilizando los resultados obtenidos de 7 curvas de calibración del aducto AFB₁-lisina en un intervalo establecido de concentraciones.

La linealidad expresada por el coeficiente de correlación (r) y la sensibilidad determinada por la pendiente de la curva de rango de trabajo resultan de la media y el intervalo de confianza al 95% de 7 curvas que se registrarán durante cinco días.

La precisión del método se midió con base a la repetibilidad y reproducibilidad, evaluando diferentes concentraciones por triplicado el mismo día y por duplicado en cinco días diferentes.

5.2. Evaluación de la exposición a AFB₁ en niños indígena

Los procedimientos que se realizaron a los participantes se consideran de mínimo riesgo y cumplen con los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, descritos en la Declaración de Helsinki (114) y lo dictado por la Norma Oficial Mexicana que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos (115). A todos los participantes se les proporcionó el consentimiento informado (**Anexo 1**) indicando los riesgos y beneficios del estudio, en caso de la persona no supiera leer o escribir se le leyó. Además, se les informó la posibilidad de abandonar el estudio cuando así lo desearan. Las personas involucradas en el estudio declaramos no tener conflicto de intereses en relación a la realización de este estudio.

Se realizó un estudio de tipo analítico, prolectivo. La investigación se realizó en las localidades de Tocoay, Xolol y Tanjacjnec que se encuentra en el municipio de San Antonio en la zona Huasteca en el Estado de San Luis Potosí (Figura 6). El clima predominante es semicálido húmedo con lluvias en verano, presenta una temperatura media anual de 24.7°C. Es población indígena de etnia Tének, con grado de marginación alto. Existen aproximadamente 1061 habitantes en Tocoay con 251 viviendas, 233 habitantes con 69 viviendas en Xolol y 564 habitantes con 125 viviendas en Tanjacjnec (116,117).

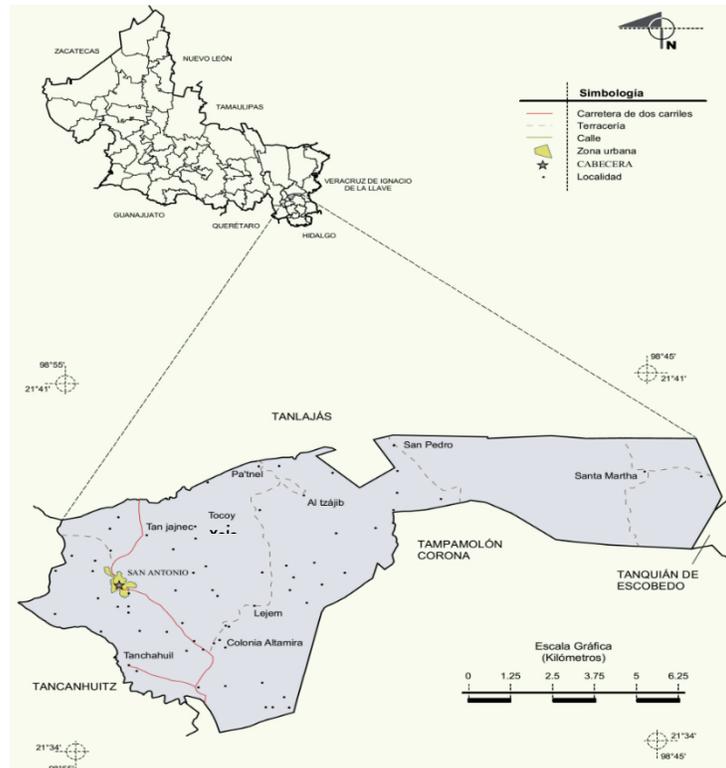


Figura 6. Localización de las comunidades en el municipio de San Antonio, S.L.P. (117).

Se aplicaron encuestas a las mamás para documentar el proceso de nixtamalización (**Anexo 2**), así como frecuencias de consumo (**Anexo 3**) para identificar hábitos alimenticios de los niños, enfocado únicamente a alimentos con riesgo de ser contaminados con aflatoxinas.

5.2.1. Obtención y preparación de la muestra

Se recolectaron muestras de sangre por punción venosa de 31 niños de edades entre 5 y 12 años de la comunidad de Tocoy, Tanjacjnc y Xolol, San Antonio, S.L.P. en tubos vacutainer de 6 mL sin EDTA, se centrifugaron a 4°C, 3500 rpm durante 3 minutos. El suero resultante se removió y almacenó a -80°C hasta su análisis.

5.2.2. Procesamiento de muestras

5.2.2.1. Extracción de aducto de AFB₁ lisina en muestras de suero

La digestión y el procedimiento de extracción se realizó acorde al método descrito por McCoy et al. (2005). A 500 µL de suero se adicionó 250 µL de una solución de Pronasa de 13 mg/mL de PBS a un tubo plástico eppendorf de 1.7 mL, con la finalidad de separar el aducto de AFB₁-lisina de la proteína albúmina. Se realizó una agitación suave durante 5 s, y se colocan en un baño de agua a 37–40°C durante 4-5h(118).

La extracción en fase sólida (SPE) se llevó a cabo en un cartucho de extracción Waters Oasis MAX 1 cc de 30 mg con un colector de vacío. Los cartuchos se activan con 1.0 mL de MeOH y se equilibran con 1.0 mL de agua desionizada. Las muestras se cargan posteriormente sobre los cartuchos por goteo sin ejercer presión. Los cartuchos se lavaron con 1 mL de agua (2X), 1 mL de MeOH al 70%, 1 mL de hidróxido de amonio al 1 % en MeOH y 0.5mL de MeOH. El aducto AFB₁-lisina se eluyó con una solución de ácido fórmico al 2% en MeOH. Las muestras se evaporaron hasta sequedad bajo corriente de N₂ a 40°C. El extracto se reconstituyó con 150µL de MeOH al 25% y se agita suavemente. La solución se transfiere a viales de HPLC de 300 µL silanizados. (71,118).

5.2.2.2. Análisis de albúmina

Se realizó con base al método establecido por Hill y Wells(119). Las lecturas de albúmina de cada muestra de suero fueron proporcionadas por el laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

6. RESULTADOS

6.1. Purificación del Aducto AFB₁-lisina

Se llevó a cabo una purificación en la que se recolectó el aducto en un tiempo de retención de 79-81 min (**Figura 7**).

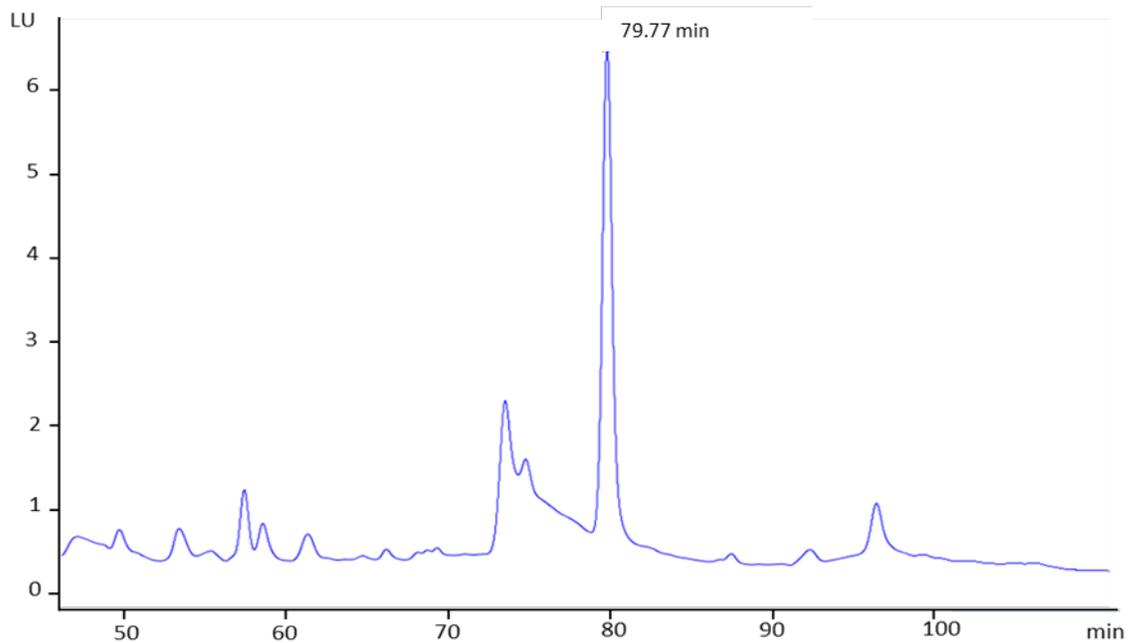


Figura 7. Cromatograma de purificación del aducto AFB₁-lisina.

6.2. Identificación del aducto AFB₁-lisina por UPLC-MS

Se determinó mediante las condiciones descritas en el punto 5.1.3 y la tabla 3, detectándose la m/z de 457.2 a los 6.99 min (**Figura 7**) y su espectro (**Figura 8**).

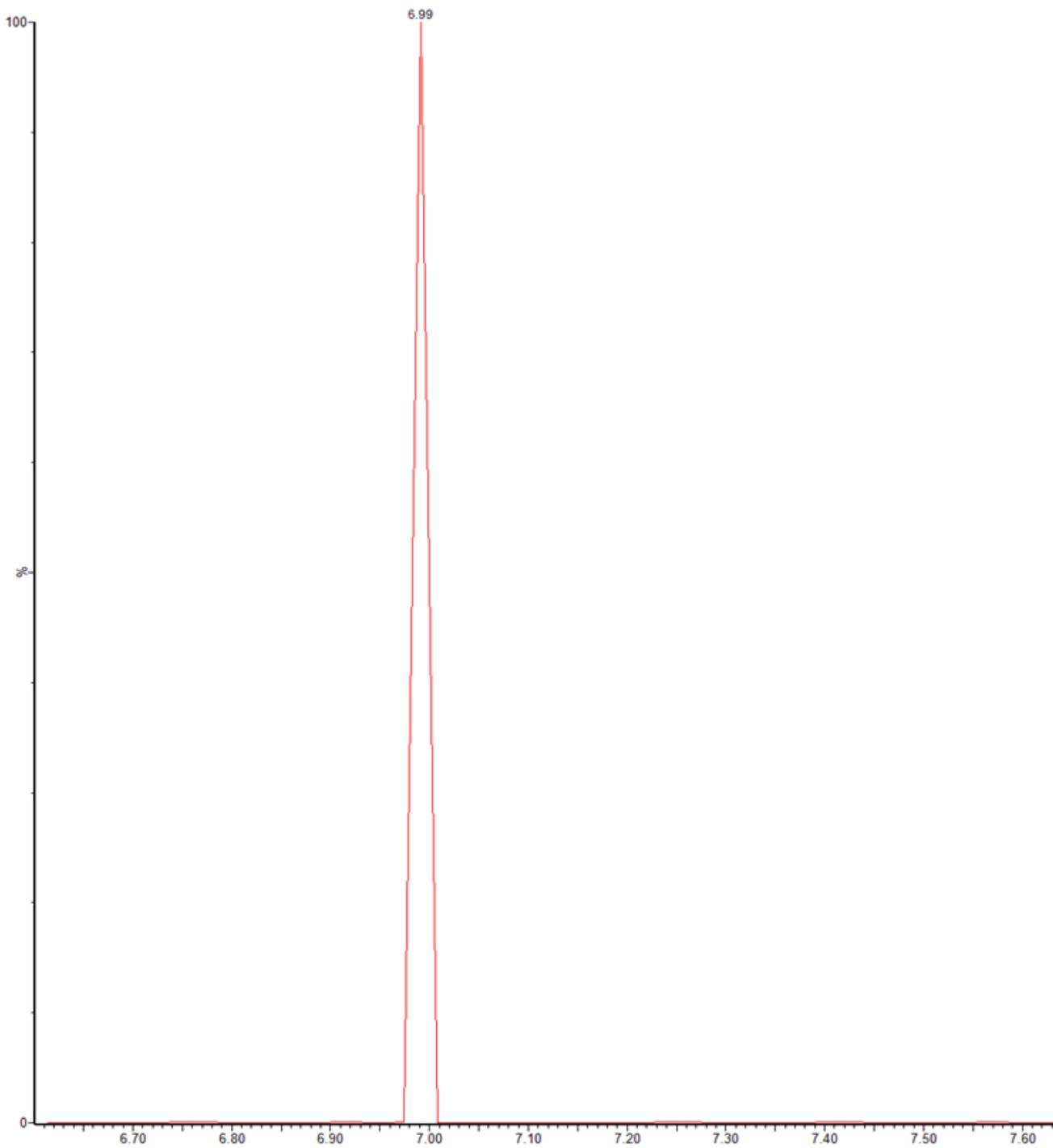


Figura 8. Cromatograma del aducto AFB1-lisina purificado.

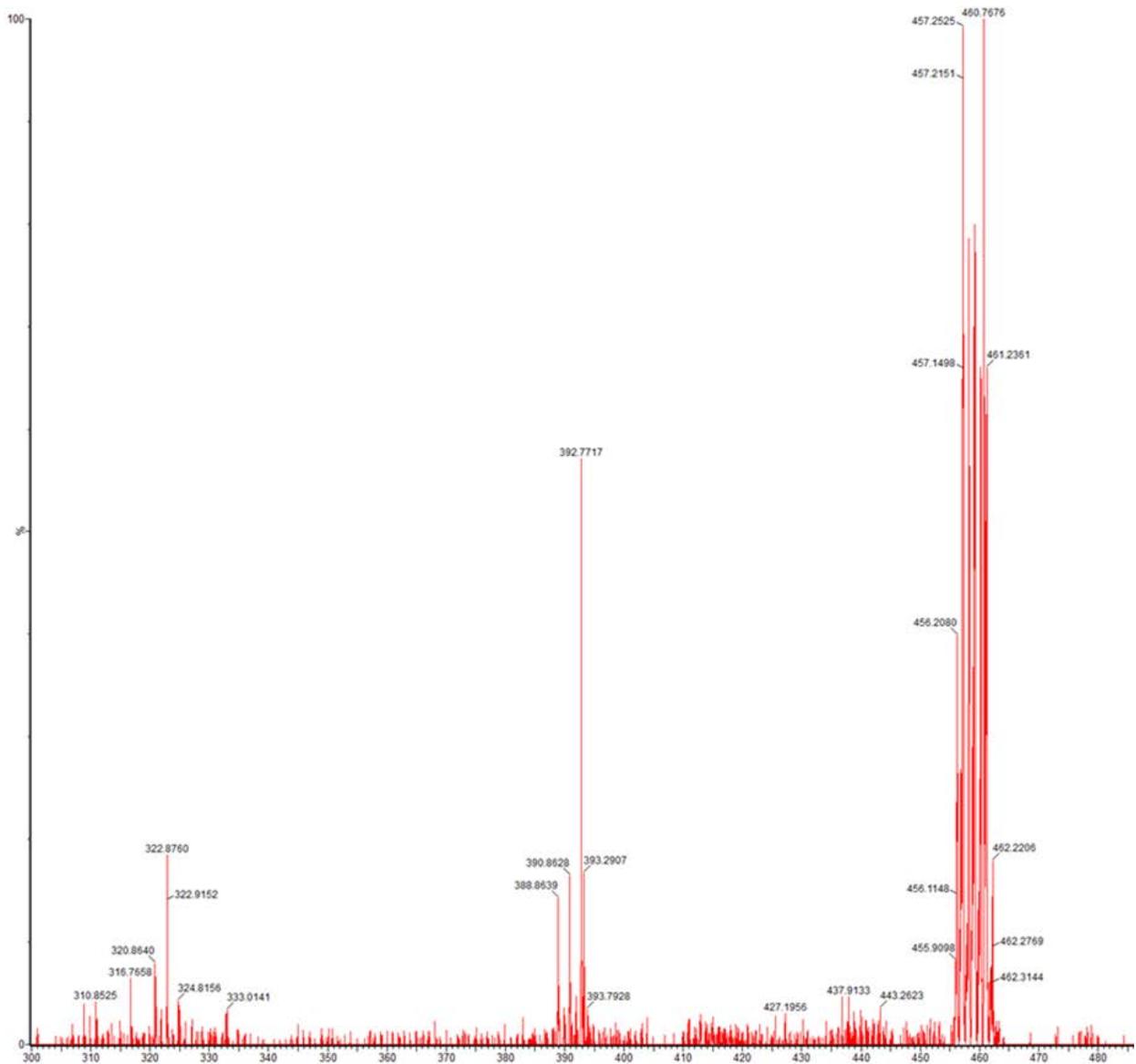


Figura 9. Identificación del espectro MS/MS del aducto AFB1-lisina purificado.

6.3. Validación del método

Se analizaron 7 curvas de calibración por volumen con 5 concentraciones en 5 días diferentes. Tres curvas en un día para evaluar repetibilidad y las otras cuatro

divididas en dos días para la reproducibilidad, de este modo calculamos la precisión del método.

La linealidad expresada por el coeficiente de correlación ($r^2 = 0.9998$) y la sensibilidad determinada por la pendiente de la curva de rango de trabajo resultan de la media de 7 curvas que se registraron durante cinco días ($m = 9.1662 \pm 0.23$).

Los LOD y LOQ se calcularon por el método de blancos, con 5 lecturas del blanco, localizando las áreas al tiempo de retención del aducto AFB₁-lisina y por medio de los promedios y desviación estándar se determinaron los límites más 3 y 10 veces la desviación para LOD y LOQ respectivamente (LOD = 201.80 pg/mL y LOQ = 271.08 pg/mL).

6.4. Cuantificación de AFB₁-lisina en muestras de suero

Se recolectó muestra de sangre de un total de 31 niños de los cuales el 55% fueron niñas y el 45% niños. El promedio de edad fue de 8.9 ± 2.1 años, el peso promedio de 28.8 ± 7.62 Kg, y una talla promedio de 129.8 ± 12.7 cm. A partir de estos datos se calculó el IMC (Índice de Masa Corporal) con un promedio de 16.9 ± 2.37 . Comparando con los patrones para el crecimiento infantil de la OMS (2007) se evaluó el peso, talla e IMC de cada niño para la edad, Se obtuvo que el 13% de los niños que participaron en nuestro estudio presentó talla baja, el 9.7% en sobrepeso y el 6.4% en obesidad (120). Se determinó la creatinina sérica donde el valor promedio es de 0.698 ± 0.29 mg/dL, comparado contra los valores de referencia el 9.7% de los niños registró una creatinina por arriba y el 6.4% por debajo. Se calculó la Tasa de Filtración

Glomerular (TFG) con un promedio de 90.4 ± 40.1 mL/min/1.73 m² donde el 9.7% estuvo por arriba del valor de referencia y el 67.7% por debajo de este (**Tabla 4**).

Tabla 4. Características generales de la población infantil, zona Tének.

CARACTERÍSTICA	VALOR
N	31
Niñas \square	54.8
Niños \square	45.2
Edad \S	9 ± 2.12
Peso (Kg) \S	28.8 ± 7.62
Talla (cm) \S	129.8 ± 12.7
Talla baja \square	13.0
IMC (Kg/cm ²) \S	16.9 ± 2.37
Sobrepeso \square	9.68
Obesidad \square	6.45
sCr (mg/dL) \S	0.698 ± 0.29
sCr>(1) \square	25.4
sCr<(1) \square	6.4
TFG (mL/min/1.73m ²) \S	90.4 ± 40.1
TFG > (2) \square	9.7
TFG < (2) \square	67.7
Porcentaje detección aducto \square	45.2
AFB1-lisina (pg/mg alb) \pounds	5.59 (4.82-6.54)

\S Media aritmética \pm SD; \square Porcentaje. \pounds Mediana (mínimo-máximo) de los valores detectados. Valor de Referencia. (1) Creatinina sérica (sCr) 0.3-0.9mg/dL, (2) Tasa de Filtración Glomerular (TFG) 114.1-116.4 (121,122)

Se analizaron 31 muestras de suero de niños, se obtuvo un 45.2 % de detección con una mediana (mínimo-máximo) 5.59 (4.82-6.54) pg/mg de albumina. En la **Figura 10** se puede observar el cromatograma de una muestra de suero, detectando la elución del aducto en un tiempo de retención entre 91 minutos.

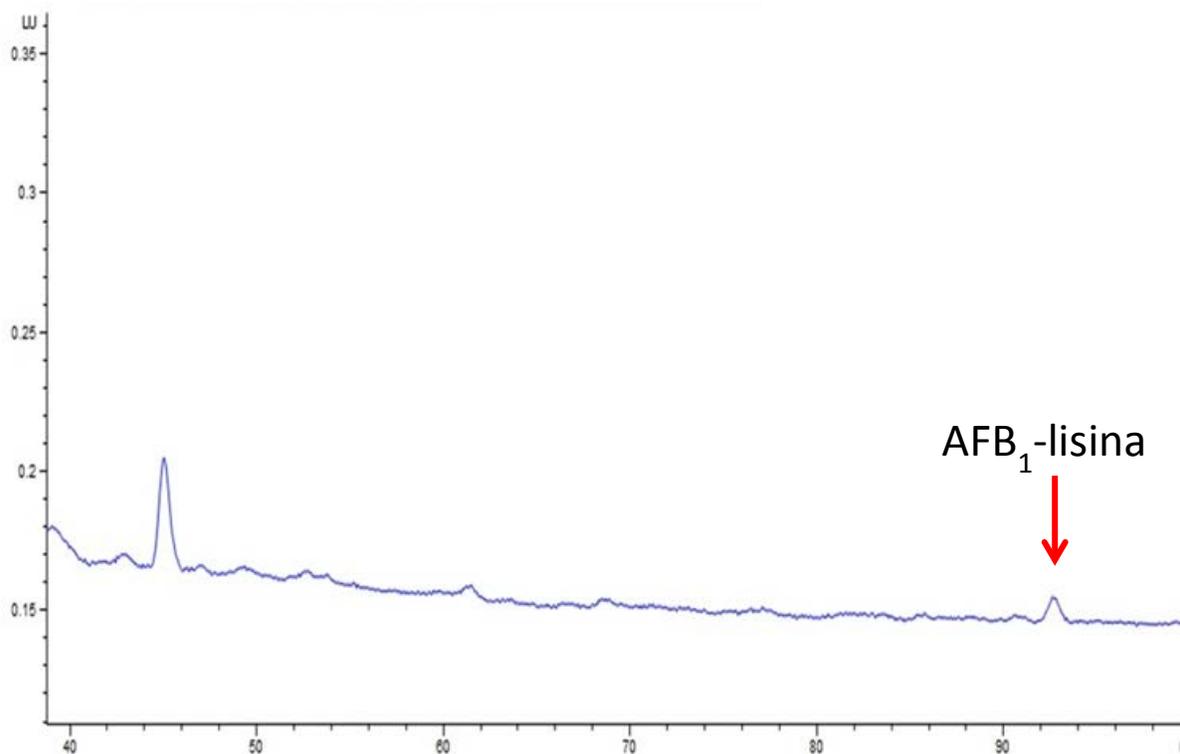


Figura 10. Cromatograma de muestra de suero de niño de Tocoy.

6.5. Frecuencia de consumo de alimentos

En la **Figura 11** se observa que la población infantil consume principalmente productos lácteos (leche, queso y yogurt), carne (puerco, res, pollo), huevo, leguminosas (frijol negro y zarabando en temporada y lentejas), oleaginosas (cacahuates) y cereales como arroz, pan, tortilla de harina, maíz y sus derivados. En este estudio se evaluó el maíz, por ser parte importante de la alimentación de las

comunidades evaluadas y por ser el alimento que mayormente puede estar contaminado con aflatoxinas. El maíz se subdividió en productos que comúnmente se elaboran en las comunidades como tortillas, tamales, gorditas, bocoles y atole.

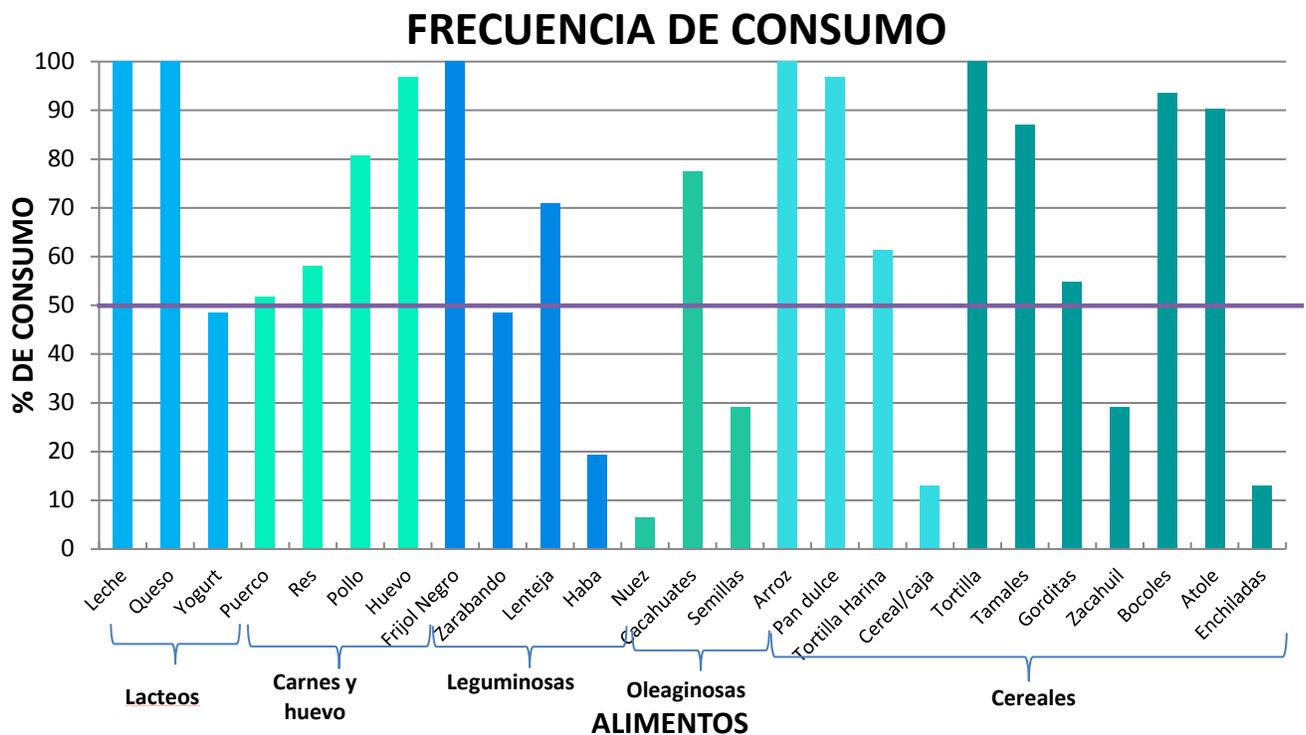


Figura 11. Consumo de alimentos con riesgo de contaminación por aflatoxinas de niños entre 5 y 12 años

La mayoría de los alimentos que se consumen son comprados, como se puede observar en la **Figura 12**, aunque hay alimentos de autoconsumo, un ejemplo son las semillas de girasol que se obtienen por temporada. En el caso del pan y tortillas de harina son preparadas con harinas comerciales. Los alimentos de autoconsumo de origen animal tales como el puerco, pollo y huevo representan al rededor del 6, 12 y

20%, respectivamente. Los alimentos derivados del maíz en su mayoría son de autoconsumo entre el 60 y el 80%.

ALIMENTOS COMPRADOS vs AUTOCONSUMO

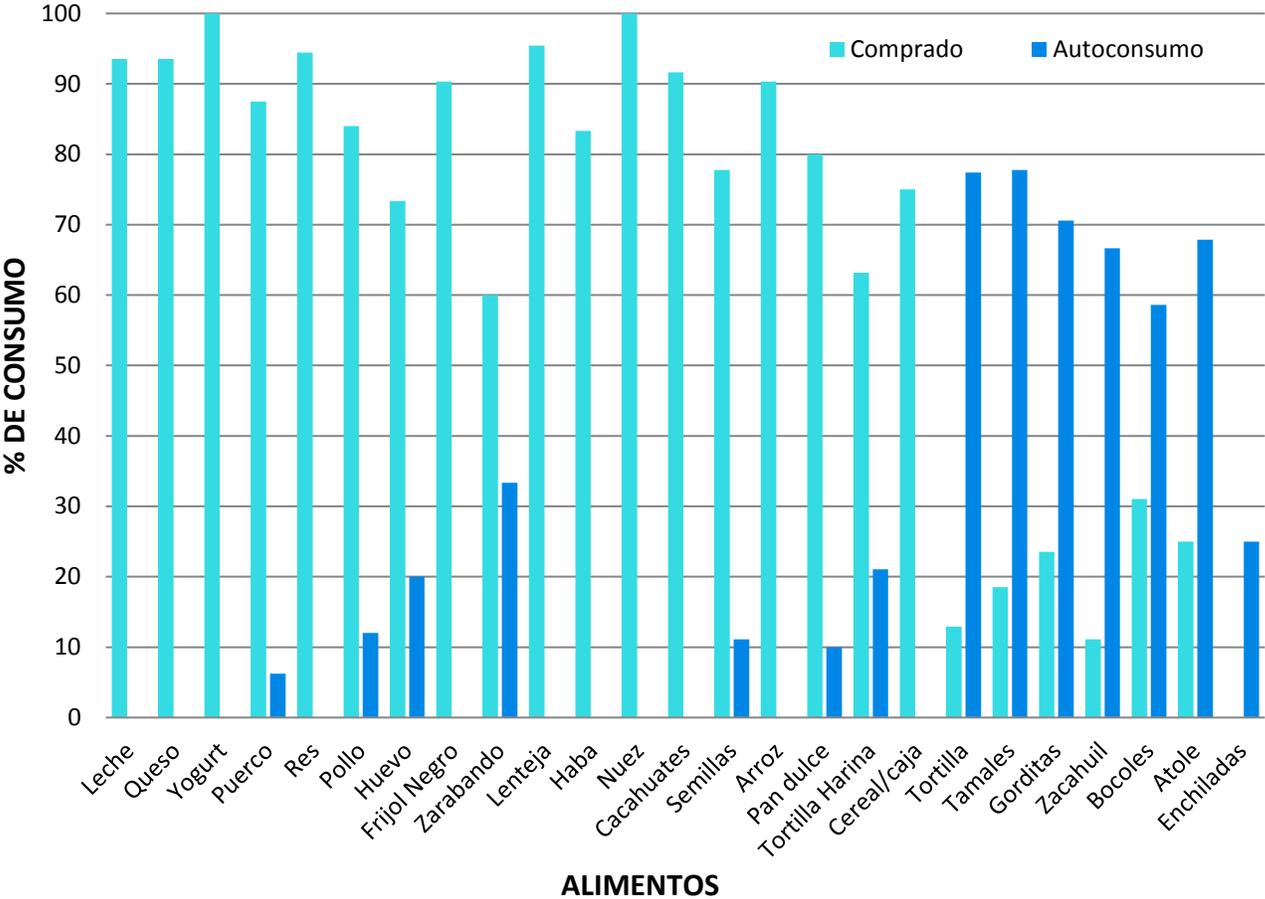


Figura 12. Comparación de alimentos comprados contra alimentos de autoconsumo.

Respecto a la tortilla el 100% de los entrevistados la consumen, el 84% todos los días de la semana, el 71% de 2 a 3 veces al día y el resto de 4 a 5 veces. Asimismo, el 62% de los niños consumen de 6 a 10 tortillas al día y el 21% consumen de 11 a 15 tortillas principalmente (Figura 13).

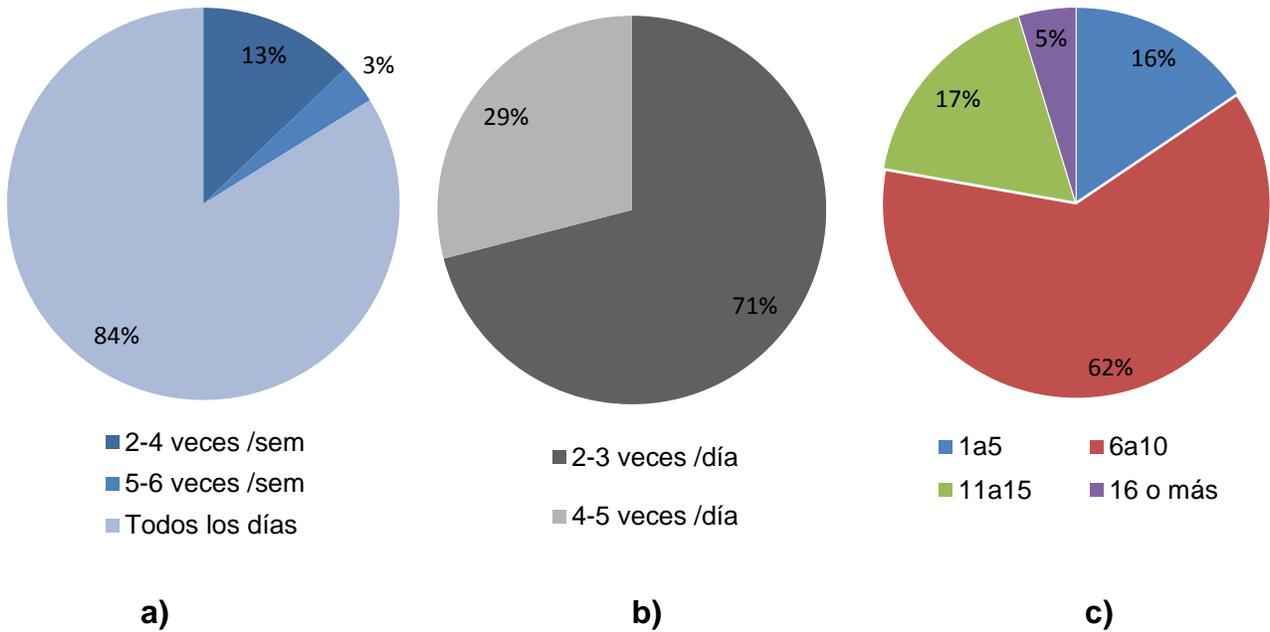


Figura 13. Consumo de tortilla **a)** por semana, **b)** por día, **c)** ingesta de tortilla al día

6.6. Encuesta de nixtamalización

Se realizó un total de 51 encuestas enfocadas a documentar el proceso de nixtamalización que realizan las madres de familia de las poblaciones de Toco, Tanjacjnc y Xolol, obteniendo el siguiente procedimiento comparado con el procedimiento tradicional (**Figura 14**).

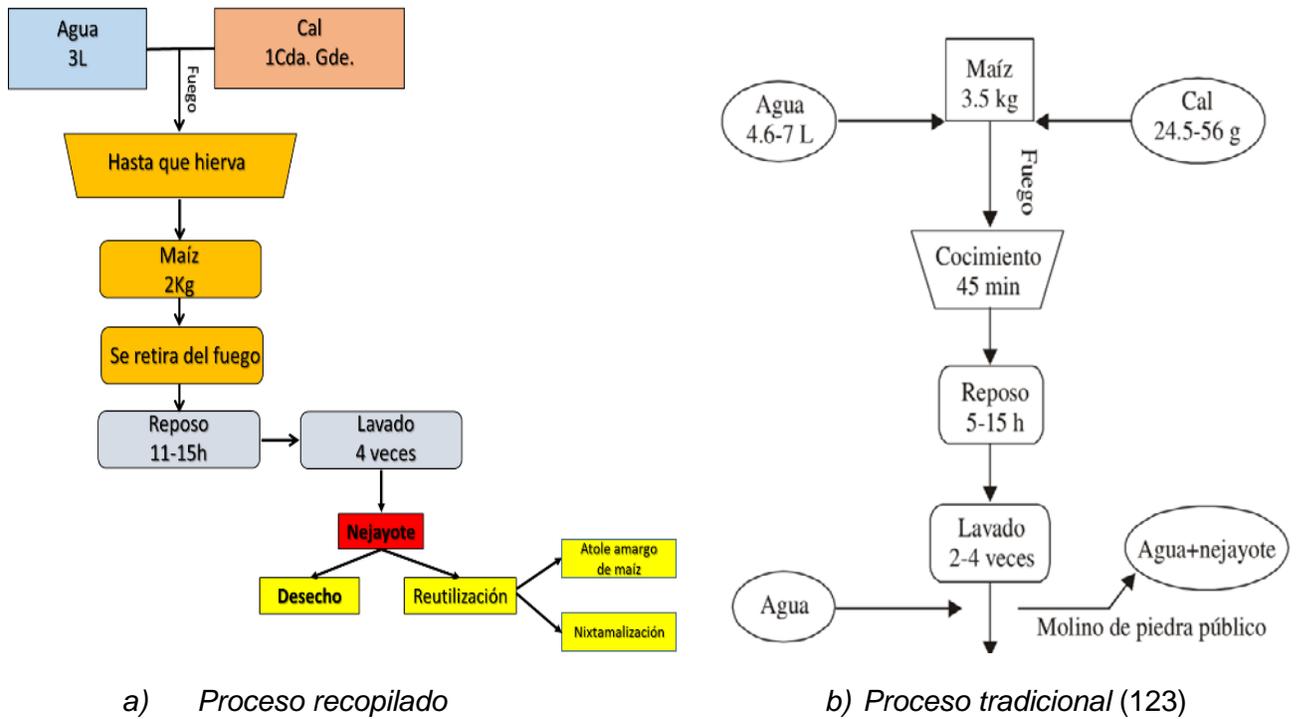


Figura 14. Procesos de nixtamalización en comunidades indígenas de la Huasteca Potosina y en el resto del país

Cerca del 80% de las encuestadas incorporan el agua con la cal y al momento de hervir se retira del fuego y se agrega el maíz, manteniéndolo cerca del fuego pero sin realizar ebullición del nixtamal, dejando en reposo entre 11 a 15 horas. Se realizan en promedio 4 enjuagues con agua para eliminar la alcalinidad. El 20% de las familias utilizan el nejayote (agua de enjuague) (**Figura 15**), como alimento para animales, para hacer nixtamal nuevamente, para elaborar atole amargo de maíz, o para regar plantas.

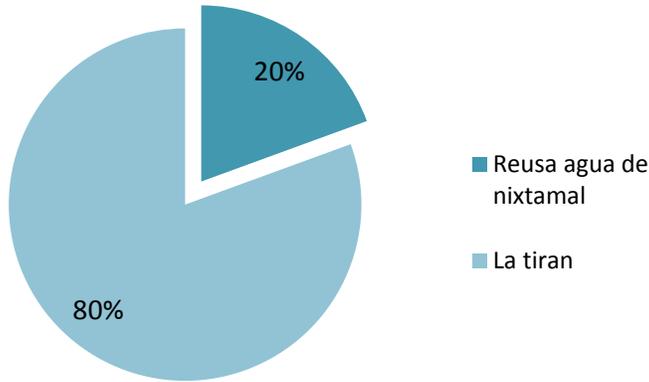


Figura 15. Uso de agua de enjuague (nejayote)

Alrededor del 92% de las amas de casa que se entrevistaron utilizan agua de pozo y agua de la llave para preparar su nixtamal. Además el 61% cuenta con molino manual propio, el 10% molino eléctrico propio y el 29% lleva su nixtamal al molino comunitario. El 67% de las mujeres encuestadas cultivan su propio maíz una vez al año y al no contar con maíz propio lo adquieren principalmente en la tienda de la comunidad o en la tienda Diconsa representando el 92 % de las encuestadas las que recurren a esta opción. Para realizar la nixtamalización el 98% utiliza cal (CaO) y el 93% la realiza en fogón con leña (**Figura 16**).

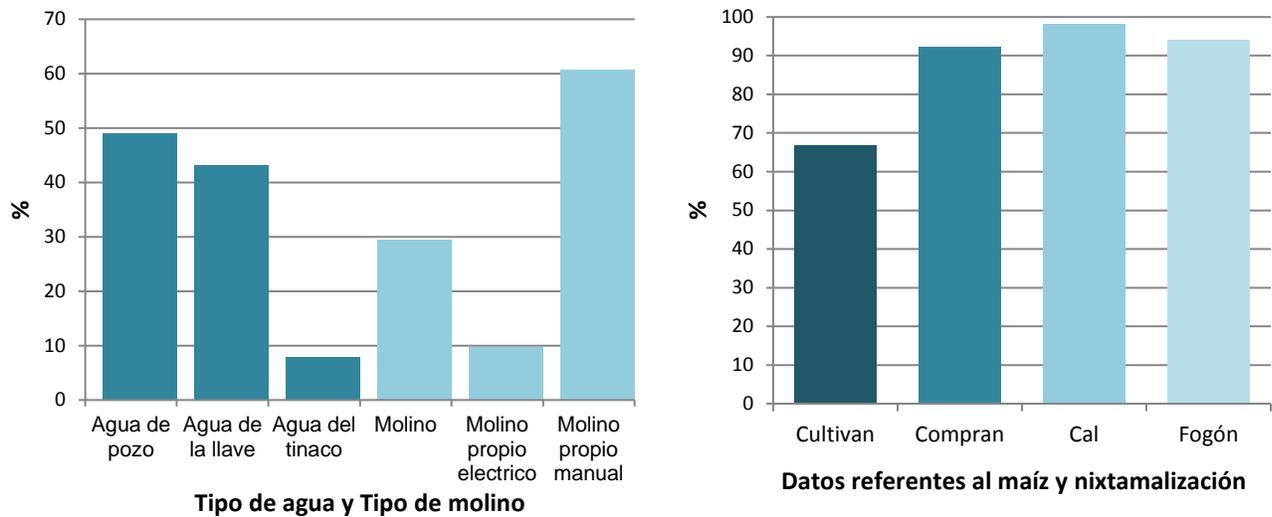


Figura 16. Materia prima del proceso de nixtamalización

6.7. Almacenamiento

El maíz comprado generalmente está desgranado y lo mantienen en costales que permanece por meses (de 5 a 12 meses) directamente en el suelo, en habitaciones con poca ventilación, lo que pudiera incrementar el riesgo del crecimiento de hongos y la aparición de insectos (**Figura 17**).



Figura 17. Forma de almacenamiento del Maíz.

Respecto al maíz cosechado la forma de secado, almacenamiento y conservación lo realizan de varias maneras. En la **Figura 18** se muestra el maíz dentro de la cocina, en la parte superior del fogón.



Figura 18. Maíz con hollín por el humo del fogón.

En la **Figura 19** se puede observar otras formas de almacenaje: suspendidos dentro de las habitaciones, al exterior de sus hogares (techo), o extendidos en el suelo, para secarse.



Figura 19. Formas de almacenamiento y conservación del maíz.

6.8. Factor de riesgo adicional detectado

Se identificó otro factor de riesgo asociado al maíz que consumen, se reporta el uso de un insecticida al que denominan “DDT” o “Pulminol” para evitar plagas por insectos, se solicitó una muestra que se disolvió en acetona, se filtró y transfirió a un vial para determinar sus componentes por medio de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas (CG-MS) realizando un barrido en modo SCAN. Los resultados muestran la presencia de Clorpirifos principalmente y Metil paratión, entre otros de menor abundancia (**Figura 20**).

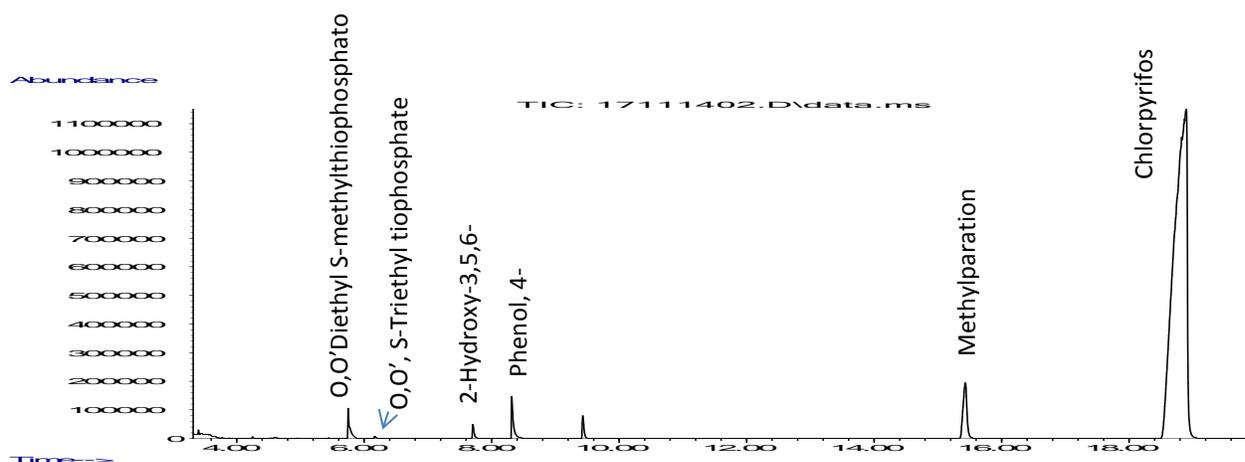


Figura 20. Cromatograma de insecticida utilizado en maíz de consumo.

Se realizó una extracción sólido-líquido de maíz cosechado por la familia y granos de maíz comprado, provenientes de la vivienda donde se solicitó la muestra de insecticida, así como de otra vivienda que realizaba la misma práctica. Se detectó la presencia de clorpirifos aunque no de metil paratión (**Figura 21**).

Abundance

TIC: 17112103.D\data.ms

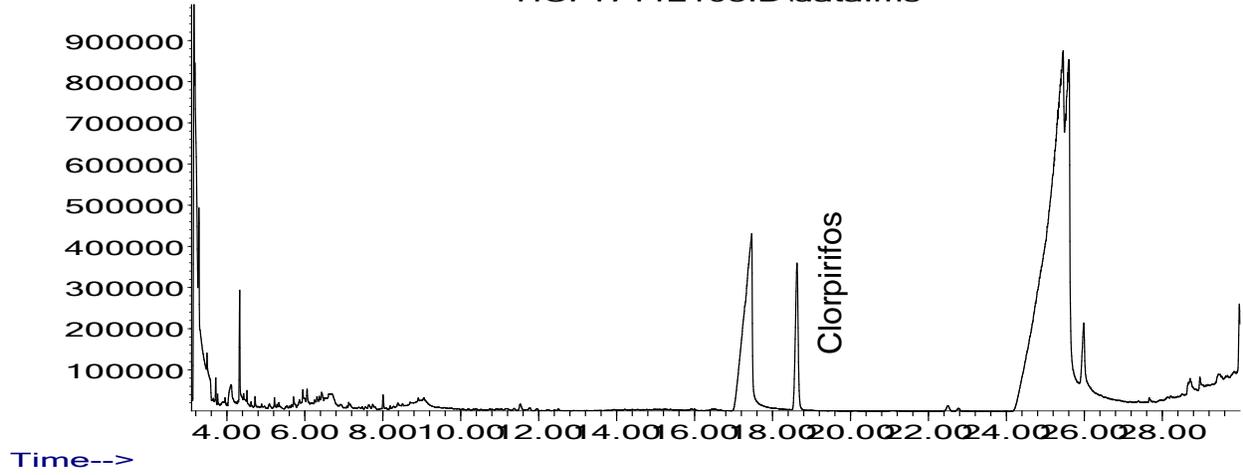


Figura 21. Cromatograma de la extracción de muestra de maíz con presencia de clorpirifos

7. DISCUSIÓN

Las aflatoxinas son un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades en población infantil. La exposición a estos compuestos ha sido asociada con el retraso en el crecimiento, peso corporal y restricción del crecimiento intrauterino (124). El desarrollo del crecimiento del niño se ha tratado principalmente como un problema nutricional generalmente asociado a deficiencias nutricionales con poca cantidad y diversidad de nutrientes que no satisfacen las demandas dietéticas para el desarrollo de la población infantil (125).

No obstante, los alimentos también pueden estar contaminados por agentes microbiológicos como bacterias y hongos, toxinas ambientales como las bacterianas, fúngicas (micotoxinas), metales y productos químicos orgánicos, que aunado al agua contaminada, la falta de saneamiento e higiene, dan como resultado el desarrollo de enfermedades transmisibles y no transmisibles, siendo los niños los más afectados (126).

Es importante señalar que existen pocos estudios en población infantil sobre exposición a aflatoxinas. En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio de aducto AFB₁-lisina, los valores están por debajo de los reportados en países de África y sur de Asia. Con respecto a México, un estudio realizado por Leroy et al. (2018) en comunidades de Oaxaca, Chiapas, Tabasco, Veracruz y Puebla se obtuvo un valor promedio de 0.82 ± 0.72 pg/mg de albúmina ($n = 347$) (127), los cuales comparados con los resultados de los niños en nuestro estudio son hasta 7.9 veces más bajos (**Tabla 5**). Estos datos indican la importancia de vigilar la exposición a aflatoxinas en estas comunidades debido a los valores de exposición encontrados y sus posibles efectos en salud.

En la población de estudio el 13% de los niños que participaron presentaron talla baja de acuerdo con los patrones internacionales de crecimiento infantil (talla para la edad). Según los datos obtenidos por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) del 2016 en la evaluación del estado nutricional de sobrepeso y obesidad, las prevalencias en localidades rurales en población escolar (de 5 a 11 años) fueron de 16.5 y 12.5 % respectivamente (128). Con respecto a los niños de nuestro estudio, estos porcentajes fueron menores (9.7 y 6.5% respectivamente).

En los datos de los EGOs (Examen General de Orina) no se presentaron valores fuera de los rangos normales. Por otra parte, los datos de creatinina y TFG podemos observar que el 32 y 77.4% respectivamente se encuentran alterados con base a los rangos de referencia (121), esto se puede deber a muchas causas, principalmente por mala nutrición ya que se ha demostrado que los niños y adultos con malnutrición proteico-energética (PEM-Protein-Energy Malnutrition) tienen una tasa de filtración y flujo plasmático renal disminuidos, así como una menor capacidad para concentrar la orina y excretar una carga de ácido (129). Las aflatoxinas han sido implicadas en la patogénesis de la malnutrición proteico-energética (PEM), una condición que afecta a más de 118 millones de los niños en el mundo en desarrollo (47). Está relacionada principalmente en pacientes con kwashiorkor, ya que se ha reportado concentraciones elevadas de AFs en autopsias de riñón de niños que murieron por kwashiorkor (96). Sin embargo, otros estudios también han implicado a las aflatoxinas en la patogénesis de otros tipos de desnutrición, tales como pérdida del tamaño del músculo (emaciación) y retraso del crecimiento (47). Tomando en consideración el principio precautorio, estos valores son indicativos de riesgo a la salud infantil, por lo que se debe realizar más estudios para evaluar un posible daño renal.

Tabla 5. Comparación de concentraciones de AB1-lisina en población infantil en distintos sitios.

ESTUDIO	LUGAR	EDAD	n	MEDIA	RANGO	REFERENCIA
Aflatoxina-albúmina en suero de diferentes partes del mundo	Gambia	3-8 años	116		<5-350	(41)
			47		5-350	
	Kenya	1-9 años	30		<5-350	
	Senegal	2 años	29		5-100	
	Uganda	1-15 años	30		<5-50	
	Francia	6 meses-15 años	30		<5	
Polonia	14-15	14		<6		
Aflatoxinas, malaria y Hepatitis B	Gambia	3-8 años	323/394	57.4	5-720	(130,131)
Aflatoxinas, enzimas hepáticas y virus de la Hepatitis B	Gambia	3-4 años	117	29.3	2.2-250	(132)
Determinantes ambientales y genéticos de exposición a aflatoxinas	Gambia	<15 años	118	66.4	47.6-92.9	(133)
Hepatitis B y biomarcador de aflatoxina	Gambia (África Occidental)	3-4 años	444		2.2-459	(134)
			404	31.6	27.8-36.1	
			34	44.9	32.3-62.6	
			6	96.9	45.2-207.7	
Exposición alimentaria y deterioro del crecimiento	Benin y Togo (África Occidental)	≤3 años	302	18	15.2-21-3	(69)
		9 meses-5 años	475/479	32.8	5-1064	
Exposición alimentaria y el rol crítico del destete	Benin y Togo (África Occidental)	<1	14	9.5	6.6-14.4	(39)
		1-	152	21.1	17.9-24.9	
		2-	136	42.9	35.7-51.7	
		3-	101	44.7	37.2-53.7	
		4 a 5	52	41.3	31.9-53.4	
		9 meses-5 años	248	31.2	27.0-36.0	
231	34.8	30.4-39.9				
Respuesta inmune tras exposición a Aflatoxinas	Gambia	5-9 años	434/466	22.3	5-456	(104)
Ausencia de la mutación que genera hepatocarcinoma por exposición a aflatoxinas.	Guinea (África Occidental)	2-5 años	119/124	9.9	8.8-11.0	(85)
Exposición a aflatoxinas en útero causa retraso en el crecimiento a bebés	Gambia	16 semanas	13/118	8.7	5-30.2	(72)
Exposición a aflatoxinas y hepatomegalia	Kenia (África Oriental)	6-17 años	249	114.5	99.7-131.4	(135)
				539.7	463.3-628.7	
Exposición a aflatoxinas y fumonisinas	Tanzania	12-22 meses	123/148		2.8-65.0	(136,137)
			56	43.2	28.7-65.0	
			37	19.9	13.5-29.2	
			55	3.6	2.8-4.7	
Exposición durante los primeros 1000 días de vida	Bangladesh (Sur de Asia)	recién nacidos	63	27.41	4.62-76.69	(44)
		2 años	63	13.79	3.88-81.44	
Exposición a aflatoxinas y estado de micronutrientes	Guinea (África Occidental)	10-46 meses	269/305	12.7	10.9-14.7	(138)
			269/288	16.3	14.4-18.5	
Bajos niveles de aflatoxinas y crecimiento lineal	Sur de México	8-12 meses	345/347	0.82 (0.72)		(127)

En el presente estudio identificamos que la ruta de exposición a aflatoxinas en niños es principalmente por ingesta de alimentos. Los resultados de las frecuencias de consumo muestran que los niños tienen una dieta poco variada, centrando su dieta en productos como leche, huevo, queso, frijol, arroz y maíz (principalmente tortilla). Otra posible fuente de exposición a aflatoxinas son los alimentos de autoconsumo como el puerco, pollo y el huevo, derivados de animales de granja que pudieran estar expuestos a aflatoxinas a través de maíz contaminado que consuman.

Por otra parte, un estudio realizado por nuestro grupo de investigación, reportó un porcentaje de detección mayor en mujeres adultas (83%) (139), con un rango de concentraciones de 1.08 a 102.6 pg de AFB₁-lisina/mg de albúmina, haciendo referencia que la exposición a aflatoxinas es mayor en mujeres debido a la manipulación del maíz ya que además de una ruta de ingesta se presenta la ruta inhalatoria al manejar los cultivos (140). Al analizar los datos obtenidos de la población infantil identificamos que las niñas de nuestro estudio representan el 64.3% de la población detectada con aflatoxina B₁ en suero (45% detectada), este valor puede ser explicado debido a que las niñas en las comunidades indígenas apoyan desde etapas tempranas en las labores domésticas. Este escenario hace alusión a la inequidad de género en salud existente en estas zonas ya que la mujer es la encargada de las tareas domésticas dentro de las cuales se encuentra la manipulación y elaboración de alimentos.

En México, se ha reportado contaminación de AFs en alimentos de la canasta básica como productos lácteos y cereales (141,142). En nuestro país, el maíz está frecuentemente contaminado con AFs por *Aspergillus flavus* (110). Sin embargo, la investigación se ha enfocado en áreas urbanas, mientras que las poblaciones indígenas son los más afectados y presentan mayor riesgo de exposición ya que su consumo de tortillas es mayor (143).

Según Bucio et al. (2001) en el centro de México, las condiciones ambientales, particularmente la sequía, parecen ser favorables para el crecimiento del hongo *Aspergillus flavus* y la síntesis de aflatoxinas, principalmente en el almacenaje (144,145). Se han reportado niveles de aflatoxinas de hasta 100 µg/kg en Tamaulipas (143) y en Monterrey de 5 a 465 µg/kg (146). Según cifras de la FAO, el 45% del consumo nacional de calorías proviene de alimentos derivados del maíz. De acuerdo con Cruz Huerta (2007) México es el principal consumidor de tortilla per capita en el mundo por niños y adultos, pues se estima que es consumida por el 94% de la población, por lo que el volumen de producción y consumo es cercano a los 12 millones de toneladas de tortillas al año (147). De acuerdo a los datos reportados nuestra zona de estudio cuenta con las condiciones ambientales ideales para provocar la proliferación del hongo *Aspergillus*. Se reporta un clima semicálido húmedo con una temperatura media anual de 24.7°C, por lo que existe un riesgo de exposición a aflatoxinas.

Otro punto importante de nuestra investigación es enfatizar que el proceso de nixtamalización que realizan en la zona de estudio difiere del reportado en la literatura

como “proceso tradicional de nixtamalización” (123,148) y que consiste en mantener el maíz, agua y cal juntos en ebullición por 50 minutos aproximadamente, se deja reposar y posteriormente se enjuaga (149,150). Diferentes investigaciones señalan que al modificar las condiciones como cantidad de cal, tiempo de cocción y reposo, se obtiene una disminución desde un 61 hasta un 96% en la concentración de aflatoxinas (151–153). En la zona de estudio evitan el tiempo de cocción prolongado, pues la percepción de las participantes encuestadas es que el nixtamal adquiere una consistencia “pegajosa”. Este dato indica que no se alcanza la temperatura necesaria para la inactivación de las aflatoxinas. Un proceso elaborado por Méndez-Albores et al. (2004) en el cual el tiempo de cocción es de 10 minutos a 92°C, con 0.3% de CaO y un tiempo de reposo de 2 horas, se obtiene una disminución del 61% en la concentración de AFB₁ indicando que la cantidad de cal y el tiempo de cocción y de reposo no son los más adecuados para una mayor eficiencia (151).

En la zona de estudio se ha reportado presencia de aflatoxinas. Zuki-Orozco et al. (2018)⁷ reportaron que el 18% de las tortillas analizadas en el área de Tocoay (154) exceden los límites permisibles en México de AFs totales (12 µg/Kg) (108) alcanzando un 26% si se compara con los límites establecidos en la Unión Europea (5 µg/ kg) para AFB₁ (105). Estos datos comprueban que existe presencia de aflatoxinas en la zona y que el proceso de nixtamalización que realizan no representa un método efectivo para disminuir la concentración de aflatoxinas.

Dentro de los procesos físicos (altas temperaturas, radiaciones gamma y UV), químicos (tratamientos con cloro, amonio, ozono, sales, ácido, álcalis entre otros) y

biológicos (agentes de control, enzimas y plantas genéticamente modificadas) que tienen esta característica detoxificadora (149,155–157), pero podrían modificar las propiedades organolépticas del maíz y cualquier otro cultivo, así como sus propiedades nutricionales, convirtiéndolo en un alimento no apto para consumo humano, la nixtamalización conlleva un proceso químico denominado hidrólisis alcalina en el cual, con el incremento del pH y temperatura el anillo de lactona se abre provocando una inactivación de las aflatoxinas (158) y a diferencia de los otros procesos, la nixtamalización modifica las propiedades del maíz de tal manera que lo vuelve un alimento altamente nutritivo y agradable al paladar.

Se ha hecho alusión a que los productos obtenidos de la hidrólisis tienen un efecto reversible al estar en contacto con medio ácido, que se alcanzaría con los ácidos gástricos del estómago, produciendo nuevamente AFB₁ (148,159). Anguiano-Ruvalcaba y colaboradores (2005), reportan que los remanentes de la nixtamalización al ser ingeridas por pollos no presentaban efectos tóxicos, además de que el tratamiento ácido muestra una disminución de las aflatoxinas remanentes no tóxicas concluyendo que la nixtamalización es un proceso efectivo en la inactivación de la AFB₁ y Aflatoxicol (153). Méndez-Albores y colaboradores (2004) reportan una eficiencia en la nixtamalización de 93.2% para tortillas y 86% para masa (151), con base en sus resultados se puede observar que la regeneración en medio ácido corresponde al 2.3% y 8% en tortillas y masa con respecto de la concentración inicial, esto representa el 90.9% y 78% de reducción en la concentración de aflatoxinas en tortillas y masa. El hecho de que el proceso de nixtamalización haya

cambiado con los últimos años, con respecto del proceso tradicional (según el proceso recopilado en tiempos de cocción principalmente), pudiera ser una de las causas por las que las concentraciones de aflatoxinas en México se ha incrementado.

Otro factor de riesgo de exposición a aflatoxinas analizado es el nejayote. En una muestra analizada se reportó la concentración 1.88 µg/Kg de AFB₁, (dato otorgado por la Dra. Doralinda Guzmán de Peña del Cinvestav-IPN de Irapuato). De acuerdo a los resultados obtenidos el 20% de las encuestadas reutiliza el nejayote (agua de enjuague) lo que incrementa el riesgo de exposición a aflatoxinas, debido a que la mayoría de los subproductos de AFB₁ permanecen en este fluido (158). Finalmente el uso de molino compartido también es un riesgo de contaminación por aflatoxinas hacia otros productos, ya que si una muestra de nixtamal se encuentra contaminada puede dejar residuos, mismos que pueden transferirse a otra muestra.

En cuanto a otros factores de riesgo a la salud por el consumo de maíz, se reporta la presencia hollín, uso de insecticidas para su almacenamiento, falta de higiene en la utilización del maíz y el uso de agua de la llave o de pozo para la nixtamalización. Los resultados indicaron la presencia de clorpirifos, este insecticida es utilizado para el almacenamiento del maíz para evitar la infestación de gorgojos. Se ha reportado una gran variedad de efectos en salud humana, desde cambios de conducta o hábitos de sueños, cambios de humor y efectos en el sistema nervioso y en los músculos de las extremidades, mareos, fatiga, náuseas, hasta parálisis,

convulsiones, desmayos y muerte, dependiendo de la dosis y el tiempo de exposición. En el caso de los niños los efectos crónicos son daño en el sistema nervioso, efectos neurológicos, trastornos del desarrollo psicomotor y trastornos autoinmunes (160,161).

La zona de estudio del presente trabajo es un reflejo de la población indígena en México, estas poblaciones son más vulnerables porque sufren diferencias en salud con respecto del resto de la sociedad que en general presentan mayor precariedad que en las poblaciones no indígenas del mismo estrato socioeconómico. Esta diferencia es causada por las condiciones económicas y ambientales, una mayor exposición a los factores de riesgo para la salud, el acceso deficiente a los servicios de salud y la malnutrición crónica (162). En particular, en el área de Tocoay, nuestro grupo ha informado sobre la exposición a riesgos ambientales, como la exposición a pesticidas, compuestos orgánicos persistentes, metales, además de factores de malnutrición y bajo nivel socioeconómico (163–165). Por lo tanto, la población infantil indígena presenta un mayor riesgo de exposición a mezclas de contaminantes y por consiguiente a efectos de salud, particularmente debido a problemas socioculturales porque están expuestos a Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) desde una edad muy temprana debido a la quema de biomasa, aflatoxinas debido al manejo y consumo de alimentos contaminados entre otros factores.

8. CONCLUSIONES

En el presente estudio se encontró que el 45% de la población infantil analizada presenta concentraciones de AFB₁-lisina en suero, esto debido a que se encuentran expuestos a estas micotoxinas presentes en los alimentos. El maíz, es uno de los principales cultivos que se ve afectado por estos contaminantes, ya que es un alimento de alto consumo tanto en estas comunidades como en todo México y forma parte indispensable de nuestra dieta. Es por esto que su consumo frecuente, mismo que es mayor en zonas rurales se vuelve un factor de riesgo muy importante que puede ocasionar problemas a la salud en población vulnerable como son los niños. Además se pudo detectar factores de riesgo como una alimentación inadecuada, lo que se ve reflejado en alteraciones en la creatinina sérica y la TFG, indicativo de riesgo a la salud, por lo que es importante realizar evaluaciones para prevenir daño renal. La baja talla encontrada, el sobrepeso y obesidad también se ven afectados por una mala alimentación, incrementando la susceptibilidad de esta población para adquirir alguna enfermedad asociada a condiciones de malnutrición.

Los resultados encontrados muestran que en la zona de estudio existen factores de riesgo químicos que la población no logra percibir como dañinos para su salud, algunos de ellos son los HAPs y hollín provenientes de la quema de biomasa, a la que están expuestos diariamente por el fogón con el que preparan sus alimentos, insecticidas empleados para mitigar la presencia de gorgojos y hormigas en sus cultivos, así como las aflatoxinas, las cuales se pueden presentar en cualquier punto de la cadena de distribución alimentaria, desde el campo hasta la mesa. Las fuentes de contaminación están relacionadas tanto con factores ambientales como con las condiciones de almacenaje, ya que se encontró

que sus prácticas de almacenamiento no son las adecuadas para la conservación de la inocuidad del maíz. Además por las condiciones ambientales de temperatura y humedad de la zona es factible la proliferación del hongo *Aspergillus flavus* y del cual provienen las aflatoxinas. Otros factores de riesgo asociados con las condiciones de almacenamiento son la presencia de insectos, roedores y aves que dañan los granos haciéndolos más susceptibles a la contaminación, actuando como acarreadores de esporas productoras de hongos o incluso portadores de algún otro contaminante que pueda presentar un riesgo a la salud humana.

En este estudio, se documentó una variación en el proceso de nixtamalización para elaborar sus tortillas. Es probable que no se lleve a cabo una efectiva inactivación de estas micotoxinas, pudiendo estar expuestos a concentraciones más elevadas de AFB₁. El paso de vital importancia es la ebullición por un periodo prolongado del maíz con la cal y el agua para favorecer la reacción de hidrólisis alcalina. La nixtamalización es un procedimiento transmitido de generación en generación que ayuda a disminuir el riesgo de exposición a aflatoxinas por lo que es importante realizar estudios para conocer la efectividad del proceso de nixtamalización que realizan en comunidades rurales e indígenas y poder sugerir modificaciones benéficas a favor de la salud, de tal manera que no interfiera con las propiedades organolépticas de los alimentos elaborados.

Derivado de los resultados de este trabajo, es necesario crear un programa de vigilancia de exposición a aflatoxinas. El biomarcador de exposición AFB₁-lisina es una herramienta

importante para la vigilancia de las AFs y sus efectos sobre la salud, por lo que adicionalmente a una intervención estratégica para la prevención de contaminación de sus alimentos promoviendo las buenas prácticas agrícolas y de almacenamiento en las comunidades, sería necesario realizar un monitoreo en población vulnerable (niños y mujeres) especialmente en zonas rurales, donde se ha observado mayor contaminación por estas micotoxinas.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Upton JB, Cissé JD, Barrett CB. Food security as resilience: reconciling definition and measurement. *Int Assoc Agric Econ.* 2016;47:135–47.
2. FAO. Seguridad alimentaria. Inf políticas [Internet]. 2006;13(4):1–4. Available from: ftp://ftp.fao.org/es/esa/policybriefs/pb_02_es.pdf
3. FAO. Seguridad Alimentaria y Nutricional. Conceptos Básicos [Internet]. Tercera. Programa Especial para la Seguridad Alimentaria-PESA-Centroamérica. Proyecto Food Facility Honduras. 2011. Available from: <http://www.fao.org/3/a-at772s.pdf>
4. Devereux S, Edwards J. Climate Change and Food Security. *IDS Bull Clim Chang Dev.* 1999;22–30.
5. FAO/OMS. Garantía de la Inocuidad Calidad de los Alimentos: Directrices para el Fortalecimiento de los Sistemas Nacionales de Control de los Alimentos [Internet]. FAO/OMS, editor. Roma; 2003 [cited 2017 Sep 4]. 4-34 p. Available from: <http://www.fao.org/tempref/docrep/fao/006/y8705s/y8705s00.pdf>
6. Friedrich T. La seguridad alimentaria : retos actuales [Internet]. Vol. 48, Revista Cubana de Ciencia Agrícola. 2014. 319-322 p. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193033033001>
7. OMS. WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. WHO, editor. Geneva; 2015. 268 p.
8. FAO. Conceptos y marcos de Seguridad Alimentaria. Lección 1 ¿ Qué es la Seguridad Alimentaria ? 2010 p. 1–14.
9. Kopper G, Calderón G, Schneider S, Domínguez W, Gutiérrez G, Consultores

- F. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Roma; 2009. 194 p.
10. Martí LE, Sequeira G, Rosmini M, Repetto A, Frizzo L, Signorini M. Food Safety. La Seguridad Alimentaria como política pública. OPS/OMS, editor. Bogotá, Colombia; 2012. 146 p.
 11. WHO. Foodborne diseases in the WHO African Region. WHO Estim Glob Burd Foodborne Dis. 2015;1.
 12. Schmidt RH, Rodrickk GE. Food Safety Handbook [Internet]. New Jersey: Wiley-Interscience; 2003. 1-52 p. Available from: https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=87Eimlt7dMMC&oi=fnd&pg=PR11&dq=chemical+hazards+food+safety&ots=p0Z5sTLmA-&sig=so-munL7vqHQWp8D-L0ahHvotC8&redir_esc=y#v=onepage&q=chemical+hazards+food+safety&f=false
 13. Rodríguez-Matos A, Guzmán-Torres E, Escalona-Rosabal A, Otero-Fernández M. Peligros biológicos e inocuidad de alimentos. Rev Electrónica Vet REDVET. 2005;6(9):1–5.
 14. Olivares S, Zacarías I, Andrade M. Educación en Alimentación y Nutrición para la Enseñanza Básica [Internet]. Morón C, editor. Santiago de Chile; 2003. 148 p. Available from: <http://www.fao.org/docrep/014/am401s/am401s.pdf>
 15. OMS. Inocuidad de Alimentos [Internet]. 2018. Available from: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>
 16. D'Souza A, Jolliffe D. Food Insecurity in Vulnerable Populations: Coping With Food Price Shocks in Afghanistan. Amer J Agr Econ. 2014;96(3):790–812.

17. Marino DD. Perspectives in Practice Water and Food Safety in the Developing World : J Am Diet Assoc. 2007;107(11):1930–4.
18. OMS. Enfermedades No Transmisibles [Internet]. Organización Mundial de la Salud. 2018. Available from: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
19. Ford ES. Food Security and Cardiovascular Disease Risk Among Adults in the United States : Findings From the National Health and Nutrition Examination Survey , 2003 – 2008. Prev Chronic Dis [Internet]. 2013;10(11):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.5888/pcd10.130244>
20. Lombe M, Saltzman LY, Chu Y, Sinha A, Nebbitt VE. Cumulative Risk and Resilience: the Roles of Comorbid Maternal Mental Health Conditions and Community Cohesion in Influencing Food Security in Low-Income Households. Vol. 2985, Social Work in Mental Health. 2017. 1-32 p.
21. Borresen EC, Stone C, Boré A, Cissoko A, Maiga A, Koita OA, et al. Assessing Community Readiness to Reduce Childhood Diarrheal Disease and Improve Food Security in Dioro , Mali. Int J Environ Res Public Health. 2016;13(571):1–10.
22. OMS. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles [Internet]. 2010. 20 p. Available from: http://www.who.int/nmh/publications/ncd_report_summary_es.pdf
23. Beaglehole R, Bonita R, Horton R, Adams C, Alleyne G, Perviz A, et al. Priority actions for the non-communicable disease crisis. Health Policy (New York). 2011;377:1438–47.

24. Suk W, Ruchirawat M, Stein RT, Diaz-barriga F, Carpenter DO, Neira M, et al. Health Consequences of Environmental Exposures in Early Life : Coping with a Changing World in the Post-MDG Era. *Ann Glob Heal* [Internet]. 2016;82(1):20–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aogh.2016.01.006>
25. Abrunhosa L, Morales H, Soares C, Calado T, Vila-Chã A, Pereira M, et al. Micotoxinas Detectadas En Productos Alimenticios En Portugal: Revisión. Vol. 2, *Revista Bio Ciencias*. 2012. 5-31 p.
26. FAO. Manuales de control de la calidad de los alimentos: Capacitación en análisis de Micotoxinas. [Internet]. Roma; 1991. 152 p. Available from: <http://www.fao.org/docrep/014/T0322S/T0322S.pdf>
27. Carrillo L, Audisio MC, Del Valle Bejarano N, Gómez Molina SE, Ancasi EG, Benítez Ahreadts MR. Micotoxinas. *Manual de Microbiología de los Alimentos*. San Salvador de Jujuy: Asociación Cooperadora de Facultad de Ciencias Agrarias; 2007. 89-101 p.
28. Bogantes-Ledezma P, Bogantes-Ledezma D, Bogantes-Ledezma S. Revisión Aflatoxinas. *Acta Médica Constarricense*. 2004;46(4):174–8.
29. Caballero Torres ÁE. *Temas de Higiene de los Alimentos*. 2008. 103-107 p.
30. Hussein HS, Brasel JM. Toxicity , metabolism , and impact of mycotoxins on humans and animals. *Toxicology*. 2001;167:101–34.
31. Requena F, Saume E, León A. Micotoxinas: Riesgos y prevención [Internet]. Vol. 23, *Zootecnia tropical*. Venezuela: Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas; 2005 [cited 2017 Apr 15]. 393-410 p. Available from: <https://biblat.unam.mx/es/revista/zootecnia-tropical/articulo/micotoxinas->

riesgos-y-prevencion

32. Kuiper-Goodman T. Mycotoxins: risk assessment and legislation. *Toxicol Lett.* 1995;82–83(C):853–9.
33. Ruiz-Quiroz J-R. Las micotoxinas y salud. *Rev Soc Química Perú.* 2016;82(4):387–8.
34. Hyun Jung L, Ryu D. Advances in Mycotoxin Research: Public Health Perspectives. *J Food Sci.* 2015;80(12):2970–83.
35. Wild CP, Gong YY. Mycotoxins and human disease: A largely ignored global health issue. *Carcinogenesis.* 2010;31(1):71–82.
36. Martínez-Padrón HY, Hernández-Delgado S, Reyes-Méndez CA, Vázquez-Carrillo G. El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas The Genus *Aspergillus* and their Mycotoxins in Maize in Mexico: Problems and Perspectives. *Rev Mex Fitopatol.* 2013;31(2):126–46.
37. Carreño-Venegas A, Hurtado-Guerra JJ, Navas-Navas MC. Exposición a aflatoxina: Un problema de salud pública. *Iatreia.* 2014;27(1):42–52.
38. Chen JG, Egnér PA, Ng D, Jacobson LP, Muñoz A, Zhu YR, et al. Reduced aflatoxin exposure presages decline in liver cancer mortality in an endemic region of China. *Cancer Prev Res.* 2013;6(10):1038–45.
39. Gong YY, Egal S, Hounsa A, Turner PC, Hall AJ, Cardwell KF, et al. Determinants of aflatoxin exposure in young children from Benin and Togo, West Africa: The critical role of weaning. *Int J Epidemiol.* 2003;32(4):556–62.
40. Battilani P, Toscano P, Van der Fels-Klerx HJ, Moretti A, Leggeri MC, Brera C,

et al. Aflatoxin B 1 contamination in maize in Europe increases due to climate change. 2016;(December 2015):1–7.

41. Wild CP, Jiang Y-Z, Allen SJ, Jansen LAM, Hall AJ, Montesano R. Aflatoxin—albumin adducts in human sera from different regions of the world [Internet]. Vol. 11, Carcinogenesis. 1990. p. 2271–4. Available from: http://www.cabdirect.org/abstracts/19911208231.html?resultNumber=0&q=aflatoxin*+AND+liver+cancer&fq=gl_facet:%22Kenya%22
42. HMDB. Human Metabolome Database. 2017.
43. Gimeno A. Aflatoxicosis en Humanos Provocada por el Consumo de Alimentos Contaminados, que no son de Origen Animal [Internet]. Special Nutrients, Inc. 2007. Available from: <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/aflatoxicosis-humanos-provocada-consumo-t27239.htm>
44. Groopman JD, Egner PA, Schulze KJ, Wu LS, Merrill R, Mehra S, et al. Aflatoxin exposure during the first 1000 days of life in rural South Asia assessed by aflatoxin B 1 -lysine albumin biomarkers. Food Chem Toxicol [Internet]. 2014;74:184–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2014.09.016>
45. Kensler TW, Roebuck BD, Wogan GN, Groopman JD. Aflatoxin: A 50-year Odyssey of mechanistic and translational toxicology. Toxicol Sci. 2011;120(SUPPL.1):28–48.
46. Abastida-Ulloa J-A. Evaluación de la incidencia de aflatoxinas en dos variedades de maíz en Zamorano. 1999;

47. Martínez-Miranda MM, Vargas del Río LM, Gómez-Quintero VM. Aflatoxinas: Incidencia, Impactos En La Salud, Control Y Prevención. Biosalud [Internet]. 2014;12(2):89–109. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1657-95502013000200008&lang=pt
48. IARC. Aflatoxins. Iarc Monogr Eval Carcinog Risks Humans. 2012;100 F:225–48.
49. IARC/WHO. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. Monogr Eval Carcinog Risks to Humans [Internet]. 2002;83:179–300. Available from: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol82/mono82.pdf>
50. Lizárraga-Paulín EG, Ernesto M-M, Miranda-Castro S. Aflatoxins and Their Impact on Human and Animal Health: An Emerging Problem. In: Guevara-Gonzalez RG, editor. Aflatoxins-Biochemistry and Molecular Biology [Internet]. In Tech; 2011. p. 255–82. Available from: <http://www.intechopen.com/books/aflatoxins-biochemistry-and-molecular-biology/aflatoxins-and-their-impact-on-human-and-animal-health-an-emerging-problem>
51. IARC/WHO. Some Naturally Occurring Substances- Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. Vol. 56, Monographs on the evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon; 1993. 245-395 p.
52. Wogan GN, Edwards GS, Newberne PM. Structure-Activity Relationships in

- Toxicity and Carcinogenicity of Aflatoxins and Analogs¹. *Cancer Res.* 1971;31(12):1936–42.
53. Leong YH, Latiff AA, Ahmad NI, Rosma A. Exposure measurement of aflatoxins and aflatoxin metabolites in human body fluids. A short review. *Mycotoxin Res.* 2012;28(2):79–87.
54. Williams JH, Phillips TD, Jolly PE, Stiles JK, Jolly CM, Aggarwal D. Human aflatoxicosis in developing countries: A review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. Vol. 80, *American Journal of Clinical Nutrition.* 2004. p. 1106–22.
55. Carvajal M. Transformación de la aflatoxina B1 de alimentos, en el cancerígeno humano, aducto AFB1-ADN. *Tip.* 2013;16(2):109–20.
56. ChemSpider. ChemSpider [Internet]. Royal Society of Chemistry. 2018. Available from: <http://www.chemspider.com/Default.aspx>
57. TOXNET. TOXNET [Internet]. Toxicology Data Network. 2018. Available from: <https://toxnet.nlm.nih.gov/>
58. Kew MC. Aflatoxins as a Cause of Hepatocellular Carcinoma. 2013;22(3):305–10.
59. Peers FG, Gilman GA, Linsell CA. Dietary aflatoxins and human liver cancer. A study in Swaziland. *Int J Cancer.* 1976;17(2):167–76.
60. Decker M, Arand M, Cronin A. Mammalian epoxide hydrolases in xenobiotic metabolism and signalling. *Arch Toxicol.* 2009;83(4):297–318.
61. Kumagai S. Intestinal absorption and excretion of aflatoxin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1989;97(1):88–97.

62. Johnson WW, Harris TM, Guengerich FP. Kinetics and Mechanism of Hydrolysis of Aflatoxin B₁ exo-8,9-Epoxy and Rearrangement of the Dihydrodiol. 1996;7863(10):8213–20. Available from: <http://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ja960525k>
63. Guengerich FP, Johnson WW, Shimada T, Ueng YF, Yamazaki H, Langouët S. Activation and detoxication of aflatoxin B₁. *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen*. 1998;402(1–2):121–8.
64. Wild CP, Turner PC. The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis* [Internet]. 2002;17(6):471–81. Available from: <https://academic.oup.com/mutage/article-lookup/doi/10.1093/mutage/17.6.471>
65. Quezada-Chalco DC. Riesgo Toxicológico de Aflatoxinas presentes en maní y nueces comercializados en los principales mercados de la Ciudad de Cuenca. 2014.
66. Qian GS, Ross RK, Yu MC, Yuan JM, Gao YT, Henderson BE, et al. A follow-up study of urinary markers of aflatoxin exposure and liver cancer risk in Shanghai, People's Republic of China. *Cancer Epidemiol Prev Biomarkers*. 1994;3(1):3–10.
67. Xue KS, Cai W, Tang L, Wang JS. Aflatoxin B₁-lysine adduct in dried blood spot samples of animals and humans. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2016;98:210–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2016.11.002>
68. Guzmán-De-Peña D. La exposición a la Aflatoxina B₁ en animales de laboratorio y su significado en salud pública. *Salud Publica Mex*. 2007;49(3):227–35.

69. Gong YY, Cardwell K, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Hall AJ, et al. Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. *BMJ*. 2002;325(7354):20–1.
70. Scholl PF, Turner PC, Sutcliffe AE, Sylla A, Diallo MS, Friesen MD, et al. Quantitative comparison of aflatoxin B1 serum albumin adducts in humans by isotope dilution mass spectrometry and ELISA. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(4):823–6.
71. McCoy LF, Scholl PF, Sutcliffe AE, Kieszak SM, Powers CD, Rogers HS, et al. Human aflatoxin albumin adducts quantitatively compared by ELISA, HPLC with fluorescence detection, and HPLC with isotope dilution mass spectrometry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(7):1653–7.
72. Turner PC, Collinson AC, Cheung YB, Gong Y, Hall AJ, Prentice AM, et al. Aflatoxin exposure in utero causes growth faltering in Gambian infants. *Int J Epidemiol*. 2007;36(5):1119–25.
73. Sabbioni G, Ambs S, Wogan GN, Groopman JD. The aflatoxin - lysine adduct quantified by high-performance liquid chromatography from human serum albumin samples. *Carcinogenesis*. 1990;11(11):2063–6.
74. Camean Fernández AM, Repetto Jiménez M. *Toxicología alimentaria*. 2012.
75. Stora C, Dvorackova I, Ayraud N. Aflatoxin and Reye's syndrome. *J Med*. 1983;14(1):47—54.
76. Nelson DB, Kimbrough R, Landrigan PS, Hayes AW, Yang GC, Benanides J, et al. Aflatoxin and Reye's Syndrome: A Case Control Study. *Pediatrics*. 1980;66(6):865–9.

77. May Fadhil Majil, Al-Habib, Akram Abood, Jaffar, Hayder Hammadi A-A. Aflatoxin B1-induced kidney damage in rats. *J Fac Med Baghdad*. 2007;49(1):147–50.
78. Chen JG, Zhu J, Parkin DM, Zhang YH, Lu JH, Zhu YR, et al. Trends in the incidence of cancer in Qidong, China, 1978-2002. *Int J Cancer*. 2006;119(6):1447–54.
79. Groopman JD, Cain LG, Kensler TW, Harris CC. Aflatoxin Exposure in Human Populations: Measurements and Relationship to Cancer. *CRC Crit Rev Toxicol* [Internet]. 1988;19(2):113–45. Available from: <http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=itxc19%5Cn>
<http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=itxc19>
80. Indira A, C.S. K, A. Paul J, G.S. G, V. S, H.A.B. P. Cirrhosis in children from peanut meal contaminated by aflatoxin. *Am J Clin Nutr*. 1971;24(6):609–14.
81. Newberne PM, Harrington DH, Wogan GN. Effects of cirrhosis and other liver insults on induction of liver tumors by aflatoxin in Rats. *Lab Investig*. 1966;15(6):962–9.
82. Wangikar PB, Dwivedi P, Sinha N, Sharma AK, Telang AG. Teratogenic effects in rabbits of simultaneous exposure to ochratoxin A and aflatoxin B1 with special reference to microscopic effects. *Toxicology*. 2005;215(1–2):37–47.
83. Wong JJ, Hsieh DP. Mutagenicity of aflatoxins related to their metabolism and carcinogenic potential. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1976;73(7):2241–4.
84. el-Zawahri M, Moubasher A, Morad M, el-Kady I. Mutagenic effect of aflatoxin B1. *Ann Nutr Aliment*. 1977;31(4–6):859—866.

85. Turner PC, Sylla A, Kuang SY, Marchant CL, Diallo MS, Hall AJ, et al. Absence of TP53 codon 249 mutations in young Guinean children with high aflatoxin exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2005;14(8):2053–5.
86. Shen H, Ong C. Mutations of the p53 tumor suppressor gene and ras oncogenes in aflatoxin hepatocarcinogenesis. 1996;366:23–44.
87. Creppy EE. Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe. *Toxicol Lett.* 2002;127(1–3):19–28.
88. Devendran G, Balasubramanian U. Biochemical and histopathological analysis of aflatoxin induced toxicity in liver and kidney of rat. *Asian J Plant Sci Res.* 2011;1(4):61–9.
89. Martínez-de-Anda A, Valdivia AG, Jaramillo-Juárez F, Rodríguez ML. Effects of aflatoxin chronic intoxication in renal function of laying hens. *Poult Sci.* 2010;89(8):1622–8.
90. Roze L V., Laivenieks M, Hong SY, Wee J, Wong SS, Vanos B, et al. Aflatoxin biosynthesis is a novel source of reactive oxygen species—a potential redox signal to initiate resistance to oxidative stress? *Toxins (Basel).* 2015;7(5):1411–30.
91. Shen H-M, Ong C-N, Shi C-Y. Involvement of reactive oxygen species in aflatoxin B1-induced cell injury in cultured rat hepatocytes. *Toxicology.* 1995;99(1):115–23.
92. Castillo R, Huerta P, Carrasco R, Rodrigo R. Estrés oxidativo y daño renal. *Cienc e Investig Médica Estud Latinoam [Internet].* 2003;8(1):44–53. Available from: <http://www.redalyc.org/pdf/717/71780109.pdf>

93. Glahn RP, Beers KW, Bottje WG, Wideman RF, Huff WE. Research Note: Altered Renal Function in Broilers During Aflatoxicosis. *Poult Sci* [Internet]. 1990;69(10):1796–9. Available from: <https://academic.oup.com/ps/article-lookup/doi/10.3382/ps.0691796>
94. Glahn RP, Beers KW, Bottje WG, Wideman RF, Huff WE, Thomas W. Aflatoxicosis alters avian renal function, calcium, and vitamin D metabolism. *J Toxicol Environ Health* [Internet]. 1991;34(3):309–21. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15287399109531570>
95. Dvorák R, Jagos P, Bouda J, Piskac A, Zapletal O. Changes of the clinico-biochemical indices in the ruminal juice and urine in experimental aflatoxicosis of dairy cows. *Vet Med (Praha)*. 1977 Mar;22(3):161—169.
96. Oyelami OA, Maxwell SM, Adelusola KA, Aladekoma TA, Oyelese AO. Aflatoxins in Autopsy Kidney Specimens from Children in Nigeria. *J Toxicol Environ Health*. 1998;317–23.
97. Gong YY, Hounsa A, Egal S, Turner PC, Sutcliffe AE, Hall AJ, et al. Postweaning exposure to aflatoxin results in impaired child growth: A longitudinal study in Benin, West Africa. *Environ Health Perspect*. 2004;112(13):1334–8.
98. Hendrickse RG, Coulter JBS, Lamplugh SM, Macfarlane SBJ, Williams TE, Omer MIA, et al. Aflatoxins and kwashiorkor: study in Sudanese children. *Br Med J*. 1982;285:843–6.
99. Coulter JBS, Hendrickse RG, Lamplugh SM, Macfarlane SBJ, Moody JB, Omer MIA, et al. Aflatoxins and kwashiorkor: Clinical studies in Sudanese children.

- Trans R Soc Trop Med Hyg. 1986;80(6):945–51.
100. Williams BCD, Oxon BM. Kwashiorkor. A Nutritional Disease of Children Associated With A Maize Diet. *Nutr Rev.* 1973;31(11):350–1.
101. Trowell H, Davies C. Kwashiorkor. 1954;6–17.
102. Gopalan C. Kwashiorkor and marasmus: evolution and distinguishing features. *Natl Med J India.* 1968;5(3):145–51.
103. Bondy GS, Pestka JJ. Immunomodulation by Fungal Toxins. *J Toxicol Environ Heal Part B* [Internet]. 2000;3(2):109–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/109374000281113>
104. Turner PC, Moore SE, Hall AJ, Prentice AM, Wild CP. Modification of immune function through exposure to dietary aflatoxin in Gambian children. *Environ Health Perspect.* 2003;111(2):217–20.
105. CEE. Reglamento (CE) No 1881/2006 de la Comisión. *D Of la Unión Eur.* 2006;(8):5–24.
106. SSA. NORMA Oficial Mexicana NOM-188-SSA1-2002. Productos y Servicios. Control de aflatoxinas en cereales para consumo humano y animal. Especificaciones sanitarias. *Secr Salud* [Internet]. 2002; Available from: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/188ssa12.html>
107. SSA. NORMA Oficial Mexicana NOM-147-SSA1-1996. Bienes y Sevicios. Cereales y sus Productos. Harinas de Cereales, Sémolas o Semolinas. Alimentos a base de Cereales, de Semillas Comestibles, Harinas, Sémolas o Semolinas o sus mezclas. *Productos de Panificación.* . *Secr Salud* [Internet]. 1996; Available from:

<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/147ssa16.html>

108. SSA. NORMA Oficial Mexicana NOM-187-SSA1/SCFI-2002. Productos y servicios. Masa, tortillas, tostadas y harinas preparadas para su elaboración y establecimientos donde se procesan. Especificaciones sanitarias. Información comercial. Métodos de prueba. Secr Salud. 2003;
109. Guzmán-De-Peña D, Peña-Cabriales JJ. Regulatory considerations of aflatoxin contamination of food in Mexico. *Rev Latinoam Microbiol.* 2005;47(3–4):160–4.
110. Ortega-Beltrán A, Jaime R, Cotty PJ, Peterson SW. Aflatoxin-producing fungi in maize field soils from sea level to over 2000 masl : A three year study in. *Fungal Biol* [Internet]. 2014;119(4):191–200. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2014.12.006>
111. Sass DC, Jager AV, Tonin FG, Rosim RE, Gomes Constantino M, Fernandes Oliveira CA. Síntesis and purification of the aflatoxin B1-lysine adduct. *Toxin Rev* [Internet]. 2014;online(0):1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.3109/15569543.2014.994132>
112. Sass DC, Jager AV, Tonin FG, Zambelli Ramalho LN, Silva Ramalho, Fernando Gomes Constantino M, Fernandes Oliveira CA. Methods for chemical preparation of aflatoxin B1 adducts, AFB1-N7-guanine and AFB1-lysine. *J Toxicol Toxin Rev.* 2013;32(4):68–74.
113. AOAC/FAO/IAEA/IUPAC. Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. 2002;1–38.
114. WMA. Asamblea Médica Mundial. Asamblea Médica Mundial. 2015. p. <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3>.

115. NOM. Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012. Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos. In: Diario Oficial de la Federación. 2013.
116. PueblosAmerica.com. Localidades de México [Internet]. Comunidades de San Antonio. 2017. Available from: <https://mexico.pueblosamerica.com/san-luis-potosi/san-antonio/>
117. INEGI. Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos San Antonio , San Luis Potosí. 2009;
118. McCoy LF, Scholl PF, Schleicher RL, Groopman JD, Powers CD, Pfeiffer CM. Analysis of aflatoxin B1-lysine adduct in serum using isotope-dilution liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2005;19(16):2203–10.
119. Hill PG, Wells TNC. Bromocresol Purple and the Measurement of Albumin. *Ann Clin Biochem.* 1983;20(5):264–70.
120. OMS. Patrones internacionales de crecimiento infantil de la OMS. 2007;8–32. Available from: http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/maternoinfantil/files/2012/05/1-evaluacion_curvas_final1.pdf
121. Schwartz GJ, Work DF. Measurement and Estimation of GFR in Children and Adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4:1832–43.
122. HealthCare. Rangos de Referencia Pediátricos [Internet]. University of Iowa. Health Care. 2018. Available from: https://www.healthcare.uiowa.edu/path_handbook/Appendix/Heme/PEDIATRIC_NORMALS.html

123. Rangel Meza E, Muñoz Orozco A, Vazquez Carrillo G, Cuevas Sanchez J, Merino Castillo J, Miranda Colin S. Nixtamalización, Elaboración y Calidad de Tortilla de Maíces de Ecatitlán, Puebla, México. *Agrocencia*. 2004;38:53–61.
124. Black RE, Allen LH, Bhutta ZA, Caulfi LE, Onis M De, Ezzati M, et al. Maternal and Child Undernutrition 1 Maternal and child undernutrition: global and regional exposures and health consequences. *Matern Child Undernutrition* 1. 2008;371:243–60.
125. Smith LE, Stoltzfus RJ, Prendergast A. Food Chain Mycotoxin Exposure, Gut Health, and Impaired Growth: A Conceptual Framework. *Adv Nutr An Int Rev J [Internet]*. 2012;3(4):526–31. Available from: <http://advances.nutrition.org/cgi/doi/10.3945/an.112.002188>
126. IARC/WHO. Mycotoxin Control in Low- and Middle- Income Countries [Internet]. Wild CP, Miller JD, Groopman JD, editors. IARC Working Group Reports; 9. 2015. 66 p. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27030861>
127. Leroy JL, Sununtnasuk C, García-Guerra A, Wang JS. Low level aflatoxin exposure associated with greater linear growth in southern Mexico: A longitudinal study. *Matern Child Nutr [Internet]*. 2018;(January):1–7. Available from: <https://doi.org/10.1111/mcn.12619>
128. ENSANUT. Nutrición. In: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino. 2016. p. 64–6.
129. Benabe JE, Martinez-Maldonado M. The Impact of Malnutrition on Kidney Function. *Miner Electrolyte Metab*. 1998;24:20–6.
130. Allen SJ, Wild CP, Wheeler JG, Riley EM, Montesano R, Bennet S, et al.

- Aflatoxin exposure, malaria and hepatitis B infection in rural Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1992;86:426–30.
131. Wild CP, Hudson GJ, Sabbioni G, Chapot B, Hall AJ, Wogan GN, et al. Dietary-Intake of Aflatoxins and the Level of Albumin-Bound Aflatoxin in Peripheral-Blood in the Gambia, West Africa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1992;1(3):229–34.
132. Wild CP, Fortuin M, Donato F, Whittle HC, Hall AJ, Wolf CR, et al. Aflatoxin, liver enzymes, and hepatitis B virus infection in Gambian children. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1993;2(2):555–61.
133. Wild CP., Yin F, Turner PC, Chemin I, Chapot B, Mendy M, et al. Environmental and Genetic Determinants of Aflatoxins-Albumin Adducts in the Gambia. *Int J Cancer.* 2000;7(2000):1–7.
134. Turner PC, Mendy M, Whittle H, Fortuin M, Hall AJ, Wild CP. Hepatitis B infection and aflatoxin biomarker levels in Gambian children. *Trop Med Int Heal.* 2000;5(12):837–41.
135. Gong YY, Wilson S, Mwatha JK, Routledge MN, Castelino JM, Zhao B, et al. Aflatoxin Exposure May Contribute to Chronic Hepatomegaly in Kenyan School Children. *Environ Health Perspect.* 2012;120(6):893–6.
136. Shirima CP, Kimanya ME, Kinabo JL, Routledge MN, Srey C, Wild CP, et al. Dietary exposure to aflatoxin and fumonisin among Tanzanian Children as determined using biomarkers of exposure. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57(10):1874–81.
137. Routledge MN, Kimanya ME, Shirima CP, Wild CP, Gong YY. Quantitative

- correlation of aflatoxin biomarker with dietary intake of aflatoxin in Tanzanian children. *Biomarkers*. 2014;19(5):430–5.
138. Watson S, Chen G, Sylla A, Routledge MN, Gong YY. Dietary exposure to aflatoxin and micronutrient status among young children from Guinea. *Mol Nutr Food Res*. 2016;60(3):511–8.
139. Díaz-de-León-Martínez L. Evaluación de Biomarcadores de daño renal temprano en poblaciones expuestas a aflatoxinas. 2018.
140. Liao C-M, Chen S-C. A probabilistic modeling approach to assess human inhalation exposure risks to airborne aflatoxin B 1 (AFB 1). *Atmos Environ*. 2005;39:6481–90.
141. Ramírez-Martínez A, Camarillo-Hernández E, Carvajal-Moreno M, Vargas-Ortiz M, Wesolek N, Rodriguez-Jimenes G, et al. Assessment of Aflatoxin M1 and M2 exposure risk through Oaxaca cheese consumption in southeastern Mexico. *Int J Environ Health Res [Internet]*. 2018;3123:1–12. Available from: <https://doi.org/10.1080/09603123.2018.1453054>
142. Suárez-Bonnet E, Carvajal M, Méndez-Ramírez I, Castillo-Urueta P, Cortés-Eslava J, Gómez-Arroyo S, et al. in Rice of Mexico and Spain , from Local Sources or Imported. *J Food Sci*. 2013;78(11):1822–9.
143. Plasencia J. Aflatoxins in Maize : A Mexican Perspective. *J Toxicol*. 2004;23(2 & 3):155–77.
144. Bucio-villalobos CM, Guzmán-De Peña D, Peña-Cabriales JJ. Aflatoxin synthesis in corn fields in Guanajuato, México. *Rev Iberoam Micol*. 2001;18:83–7.

145. Vega Ortiz V. Hongos Micotoxigénicos y Aflatoxinas en Granos de Maíz de Diferentes Orígenes Geográficos de la República Mexicana . Ingeniero Agrónomo Parasitólogo Hongos Micotoxigénicos y Aflatoxinas en Granos de Maíz de Diferentes Orígenes Geográficos de la República. 2012.
146. Torres-Espinosa E, Acuña-Askar K, Naccha-Torres LR, Montoya-Olvera R, Castrellón-Santa Anna JP. Quantification of aflatoxins in corn distributed in the city of Monterrey, México. Food Addit Contam [Internet]. 1995;12(3):383–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/02652039509374319>
147. Cruz Huerta E, Verdalet Guzmán Í. Tortillas de maíz: una tradición muy nutritiva. Rev Divulg Científica y Tecnológica la Univ Veracruzana [Internet]. 2007;20(3). Available from: <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol20num3/articulos/tradicion/index.html>
148. Méndez-Albores JA, Arámbula-Villa GA, Del-Río-García JC, Moreno-Martínez EM. Aflatoxin-detoxification achieved with Mexican traditional nixtamalization process (MTNP). J Sci Food Agric. 2004;84:1611–4.
149. Guzmán-De-Peña D, Trudel L, Wogan GN. Corn “Nixtamalización” and the Fate of Radiolabelled Aflatoxin B1 in the Tortilla Making Process. Environ Contam Toxicol. 1995;55:858–64.
150. Bressani R, Scrimshaw NS. Effect of Lime Treatment on in Vitro. Agric Food Chem. 1958;6(10):774–8.
151. Méndez-Albores JA, Arámbula-Villa G, Loarca-Piña MG, González-Hernández J, Castaño-Tostado E, Moreno-Martínez E. Aflatoxins ’ fate during the

- nixtamalization of contaminated maize by two tortilla-making processes. *J Stored Prod Res.* 2004;40:87–94.
152. Elias-Orozco R, Castellanos-Nava A, Gaytán-Martínez M, Figueroa-Cárdenas JD, Loarca-Piña G. Comparison of nixtamalization and extrusion processes for a reduction in aflatoxin content. *Food Addit Contam [Internet]*. 2002;19(9):878–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/02652030210145054>
153. Anguiano-Ruvalcaba GL, Verver-y-Vargas-Cortina A, Guzmán-De Peña D. Inactivación de aflatoxina B1 y aflatoxicol por nixtamalización tradicional del maíz y su regeneración por acidificación de la masa. *Salud Publica Mex.* 2005;47(5):369–75.
154. Zuki-Orozco B-A. Determinación de aflatoxinas y compuestos tóxicos en alimentos consumidos por población infantil en San Luis Potosí. 2018.
155. Ellis WO, Smith JP, Simpson BK, Oldham JH. Aflatoxins in food: occurrence, biosynthesis, effects on organisms, detection, and methods of control. *Crit Rev Food Sci Nutr [Internet]*. 1991;30(4):403–39. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408399109527551>
156. Samarajeewa U, Sen AC, Cohen MD, Wei CI. Detoxification of Aflatoxins in Foods and Feeds by Physical and Chemical Methods 1. *J Food Prot.* 1990;53(6):489–501.
157. Zakhia-Rozis N, Catala AI, Soriano JM. Trazabilidad y descontaminación/detoxificación de las micotoxinas. In: Santos D de, editor. *Micotoxinas en alimentos [Internet]*. Madrid; 2007. p. 119–32. Available from: <https://books.google.com.mx/books?id=wuZvCQAAQBAJ&pg=PA119&lpg=PA1>

19&dq=Trazabilidad+y+descontaminacion+detoxificacion+de+las+micotoxinas.
+Micotoxinas+en+alimentos.+Soriano+del+Castillo+José+Miguel&source=bl&ot
s=HCGon027f8&sig=zgqxrvtYxCAXd3ba2pf6ITueGsM&

158. Guzmán-De-Peña D. The Destruction of Aflatoxins in Corn by “Nixtamalización.” In: Mycotoxins in Food, Feed and Bioweapons [Internet]. 2010. p. 39–49. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-00725-5>
159. Price RL, Jorgensen K V. Effects of Processing on Aflatoxin Levels and on Mutagenic Potential of Tortillas made from Naturally Contaminated Corn. *J Food Sci.* 1985;50:347–9.
160. Fernández A. DG, Mancipe G. LC, Fernández A. DC. Intoxicación Por Organofosforados. *Revista.* 2010;18(1):84–92.
161. ATSDR. Resumen de Salud Pública: Clorpirifos (Chlorpyrifos) | PHS | ATSDR [Internet]. 2017 [cited 2017 Nov 27]. Available from: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs84.html
162. Aelion CM, Davis HT, Lawson AB, Cai B, McDermott S. Associations between soil lead concentrations and populations by race/ethnicity and income-to-poverty in urban and rural areas. *Env Geochem Heal.* 2013;35(1):1–12.
163. Flores-Ramírez R, Pérez-Vázquez FJ, Cilia-López VG, Zuki-Orozco BA, Carrizales L, Batres-Esquivel LE, et al. Assessment of exposure to mixture pollutants in Mexican indigenous children. *Env Sci Pollut Res.* 2016;23:8577–88.
164. Palacios-Ramírez A, Flores-Ramírez R, Pérez-Vázquez FJ, Rodríguez-Aguilar

M, Schilman A, Riojas-Rodríguez H, et al. Evaluación de la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos y partículas en suspensión (PM_{2.5}) por quema de biomasa en una zona indígena del Estado de San Luis Potosí , México Assessment of Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). Rev Salud Ambient. 2018;18(1):29–36.

165. Flores-Ramírez R. Diseño y aplicación de una metodología de evaluación de riesgos por exposición a sustancias tóxicas persistentes en zonas vulnerables de México. 2014.

10. GLOSARIO

ENT	Enfermedades No Transmisibles
OMS	Organización Mundial de la Salud
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos)
AFB ₁	Aflatoxina B ₁
AFB ₂	Aflatoxina B ₂
AFG ₁	Aflatoxina G ₁
AFG ₂	Aflatoxina G ₂
AFM ₁	Aflatoxina M ₁
AFM ₂	Aflatoxina M ₂
AFL	Aflatoxicol
IARC	International Agency for Research on Cancer (Agencia Internacional para la Investigación en Cáncer)
AFs	Aflatoxinas
EDTA	Etilen Diamino Tetra Acético
PBS	Phosphate Buffered Saline (Buffer Salino de Fosfatos)
MeOH	Metanol
s	segundo
mg	miligramo
µg	microgramo
mL	mililitro
BCP	Bromocresol Purple (Púrpura de Bromocresol)
h	hora
rpm	revoluciones por minuto
SPE	Solid Phase Extraction (Extracción en Fase Sólida)
MCPBA	Meta-cloro Perbenzoic Acid (Ácido meta-cloro Perbenzoico)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografía Líquida de Alta Efecacia)
UPLC-MS	Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (Cromatografía Líquida de Ultra Alta Resolución acoplado a Espectrometría de Masas)
LOD	Límite de Detección
LOC	Límite de Cuantificación
m/z	masa/carga

11. ANEXOS

11.1. ANEXO 1: Carta de Consentimiento Informado

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

San Luis Potosí S.L.P., a _____ de _____ del 20____.

Por medio de la presente acepto participar de manera voluntaria en los estudios de investigación que llevan por nombre "Huellas químicas de daño pulmonar en poblaciones vulnerables expuestas a hidrocarburos aromáticos policíclicos. Nuevo enfoque para el diagnóstico temprano de enfermedades en ambientes contaminados. Aplicación de la metabolómica en toxicología comunitaria", registrado ante el comité de ética en investigación del hospital central con número 23-16 y de la Facultad de Medicina con número 2015-02.

Se me ha informado que el objetivo de este estudio es buscar sustancias en aire soplado para identificar posibles enfermedades pulmonares y en muestras de orina y sangre identificar sustancias asociadas a daño renal.

Para la realización del estudio es necesario:

1. Contestar un cuestionario
2. Autorizar que me realicen una revisión médica.
3. Realizar un enjuague bucal con 50mL de agua destilada.
4. Soplar 2 veces en una bolsa, 1 litro cada vez.
5. Recolección de sangre en un tubo morado y un tubo rojo.
6. Proporcionar una muestra de orina (excepto niños).

Los riesgos de salud son mínimos, al soplar puedo llegar a presentar síntomas transitorios como mareos, dolor de cabeza, falta de aire y náuseas, al momento de la toma de sangre puede causar una pequeña molestia debido al piquete o un pequeño moretón, esto no implica que no pueda trabajar ni daño a su salud.

Reconozco que los Dres. Rogelio Flores Ramírez y Dra. Leticia Carrizales Yáñez se han comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar mis dudas sobre los procedimientos que se llevarán a cabo o sobre cualquier asunto relacionado con la investigación, a entregarme los resultados por escrito y explicarme los valores; asimismo se han comprometido a guardar confidencialidad y privacidad de los datos obtenidos así como a proporcionarme la información que se obtenga durante el mismo.

Se me ha informado que las muestras de aire, sangre y orina será manejada y procesada por personal capacitado del Laboratorio de Química Analítica Ambiental del Centro de Investigación Aplicada en Ambiente y Salud (CIAAS) de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología (CIAyT) de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. En todo momento se empleará material nuevo y esterilizado.

Entiendo que tengo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que estoy recibiendo.

Los resultados obtenidos se darán a conocer en eventos académicos y científicos a nivel nacional e internacional, además de publicar los mismos en revistas científicas, comprometiéndose los investigadores a NO dar a conocer mi nombre.

Entiendo que no recibiré ninguna remuneración económica al acceder a participar en este estudio. El proyecto presenta financiamiento por lo que los gastos de análisis y evaluaciones médicas serán cubiertos por el fondo sin que implique ningún gasto económico al sujeto participante.

Yo _____
acepto participar en el estudio.

Con dirección y teléfono: _____

Firma: _____

Nombre y firma
Testigo 1

Nombre y firma
Testigo 2

Dr. Rogelio Flores Ramírez

Dra. Leticia Carrizales Yáñez

Teléfono celular Dr. Rogelio Flores Ramírez 044 44 44 13-15-65

11.2. ANEXO 2: Encuesta Proceso de Nixtamalización

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ ENCUESTA: PROCESO DE NIXTAMALIZACIÓN

Encuesta No: _____
/_____/2017

Fecha: _____

Nombre de la mamá: _____ Edad: _____

Nombre de los hijos: _____
Edades: _____

1.- ¿El maíz que consume, usted lo cultiva? Sí _____ No _____
¿Dónde compra su maíz?
a)Tienda de la comunidad b)Tanlajas c)Diconsa d) con un vecino e)Otro _____
¿Cuál es el precio promedio del maíz?: _____

2.- ¿Todo su maíz lo utiliza para elaborar tortillas? Sí _____ No _____ ¿Qué más elabora?
a) Tamales b)Bocoles c)Zacahuil d)Enchiladas e)Atole f)Otros _____

3.- Explique cómo prepara la masa para hacer las tortillas

Cantidad de maíz (tazas) _____

Cantidad de agua (tazas) _____

¿Utiliza ceniza o cal? _____ ¿Qué cantidad? (cdas) _____

¿Utiliza fogón o estufa con chimenea para preparar su nixtamal? _____

Tiempo en el fuego: a)20 min b)30 min c)40 min d)50 min e)más _____

¿Lo deja hervir? si _____ no _____

¿Qué tipo de agua utiliza para preparar su nixtamal?

a) Agua de pozo b) Agua de botellón c) Agua de la llave d) Agua de su tinaco e) Re-usa el agua de nixtamal

¿Cuánto tiempo lo deja reposar?: a) 1-4horas b)5-10horas c)11-15horas d)más _____

¿Cuántas veces enjuaga? a)1 b)2 c)3 d)4 e)más _____

¿Le da otro uso al agua del nixtamal? a)Alimento para animales b)Preparación de atole c)Otro _____

4.- ¿Para preparar el maíz de sus tortillas pone a hervir el maíz, agua y la cal juntos?

Sí _____ No _____

5.- ¿Hierva primero el agua con cal, lo retira del fuego y agrega el maíz para dejarlo reposar?

Sí _____ No _____

6.- ¿Cuenta con molino para preparar la masa de sus tortillas?

Sí _____ No _____

7.- ¿Para cuántas tortillas le da?

a)1-10 b) 11-20 c)21-30 d)31-40 e)más de 40

8.- ¿Cuántas tortillas come usted al día?

a) Ninguna b)1-5 c)6-10 c) 11-15 d)más de 15

9.- ¿Cuántas tortillas comen sus hijos al día?

a) Ninguna b)1-5 c)6-10 c) 11-15 d)más de 15

11.3. ANEXO 3: Frecuencia de Consumo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FRECUCENCIA DE CONSUMO

Encuesta No: _____

Fecha: _____/_____/201__

Nombre del niño: _____

Edad: _____

Nombre de la mamá: _____

Edad: _____

Marque con una X las veces que consume el alimento.

ALIMENTO	FRECUCENCIA DE CONSUMO									PROCEDENCIA		
	Día de la semana					Veces al día				Propio	Comprado	
	Nunca	1	2-4	5-6	7	1	2-3	4-5	6			
PRODUCTOS LÁCTEOS												
Leche												
Queso												
Otros												
CARNES, HUEVOS Y EMBUTIDOS												
Carne de puerco												
Carne de res												
Pollo												
Huevo												
Otros												
LEGUMINOSAS												
Frijol Negro												
Frijol Zarabando												
Lenteja												
Otros												
CEREALES												
Arroz												
Pan												
Harina												
Otros												
MAÍZ												
Tortilla												
Tamales												
Gorditas												
Zacahuil												
Bocoles												
Atole												
Otros												
OLEAGINOSAS												
Nuez												
Cacahuates												
Semillas												

Otros												
-------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--