



SEP

SES

TecNM

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**“ESTUDIO DEL EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL EN LA
COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA EN UNA ZONA URBANA Y
RURAL”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL**

PRESENTA:

Vo. Bo.

DIANA CRISTINA GALINDO CERINO

No. DE CONTROL: 1928M0258

Celso Hernández Tenorio

20/02/2021

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. GENOVEVA GARCÍA ROSALES

CO-DIRECTORA DE TESIS

DRA. MARÍA DOLORES TENORIO CASTILLEROS

Vo. Bo.

F. Javier Illescas Mtz

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, FEBRERO DE 2021



Instituto Tecnológico de Toluca

Metepec, Edo. De
México., 23/febrero/2021
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN
DEPI-3200-090/2021

C. DIANA CRISTINA GALINDO CERINO
CANDIDATA AL GRADO DE MAESTRA
EN CIENCIAS EN INGENIERÍA AMBIENTAL

P R E S E N T E

De acuerdo con el Reglamento de Titulación del Sistema Nacional de Educación Superior Tecnológica dependiente de la Subsecretaría de Educación Superior de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su trabajo de Tesis titulado **“ESTUDIO DEL EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL EN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA EN UNA ZONA URBANA Y RURAL”**, la División de Estudios de Posgrado e Investigación concede autorización para que proceda a la impresión del mismo

Sin más por el momento, quedo de usted.

A T E N T A M E N T E
“Ecelencia em Educación tecnológica”

“Educación, integridad y ciencia”

JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN



JLGR/IMAB



Av. Tecnológico s/n, Col. Agrícola Bellavista C.P. 52149. Metepec, Edo. de México. Tels. Dirección 722 208 7205, Sub. Académica 722 208 7207; Sub. de Planeación 722 208 7206; Sub. Administrativa 722 208 7208; Conmutador 722 208 72 00.
e-mail: info@toluca.tecnm.mx





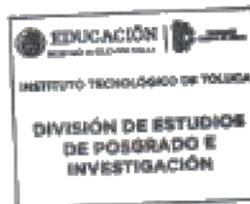
Metepec, Edo. de México, **23/febrero/2021**
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN
DEPI-3200-088/2021

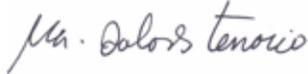
DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
P R E S E N T E

Por este medio comunicamos a usted que la comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada **"ESTUDIO DEL EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN AMBIENTAL EN LA COMPOSICIÓN DE LA LECHE MATERNA EN UNA ZONA URBANA Y RURAL"**, que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Maestro en Ciencias en Ingeniería Ambiental presenta el C. **DIANA CRISTINA GALINDO CERINO** con número de control **1928M0258** para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE


DRA. GENOVEVA GARCÍA ROSALES
DIRECTORA DE TESIS




DRA. MARÍA DOLORES TENORIO CASTILLEROS
CODIRECTORA DE TESIS


DR. FRANCISCO JAVIER ILLESCAS MARTÍNEZ
REVISOR DE TESIS


DR. CELSO HERNÁNDEZ TENORIO
REVISOR DE TESIS



Av. Tecnológico s/n, Col. Agrícola Bellavista C.P. 52149.
Metepec, Edo. de México. Tels. Dirección 722 208 7205,
Sub. Académica 722 208 7207; Sub. de Planeación 722 208 7206;
Sub. Administrativa 722 208 7208; Conmutador 722 208 72 00.
e-mail: info@toluca.tecnm.mx



DEDICATORIAS

“A mi amada abuela por ayudarme a elegir mi camino, a mis amados padres porque me han permitido trazarlo y recorrerlo con mi propio esfuerzo, a mi familia y amigos por su amor incondicional, les dedico este trabajo”

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para los estudios de posgrado en el Instituto Tecnológico de Toluca.

Al programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería Ambiental del Instituto Tecnológico de Toluca, por permitirme realizar mis estudios de posgrado.

Al apoyo otorgado por el programa “1000 jóvenes en la ciencia” del Tecnológico Nacional de México para realizar los estudios de Maestría.

A la Lic. Araceli de la Cruz y a los docentes del Instituto Tecnológico de Villahermosa, mi primer casa de estudios superiores.

Con toda mi admiración y de manera muy especial agradezco a la Dra. Genoveva García Rosales, por todo el apoyo y consejos para la realización de este trabajo, así como los ánimos y la confianza hacia mi persona.

A la Dra. María Dolores Tenorio Castelleros, al Dr. Francisco Javier Illescas Martínez y al Dr. Celso Hernández Tenorio, por sus valiosas aportaciones para la realización de este trabajo.

Al Ing. Enrique Aguirre Miranda por su apoyo en el análisis de las muestras por Microscopia electrónica de Barrido con el equipo del Instituto tecnológico de Toluca.

A mis amigos que durante mis estudios me apoyaron en todo momento y jamás dejaron de creer en mí, en especial a la I.A. Zayira Hernández Jesús, por motivarme a entrar al posgrado y al MCI Edgar Odilón Pérez Gómez por compartir sus conocimientos, apoyarme y animarme día a día, un excelente maestro y gran amigo.

RESUMEN

En este trabajo se presenta un estudio de monitoreo ambiental empleando muestras de leche materna proveniente de los Municipios de Villa Guerrero y la Zona metropolitana del Valle de Toluca. Las muestras fueron recolectadas de madres primerizas con bebés de aproximadamente 50 días de nacidos que fueron preservadas a -20 °C hasta su análisis. Después de descongelarse, se secó una cantidad en un horno a 30° C para eliminar la mayor cantidad de agua sin perder otros elementos y cada muestra fue analizada por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) para conocer su morfología y realizar el análisis semicuantitativo puntual por Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS). Los resultados obtenidos indican que en la mayoría de las muestras se observan las mismas estructuras, así como placas rectangulares que indican la cristalización de la grasa en las muestras. Como elementos mayoritarios se identificaron: C, O, N, Cl, K, Na, P, Ca, Mg y S, considerados macrominerales presentes de forma natural en la leche materna y que son considerados componentes principales de la misma; con los datos obtenidos se realizó el análisis estadístico para cada grupo. Los análisis por Espectrofotometría de Infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) permitieron identificar a los principales grupos funcionales de los carbohidratos y proteínas. Cabe señalar que en ninguna muestra se identificó la presencia de contaminantes inorgánicos como metales pesados, esto pudo deberse a la baja sensibilidad de la técnica de análisis empleada.

ABSTRACT

This paper presents an environmental monitoring study using samples of breast milk from the municipalities of Villa Guerrero and the Metropolitan area of the Toluca Valley. The samples were collected from first-time mothers with babies approximately of 50 days and were preserved at -20 °C until analysis. After thawing, a quantity was dried in an oven at 30 °C to eliminate the greatest quantity of water without losing other elements and each sample was analyzed by Scanning Electron Microscopy (SEM) to know its morphology and perform the punctual semi-quantitative analysis by Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS). The results obtained indicate that the same structures are observed in most of the samples, as well as rectangular plates that indicate the crystallization of fat in the samples. The main elements were: C, O, N, Cl, K, Na, P, Ca, Mg and S, considered as macrominerals naturally present in breast milk and which are considered its main components; With the data obtained, the statistical analysis was performed for each group. The Fourier Transform Infrared Spectrophotometry (FTIR) analysis made it possible to identify the main functional groups of carbohydrates and proteins. It should be noted that in any sample were identified the presence of inorganic contaminants such as heavy metals, this could be due to the low sensitivity of the analysis technique used.

CONTENIDO

1	FUNDAMENTOS	3
1.1	Contaminación	8
1.1.1	Contaminantes en la leche materna	9
1.1.2	Cuadro clínico	11
1.1.3	Biomonitoreo	13
1.2	Caracterización morfológica.....	14
1.2.1	Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS).	14
1.2.2	Análisis estadísticos.....	15
1.3	Caracterización fisicoquímica	15
1.3.1	Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).	15
1.4	Zonas de estudio	16
1.4.1	Municipio de Villa Guerrero.....	16
1.4.2	Zona Metropolitana del Valle de Toluca.....	18
2	METODOLOGÍA	19
2.1	Recolección de las muestras	20
2.2	Preparación de las muestras	21
2.2.1	Porcentaje de humedad.....	21
2.3	Análisis de caracterización de las muestras	22
2.3.1	Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS)	22
2.3.1	Espectrofotometría Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)	22
2.4	Análisis estadístico	23
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	24
3.1	Recolección de las muestras	24
3.2	Preparación de las muestras	26
3.2.1	Porcentaje de humedad.....	34

3.3	Análisis de caracterización de las muestras	35
3.3.1	Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS).	35
3.3.2	Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	53
3.3.3	Espectroscopía de Infrarojo con Transformada de Fourier (FTIR).....	66
3.3.4	Frecuencia de hábitos de consumo	67
4	CONCLUSIONES	88
5	ANEXOS.....	90
6	BIBLIOGRAFÍA.....	100

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1.1	Metales reportados en leche humana, daño en la salud.....	12
Tabla 1.2	Vías de entrada de metales en algunos organismos.....	13
Figura 1.1	Mapa del Municipio de Villa Guerrero.....	17
Figura 1.2	Mapa de la Zona metropolitana del Valle de Toluca.....	18
Figura 2.1	Diagrama de la parte experimental.....	19
Figura 2.2	(a, b, c y d) Extracción manual de la muestra de leche	20
Figura 2.3	Recolección de la muestra en el frasco de vidrio.....	21
Figura 3.1	Mapa de la ubicación de las donantes en Villa Guerrero.....	25
Figura 3.2	Mapa de la ubicación de las donantes de la ZMVT.....	26
Figura 3.3	Muestras del Grupo 1 del MVG.....	27
Figura 3.4	Muestras del Grupo 2 del MVG.....	28
Figura 3.5	Muestras del Grupo 3 del MVG	29
Figura 3.6	Muestras del Grupo 4 del MVG.....	30
Figura 3.7	Muestras del Grupo 1 de la ZMVT.....	31
Figura 3.8	Muestras del Grupo 2 de la ZMVT.....	32
Figura 3.9	Muestras del Grupo 3 de la ZMVT.....	33
Figura 3.10	Muestras del Grupo 4 de la ZMVT.....	33
Figura 3.11	Porcentaje de pérdida de agua MVG.....	34

Figura 3.12 Porcentaje de pérdida de agua ZMVT.....	35
Figura 3.13 Dendograma MVG.....	37
Figura 3.14 Gráfico de dispersión MVG.....	38
Figura 3.15 Dispersión C MVG.....	39
Figura 3.16 Dispersión N MVG.....	39
Figura 3.17 Dispersión O MVG.....	40
Figura 3.18 Dispersión Na MVG.....	40
Figura 3.19 Dispersión S MVG.....	41
Figura 3.20 Dispersión P MVG.....	41
Figura 3.21 Dispersión Cl MVG.....	42
Figura 3.22 Dispersión K MVG.....	43
Figura 3.23 Dispersión Ca MVG.....	43
Figura 3.24 Dispersión Mg MVG.....	44
Figura 3.25 Dendograma ZMVT.....	46
Figura 3.26 Gráfico de dispersión ZMVT.....	47
Figura 3.27 Dispersión C ZMVT.....	48
Figura 3.28 Dispersión N ZMVT.....	48
Figura 3.29 Dispersión O ZMVT.....	49
Figura 3.30 Dispersión Na ZMVT.....	49
Figura 3.31 Dispersión S ZMVT.....	50
Figura 3.32 Dispersión P ZMVT.....	50
Figura 3.33 Dispersión Cl ZMVT.....	51
Figura 3.34 Dispersión K ZMVT.....	51
Figura 3.35 Dispersión Ca ZMVT.....	52
Figura 3.36 Micrografías del Grupo 1 del MVG a 500X.....	54
Figura 3.37 Micrografías del Grupo 2 del MVG a 500X.....	56
Figura 3.38 Micrografías del Grupo 1 de la ZMVT a 500X.....	57
Figura 3.39 Micrografías del Grupo 2 de la ZMVT a 500X.....	59
Figura 3.40 Micrografías del Grupo 1 del MVG a 5000X.....	61
Figura 3.41 Micrografías del Grupo 2 del MVG a 5000X.....	63
Figura 3.42 Micrografías del Grupo 2 de la ZMVT a 500X.....	64

Figura 3.43 Micrografías del Grupo 2 de la ZMVT a 5000X.....	65
Figura 3.44 FTIR Comparación de la intensidad.....	67
Figura 3.45 Histograma MVG (pescado).....	68
Figura 3.46 Histograma MVG (lácteos).....	69
Figura 3.47 Histograma MVG (carne).....	70
Figura 3.48 Histograma MVG (huevo).....	71
Figura 3.49 Histograma MVG (agua).....	72
Figura 3.50 Histograma MVG (actividad económica de las donantes).....	73
Figura 3.51 Histograma MVG (actividad económica de los conyuges).....	74
Figura 3.52 Histograma MVG (vivienda).....	75
Figura 3.53 Histograma MVG (consumo de cigarro).....	76
Figura 3.54 Histograma MVG (fumigación).....	77
Figura 3.55 Histograma ZMVT (pescado).....	78
Figura 3.56 Histograma ZMVT (lácteos).....	89
Figura 3.57 Histograma ZMVT (carne).....	80
Figura 3.58 Histograma ZMVT (huevo).....	81
Figura 3.59 Histograma ZMVT (agua).....	82
Figura 3.60 Histograma ZMVT (actividad económica de las donantes).....	83
Figura 3.61 Histograma ZMVT (actividad económica de los conyuges).....	84
Figura 3.62 Histograma ZMVT (vivienda).....	85
Figura 3.63 Histograma ZMVT (cigarro).....	86
Figura 3.64 Histograma ZMVT (Fumigación).....	87

ANEXOS

Tabla 1 Porcentaje atómico MVG.....	90
Tabla 2 Porcentaje atómico ZMVT.....	91
Figura 1 Grupo 1 a) y Grupo 2 b) MVG Grasa (g/mL).....	92
Figura 2 Grupo 1 a) y Grupo 2 b) ZMVT Grasa (g/mL).....	93

Figura 3 FTIR LV a) 1-10 y b) 11-20 del MVG.....	94
Figura 4 FTIR LV a) 21-30 y b) 31-40 del MVG.....	95
Figura 5 FTIR LV a) 41-50 y b) 51-55 del MVG.....	96
Figura 6 FTIR LT a) 1-10 y b) 11-20 de la ZMVT.....	97
Figura 7 FTIR LT a) 21-30 y b) 31-40 de la ZMVT.....	98
Figura 8 FTIR LT a) 41-50 y b) 51-55 de la ZMVT.....	99

INTRODUCCIÓN

A lo largo de los años el ser humano con el afán de mejorar su estilo de vida, los tiempos de producción y calidad de sus cosechas, ha introducido infinidad de sustancias químicas en los ecosistemas, muchas veces sin la adecuada atención al riesgo ambiental que estas podrían causar; estas sustancias tienen contaminantes que persisten por cientos de años, estos pueden entrar a las cadenas tróficas por medio de la ingesta y pasar por un proceso de biomagnificación que aunado a que los elementos presentan características de bioacumulación se pueden detectar por medio de biomarcadores en los seres vivos, incluso años después de la exposición [1,2].

Existen una variedad de marcadores biológicos que se han utilizado para conocer la presencia y concentración de contaminantes en los seres vivos, los más comunes son la sangre, orina y cabello [3,4,5]; algunos no tan comunes son la saliva y la leche materna. Esta última considerada la mejor opción para los lactantes, por ser el alimento principal que aporta todos los nutrientes y elementos esenciales para el crecimiento, desarrollo, así como para protegerlos de enfermedades mientras madura su propio sistema inmune. Sin embargo, puede verse afectada por algunos minerales que a niveles traza son esenciales, pero al incrementar su concentración son perjudiciales, causando enfermedades en los bebés [6,7].

En la actualidad las enfermedades derivadas de la contaminación han aumentado a la par de la industrialización, siendo los más vulnerables de los diferentes grupos de población, los adultos mayores, las mujeres embarazadas y los infantes [8,9,10]; para combatir las nuevas enfermedades o evitarlas es importante descubrir el alcance del impacto de los contaminantes en la vida diaria y en la salud.

Este trabajo, tienen como objetivo primordial el monitoreo ambiental de una zona urbana (ZMVT) y rural (MVG), usando como marcador biológico de la contaminación

de ambas zonas de estudio a la leche materna. La primera zona de estudio tiene a la floricultura como principal actividad económica y se sabe del uso potencial de sustancias químicas, mientras que, en la segunda, la actividad económica principal es la industria, en donde tanto el corredor industrial como el tráfico vehicular contribuyen a incrementar los índices de contaminación en la región [11,12].

Este trabajo se divide en diferentes partes: en el primer apartado son presentados los conceptos más importantes relacionados con el tema, mientras que en el segundo se describe la metodología que se siguió para la recolección y preparación de las muestras de leche para su análisis a través de las diferentes técnicas. En el tercer apartado se presentan los resultados obtenidos en este estudio, así como el análisis estadístico con el programa IBM SPSS Statistics utilizando análisis de conglomerados jerárquicos e histogramas. Finalmente son presentadas las conclusiones y recomendaciones de esta investigación, así como las fuentes de consulta.

1 FUNDAMENTOS

En la actualidad la contaminación antropogénica en el Estado de México va en aumento, ocurriendo con más frecuencia la activación de contingencias ambientales [13,14], lo que ha llevado a crear programas de monitoreo para prevenir y responder a estas, un ejemplo es el de “Hoy no circula” en las zonas metropolitanas como la del valle de México y Toluca, el programa está enfocado a reducir los niveles de partículas atmosféricas emitidas por el tráfico vehicular, estas generan daño en diferentes ecosistemas así como en los seres vivos; las zonas además se ven afectadas por la creciente contaminación de los parques industriales, para conocer las probabilidades de los efectos adversos para la salud de la población humana a causa de la exposición se realizan análisis de evaluación de riesgos ambientales [15], el riesgo se expresa conceptualmente como el producto de dos factores tales como la probabilidad de exposición y la severidad de las consecuencias [16].

En la ZMVT que está compuesta por 16 municipios del Estado de México y es conocida por tener a la industria como actividad económica principal, se ha registrado del periodo 2011 al 2017 que las partículas suspendidas PM_{10} tienden a estar por encima de los límites máximos permisibles establecidos en la NOM-025-SSA1-2014, esto ha sido analizado de acuerdo a los registros de las estaciones de Oxtotitlán, Toluca Centro, Metepec, Ceboruco, San Mateo Atenco, San Cristóbal Huichochitlán y Aeropuerto [17], Los componentes principales de las PM_{10} son sulfatos, nitratos, el amoníaco, sodio, cloruro, carbono negro, polvo mineral y agua, su origen puede ser antropogénico por la quema de combustibles fósiles y además puede ser natural proviniendo de erupciones volcánicas, tormentas de polvo, incendios forestales o del rocío marino [18]. El tamaño de las partículas varía desde 0.005 hasta 100 μm de diámetro aerodinámico y la exposición a estos elementos puede causar reducción en las funciones pulmonares, interfiere con uno o más mecanismos del aparato respiratorio, actúa como vehículo de sustancias tóxicas absorbidas o adheridas a su superficie, alteran los sistemas de defensa del organismo contra materiales extraños, daños al tejido pulmonar, carcinogénesis y mortalidad prematura, estos efectos son

relevantes en los niños, quienes están más expuestos que los adultos y tienen condiciones biológicas que los hacen más susceptibles [19,20], por lo cual desde 1993 el Gobierno del Estado de México comenzó a operar una red automática de monitoreo atmosférico (RAMA) en esta zona, con el propósito de medir de manera permanente los principales contaminantes atmosféricos y parámetros meteorológicos en las áreas con mayor densidad poblacional para conocer la calidad del aire en las mismas, también se han llevado a cabo otros monitoreos en los últimos 10 años con el mismo propósito [21,22]. No obstante, la contaminación no se limita a la atmósfera también se encuentra en el suelo y agua, esto causado por las diferencias en las actividades económicas de los municipios del estado de México, mientras que algunos están altamente industrializados, en otros se realizan actividades primarias como la ganadería y agricultura [23].

Aledaño a la ZMVT y en contraste a ser en gran parte una zona rural, se encuentra el corredor florícola compuesto por 31 municipios del Estado de México, su actividad económica principal es la floricultura y los principales municipios productores son Villa Guerrero, Tenancingo y Coatepec de Harinas [24]. El cultivo principal del MVG es el de la gerbera, donde se utilizan grandes cantidades de agroquímicos, entre ellos los plaguicidas que causan efectos adversos a la salud humana y al ecosistema [25]. El suelo del municipio se ha formado por la sedimentación que proviene de la erosión pluvial y de la erosión eólica, se presenta tierra arcillo-arenosa que permite el surgimiento y desarrollo de los vegetales, arcilla negra que permite el desarrollo de actividades agrícolas y una composición de tierra fina que requiere de humectación extra para el desarrollo de estas actividades [26]. Utilizando el método SINTACS (el cual es un modelo paramétrico diseñado específicamente para evaluar la vulnerabilidad de los acuíferos) y bioensayos, se concluye que el suelo y el agua subterránea de este municipio se encuentran en riesgo de contaminación por la aplicación frecuente de sustancias fertilizantes y plaguicidas [27,28]; los más usados en México son los que contienen benzimidazol, triazol, clorados, piretroides, organofosforados, fenilamina, ditiocarbamatos, imidazol, carbámicos y dicarboximida,

surgen algunos nombres comerciales como el Tamaron, Temik y Curacron nivel II [29]. Las aplicaciones de los fertilizantes a base de fósforo mejoran la fertilidad del suelo y el rendimiento agrícola, pero, se pueden introducir metales pesados en las tierras agrícolas junto con ellos [30], normalmente estas sustancias contienen minerales orgánicos clasificados como macronutrientes los cuales son el N, P, K, Ca, Mg y S, así como micronutrientes u oligoelementos donde se clasifican el B, Cl, Cu, Fe, Mn, Mo, Zn y Ni [31].

Los elementos en las sustancias contaminantes, sobre todo los minerales orgánicos, se encuentran de manera natural en el ambiente, en concentraciones que normalmente no perjudican a los seres vivos [32]. Sin embargo, dentro de estos se pueden encontrar a los metales pesados los cuales no pueden ser degradados o destruidos, algunos forman complejos solubles que son transportados y distribuidos a los ecosistemas hasta incorporarse en la cadena trófica [33]. Aunque no hay una definición clara de qué es un metal pesado, en la mayoría de los casos se considera que la densidad es el factor definitivo. Por lo tanto, los metales pesados se definen comúnmente como aquellos que tienen una densidad específica de más de 5 g/cm^3 [34]. Las altas concentraciones de metales pesados en el suelo tienen efectos perjudiciales sobre los ecosistemas y son un riesgo para la salud humana, algunos ejemplos de concentraciones promedio que se pueden encontrar son de Zn 80 ppm, Cd 0.1–0.5 ppm y Pb 15 ppm, pero en suelos contaminados se han encontrado concentraciones más altas de estos $\text{Zn} > 20,000 \text{ ppm}$, $\text{Cd} > 14,000 \text{ ppm}$ y $\text{Pb} > 7,000 \text{ ppm}$ y pueden ingresar a la cadena alimentaria a través de productos agrícolas o agua potable contaminada, en suelos no contaminados [35,36,37]. Esto se debe a la estabilidad química que presentan, la tendencia bioacumulativa, la gran producción y el consumo excesivo. Se consideran contaminantes persistentes que se encuentran en todos los componentes ambientales, incluidos los alimentos; también se detectan en tejidos humanos, sangre, uñas y cabello [38,39]. El factor de bioacumulación de los metales ayuda a proponer métodos como el biomonitoreo, en el cual se utilizan marcadores biológicos comúnmente llamados biomarcadores, estos funcionan principalmente como una herramienta para la vigilancia de la salud pública [40].

Los musgos han sido utilizados en algunos estudios como biomarcadores para medir la contaminación atmosférica en la ZMVT, en el 2012 se identificaron y cuantificaron mediante Análisis por Activación Neutrónica (AAN) varios elementos como As, Cr, Hg, Se, Co, Cs, Sc, Sb, Rb, Ce, La, Eu, Yb y Lu, encontrándose que las zonas con los índices de contaminación más significativos corresponden a Tollocan, Alameda, San Miguel, Reforma y Santín, esto se atribuye a la cercanía con las zonas industriales y a la degradación de la calidad del aire. Paralelamente se analizaron muestras de suelo de las mismas zonas y determinaron las concentraciones de As, Cr, Hg y Se, observando que las concentraciones de las muestras del suelo son semejantes pero superiores a las muestras de musgo [41,42]. Otro estudio realizado con musgos en 2018 contempló dos temporadas, clasificadas como lluviosa y seca-fría, encontrando una concentración ligeramente más alta de contaminantes en la segunda estación, con un promedio de concentraciones de Fe 7617 mg/Kg, Mn 296 mg/Kg, Zn 158 mg/Kg, Pb 40 mg/Kg, Cu 27 mg/Kg, Cr 21 mg/Kg, Co 2,87 mg/Kg, Sc 2.85 mg/Kg, Se 1.7 mg/Kg, As 1.6 mg/Kg, Sb 1.23 mg/Kg, Cs 1 mg/Kg, Hg 0.27 mg/Kg [43].

Proponer biomarcadores no es una tarea fácil ya que se deben considerar características como la obtención de la muestra, la preservación durante el tiempo de análisis y evitar la contaminación durante el almacenamiento, el presente estudio utiliza a la leche materna como biomarcador ambiental, la cual es considerada como el mejor alimento de los mamíferos en sus primeras etapas de vida, proporciona todas las fuentes de energía y los nutrientes que necesitan durante sus primeros meses [44,45,46], su composición se divide en tres fases importantes, la primera es el calostro que dura entre 72 a 96 h después del parto, la segunda es llamada de transición que cubre hasta los primeros 15 días después del nacimiento del bebe y finalmente leche madura que dura hasta el destete, tanto el calostro como la leche madura se componen de agua en un 88% y el resto de otros elementos como los carbohidratos, proteínas, grasas, vitaminas, componentes bioactivos, hormonas, factores de crecimiento, factores inmunológicos, péptidos antimicrobianos, minerales y oligoelementos [47,48,49]; estos tienen una finalidad metabólica para el desarrollo y crecimiento de

los bebés, así como para protegerlos de enfermedades mientras madura su propio sistema inmune, se considera que factores como la dieta materna y los requerimientos nutricionales de los bebés pueden influir en la composición de la leche materna [50]. Una demanda nutricional de un bebé nacido a término y de un bebé prematuro es diferente, por lo que en ciertos casos es recomendable la fortificación de nutrientes para un crecimiento y desarrollo adecuado [51].

En la actualidad se están realizando diferentes estudios alrededor del mundo y en México para conocer más detalles de los componentes de la leche materna y como los factores geográficos y ambientales tienen un impacto en la concentración de los compuestos [52,53]; pocos estudios, han determinado si los lactantes consumen cantidades adecuadas de minerales y oligoelementos para satisfacer sus necesidades de crecimiento [54,55]. En 2014 se utilizó el Análisis por Activación Neutrónica (AAN) para determinar el Rb como elemento traza venenoso en madres lactantes que viven en la ciudad de Mashad, Irán. Se obtuvieron concentraciones promedio de 32.176 ppm de peso seco, este nivel de Rb no se pudo comparar con otros estudios debido a las diferencias en el método de preparación, procesamiento, rendimiento analítico, estado de lactancia, y valores de referencia no disponibles [56].

Unos años después en 2018 se evaluó la presencia de Pb, As y Cr en leche de madres de la ciudad de Hamadan Irán. Con el uso de espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP)-EM), sus resultados indican concentraciones medias de Fe, Zn, Cu, Ca, Mg y Na que fueron de 0.75, 1.38, 0.35, 255, 34.58 y 155.72 µg/mL respectivamente; también encontraron Al, un metal neurotóxico, con una concentración media de 0.191 µg/mL y una deficiencia de Zn en aproximadamente el 50% de las muestras de leche [57].

Paralelamente en el Líbano, se realizó un estudio con el objetivo de evaluar la ocurrencia y los factores asociados con la contaminación por Pb, Cd y As en la leche materna de 74 muestras, mediante digestión asistida por microondas y espectrofotometría de absorción atómica, se encontró contaminación por arsénico en

63.51% de las muestras (media $14.236 \pm 1.95 \mu\text{g/L}$) mientras que cadmio y plomo se detectaron en 40.54% y 67.61% respectivamente (media $0.87 \pm 1.18 \mu\text{g/L}$ y $18.18 \pm 13.31 \mu\text{g/L}$), el análisis de regresión indicó que la contaminación por arsénico estaba asociada con la ingesta de cereales y pescado; la residencia cerca de las actividades de cultivo, el tabaquismo antes del embarazo, el consumo de papa y el nivel educativo se asociaron con la contaminación por plomo; la contaminación con cadmio se asoció significativamente con la exposición aleatoria al humo [58].

También se ha usado como método alternativo para la determinación de concentraciones de elementos en la leche materna la Espectrometría de fluorescencia de rayos X de dispersión de energía (EDXRF), esta técnica de acuerdo con Ekinci et al, en 2005 se ha utilizado con éxito para la determinación de calcio [59]. Posteriormente McCarthy et al, en el 2020 de igual manera aplicaron este método para proponer un análisis rápido de minerales en el sitio, detectando cinco principales minerales de la leche, los cuales son Na, Mg, K, P y Ca, estos se cuantificaron en productos lácteos en polvo [60].

La situación actual de la concentración de contaminantes derivados de las actividades antropogénicas muestra como los niveles de algunos elementos exceden los límites permitidos involucrándose en la contaminación ambiental y provocando graves problemas para los humanos por lo que es necesario realizar más estudios de caracterización y monitoreo que permitan evaluar los niveles contaminación actuales, a la vez que favorezcan para dejar un antecedente con el que se pueda evaluar el cambio con los años.

1.1 Contaminación

La contaminación se define como la presencia en el ambiente de un agente que puede dañar el medio o la salud humana [61]. Los contaminantes como los metales pueden provenir de fuentes naturales, antropogénicas o ambas y se producen en gran parte en la tropósfera [62]. Los metales pesados son aquellos cuya densidad en forma elemental es igual o superior a 5 g/cm³ o que tienen un número atómico mayor a 20 (excluyendo los metales alcalinos y alcalinotérreos). Se han agrupado en oligoelementos o micronutrientes, también denominados elementos trazas, los cuales son necesarios en pequeñas cantidades para el organismo, ya que intervienen en algunas funciones bioquímicas, entre ellos están el As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn; en el grupo de micronutrientes se incluyen elementos cuya función biológica es desconocida y son altamente tóxicos, aunque algunos pueden estar presentes en los seres vivos, a ellos pertenecen el Ba, Cd, Hg, Pb, Sb y Bi [63]. La exposición temprana de estos elementos potencialmente tóxicos puede contribuir a efectos adversos para la salud a largo plazo, como trastornos del desarrollo neurológico y daños a las funciones inmunes y respiratorias [64,65]. La leche materna que es el principal alimento de los mamíferos recién nacidos tiene una baja concentración de elementos potencialmente tóxicos, los microelementos Al, As, Cd y Pb disminuyen rápida y significativamente durante las etapas de la lactancia [66,67]. México presenta serios problemas en materia de salud humana derivados de la mala calidad ambiental, así como de la insuficiencia de servicios y saneamiento, por lo que es de suma importancia evitar la contaminación ambiental y aplicar sistemas de tratamiento adecuados en zonas contaminadas [68].

1.1.1 Contaminantes en la leche materna

Instituciones internacionales como el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y algunas dependencias del gobierno de México como la Procuraduría federal del consumidor consideran a la leche materna como la mejor manera de proporcionar los nutrientes ideales para el adecuado crecimiento y desarrollo de los niños, estos elementos se encuentran en los compuestos principales de la misma, los cuales son proteínas, hidratos de carbono,

vitaminas, hormonas, grasa, minerales, componentes bioactivos, factores inmunológicos, péptidos antimicrobianos y agua en un 88% [69,70,71]; la lactancia tiene una influencia biológica y emocional sobre la salud de la madre y su hijo, además protege a los lactantes de enfermedades gracias a sus propiedades antiinfecciosas y es de más fácil digestión por la menor cantidad de caseína, no contiene betalactoglobulina, que es la proteína que más frecuentemente se asocia con alergia a proteína de leche de vaca [72]. La composición y concentración de la leche varía tanto de una madre a otra, en el transcurso del día e incluso en una misma ingesta, la fracción más estable es la proteica y la de mayor variabilidad es la grasa, se forma en la propia glándula mamaria utilizando los componentes allí presentes y los nutrientes maternos necesarios [73].

Se han llevado a cabo pocos estudios para determinar la presencia de metales pesados no esenciales y otros contaminantes en la leche humana; en el 2015 se investigó la asociación de iones metálicos con una proteína, analizando leche de madres brasileñas, por espectrometría de absorción atómica, encontrando que el Ca y Zn si mantienen una asociación a la Inmunoglobulina IgA, también se encontraron concentraciones de Fe [74]. Posteriormente en 2016 se analizó sangre y leche de madres de Croacia por espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS), obteniendo presencia de Cd, Pb, Hg lo cual se asoció a el consumo materno de tabaco, también se detectaron elementos esenciales como Ca, Fe, Cu, Zn y Se [75]. Otro estudio en Brasil enfocado en mejorar la alimentación de bebés prematuros en el 2020, analizó muestras de leche materna y un concentrado de la misma, por ICP-MS, determinando una media de Al ($211.06 \pm 90.06 \mu\text{g/L}$), As ($0.29 \pm 0.13 \mu\text{g/L}$), Cd ($0.37 \pm 0.19 \mu\text{g/L}$), Cr ($4.39 \pm 1.57 \mu\text{g/L}$), Fe ($673.55 \pm 264.05 \mu\text{g/L}$), Hg ($0.39 \pm 0.25 \mu\text{g/L}$), Mn ($5.07 \pm 1.28 \mu\text{g/L}$), Ni ($6.34 \pm 3.46 \mu\text{g/L}$), Pb ($12.79 \pm 8.19 \mu\text{g/L}$), Se ($7.89 \pm 4.63 \mu\text{g/L}$), Sn ($2.78 \pm 1.48 \mu\text{g/L}$) y TL (<límite de cuantificación) [76]; ese mismo año pero en sudeste de Nigeria se analizó leche materna por espectrofotometría de absorción atómica y cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC); se determinó presencia de Aflatoxinas M1 y se calculó una concentración media de Cd ($0.029 \pm$

0.013 mg/L), Cr (0.019 ± 0.011 mg/L), Cu (0.035 ± 0.013 mg/L), Fe (0.049 ± 0.039 mg/L), Pb (0.38 ± 0.013 mg/L), Zn (0.009 ± 0.008 mg/L) [77].

1.1.2 Cuadro clínico

Existen elementos como los metales presentes en la leche materna que poseen funciones para ayudar en la salud de los niños, por ejemplo, el Zn que participa en el sistema inmune, las hormonas y en la síntesis de ADN, ARN y proteínas, el Cu que mejora la Síntesis de hemoglobina, Fosfolípidos, el tejido conectivo y el metabolismo de la glucosa y el Mn el cual se une a la lactoferrina [78], sin embargo, la deficiencia o exceso de los metales también puede provocar daños en la salud [79].

En la Tabla 1.1 se recopiló información de algunos de estos elementos reportados en la leche como son el Zn el cual se midió hasta 2 mg/L en los primeros 6 meses de lactancia, el Cu que varía entre 0.21 a 0.25 mg/L de 6 a 8 semanas, el Mn encontrando hasta 1 μ g/L y disminuye con la duración de la lactancia, el Cr reportado hasta 0.27 μ g/L, el Ni con valor entre 1.2 μ g/L y el As que se reporta entre 0.2 a 0.6 μ g/L [80].

Tabla 1.1 Metales reportados en leche humana, daño en la salud.

Elemento	Daños por deficiencia	Daños por exceso
Zn	Anemia, respuesta inmune tardía, hipogonadismo, enanismo, hepatoesplenomegalia.	Neurológicos, hematológicos, inmunológicos, renales, hepáticos, cardiovasculares.
Cu	Metabolismo anormal de la glucosa y colesterol, producción alterada de energía, alteración de la circulación sanguínea, alteración en las células del sistema inmune.	Exposición crónica: Irritación en nariz, boca y ojos, dolor de cabeza y estómago, mareos, vómitos y diarrea. Exposición aguda: Daño al hígado y riñón o muerte.
Mn		Sistema nervioso, Manganismo.
Cr	Cr III afecta el corazón y provoca trastornos metabólicos.	Cr III provoca erupciones cutáneas. Cr VI hexavalente provoca reacciones alérgicas, debilidad en el sistema inmune, daño en riñones e hígado, problemas respiratorios, alteración del material genético, malestar de estómago, úlceras, cáncer de pulmón, muerte.
Ni		Afecciones en la piel y mareos. Exposición al gas provoca embolia de pulmón y fallos respiratorios.
As		Arsenicosis, hidroarsenicismo crónico, problemas respiratorios, enfermedades cardiovasculares y gastrointestinales, tiene efectos cancerígenos.

En la Tabla 1.2 se observan las diferentes vías de entrada de estos elementos en los seres vivos, las cuales se asocian a la naturaleza de entrada en los organismos de las madres y quienes posteriormente con la lactancia alimentarán a los bebés [81,82].

Tabla 1.2 Vías de entrada de metales en algunos organismos

Elemento	Vías de entrada
Zn	Ingestión, inhalación de humos y vía dérmica.
Cu	Ingestión de bebidas, alimentos contaminados e inhalación.
Mn	Ingestión de alimentos e inhalación de polvos.
Cr	Vía respiratoria, ingestión de bebidas y alimentos contaminados y por vía dérmica.
Ni	Ingestión de vegetales procedentes de suelos contaminados e inhalación de vapores.
As	Ingestión, inhalación y vía dérmica.

1.1.3 Biomonitordeo

El biomonitordeo humano ayuda a establecer un índice de exposición biológica, identificar las poblaciones en riesgo, comprender las relaciones dosis-efecto y evaluar el riesgo de enfermedades [83]. Los bioindicadores deben distinguirse de los biomonitores, mientras que los bioindicadores revelan la presencia o ausencia de un contaminante por la aparición de síntomas típicos o respuestas medibles, los biomonitores brindan información sobre la presencia del contaminante y brindan información adicional sobre la cantidad e intensidad de la exposición. Dentro del biomonitordeo se usan biomarcadores, los cuales contribuyen de forma significativa al desarrollo de políticas en salud ocupacional, ya que son una herramienta complementaria en los estudios de epidemiología ambiental y a partir de los cuales se desarrollan los programas de vigilancia [84].

La leche materna es un biomarcador que actualmente se estudia en diversas poblaciones, con la intención de conocer su composición para poder mejorar los

sustitutos artificiales o para medir la exposición de los recién nacidos a contaminantes, su obtención es no invasiva ya que las madres son donadoras voluntarias y la extracción manual así lo permite [85,86,87], también se estudia si se modifican sus propiedades cuando se almacena y se ha demostrado que la congelación funciona para evitar el crecimiento de microorganismos [88,89] lo que es de gran ayuda para las clínicas de lactancia.

1.2 Caracterización morfológica

1.2.1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS).

MEB es una técnica utilizada para examinar la superficie de un material y conocer la morfología a escala micro y nanométrica de una muestra, la tecnología emplea un haz de electrones que escanea la superficie de la muestra, esta interacción emite radiación en forma de electrones y rayos X que se procesan para formar una imagen de la superficie o para analizar la composición elemental de la muestra [90].

Dentro de los fenómenos que tienen lugar en la muestra bajo el impacto de los electrones, el más importante es la emisión de electrones secundarios con energías de unas cuantas decenas de eV, seguido de la emisión de electrones retrodispersados con mayores energías, hay detectores adecuados que discriminan los electrones en función de su energía, permitiendo por tanto formar imágenes tanto con electrones secundarios como retrodispersados, lo que ayuda a realizar el análisis EDS en el cual se reciben los rayos X procedentes de cada uno de los puntos de la superficie sobre los que pasa el haz de electrones, como la energía de cada rayo X es característica de cada elemento, se obtiene información analítica cualitativa de áreas del tamaño que deseemos de la superficie [91].

1.2.2 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos son un componente del análisis de datos, requiere recoger e investigar cada muestra de datos individual o en conjunto. Existen diversos métodos y programas para llevar a cabo un eficiente análisis de datos. En el presente trabajo se utiliza el análisis de conglomerados jerárquicos el cual se refiere a una clase de métodos de reducción de datos utilizados para clasificar casos, observaciones o variables de un determinado conjunto de datos en grupos homogéneos que difieren entre sí. El propósito del análisis de conglomerados es descubrir un sistema de organización de observaciones donde miembros del grupo comparten propiedades específicas en común, tiene como objetivo agrupar casos en grupos homogéneos, pero la elección en algoritmos y medidas que dicta el sucesiva fusión de casos similares en diferentes clústeres [92]. Este tipo es frecuentemente utilizado para el análisis de los alimentos ya que ayuda a categorizarlos según sus valores nutritivos, así como para determinar su composición aproximada [93], también ha sido utilizado eficazmente para la detección y cuantificación de adulterantes químicos en modelos de leche en polvo [94].

1.3 Caracterización fisicoquímica

1.3.1 Espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).

La espectroscopia infrarroja estudia la interacción de la radiación infrarroja con la materia. Se utiliza para la identificación y el estudio de sustancias químicas. Se lleva a cabo con un instrumento llamado espectrómetro infrarrojo o espectrofotómetro. Un espectro de IR se puede visualizar en un gráfico de la absorbancia de luz infrarroja (o transmitancia) en el eje vertical en función de la frecuencia o la longitud de onda en el eje horizontal. Las unidades típicas de frecuencia utilizadas en los espectros IR son los números de onda, con el símbolo cm^{-1} . Las unidades de longitud de onda IR se suelen dar en micrómetros (μm), que están relacionados con los números de onda de forma recíproca. La porción infrarroja del espectro electromagnético se divide

generalmente en tres regiones; el infrarrojo cercano (NIR), medio (MIR) y lejano (FIR) que corresponden a los intervalos de longitud de onda 0.7-2.5 μm , 2.5-25 μm , 25-1,000 μm o expresado en números de onda como 4.000-14.300 cm^{-1} , 400-4.000 cm^{-1} y 10-400 cm^{-1} , respectivamente; esta técnica permite analizar muestras sólidas, líquidas y gaseosas; es sencilla, rápida y de una alta sensibilidad y se ha utilizado en medios biológicos [95].

1.4 Zonas de estudio

Se eligieron dos zonas de estudio para realizar el biomonitorio, comparar las diferencias en los hábitos alimenticios, sus posibles fuentes de contaminación y sus actividades económicas principales, una es la zona rural del Municipio de Villa Guerrero en la cual la mayoría de su población se dedica a la floricultura y la segunda es la Zona Metropolitana del Valle de Toluca donde la industria es la actividad que más se ve reflejada.

1.4.1 Municipio de Villa Guerrero

En sus orígenes Villa Guerrero era conocido con el nombre de Tecualoyan, vocablo náhuatl que se compone de tecualo, "voz impersonal de morder o comerse algo", y de Yan, "lugar"; por lo que un significado aproximado sería "Lugar en donde se devora" o "Lugar en donde hay gente fiera o brava", aunque según los habitantes del lugar, Tecualoyan significa "lugar donde hay fieras devoradoras. Se encuentra situado al sur del Estado de México, la cabecera municipal se localiza a los 18° 56' 3'' de longitud norte y a los 99° 38' de longitud oeste; y a una altura de 2095 metros sobre el nivel del mar [96].

Se puede observar en la Figura 1.1 el mapa de la ubicación del MVG, el cual limita al norte con Tenango del Valle, al oriente con Tenancingo y Zumpahuacan, al sur con Ixtapan de la sal y al oriente con Coatepec Harinas [97].

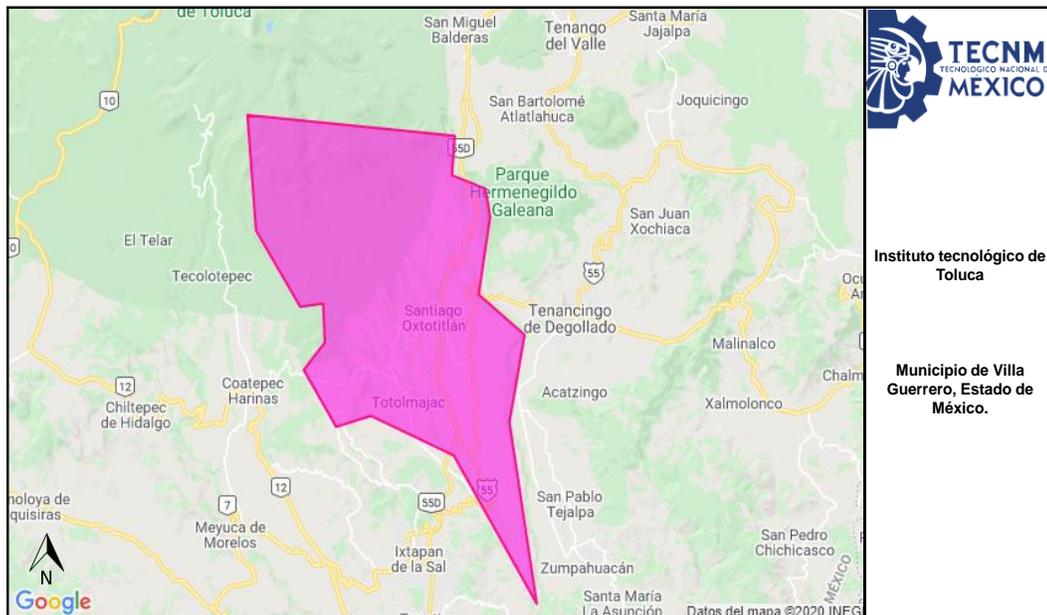


Figura 1.1 Mapa del Municipio de Villa Guerrero.

El suelo del municipio se ha formado por la sedimentación que proviene de la erosión pluvial y de la erosión eólica, dando como resultado la acumulación de tierra arcillo-arenosa, lo que permite el surgimiento y desarrollo de los vegetales. Otro tipo del suelo característico de Villa Guerrero se encuentra en la parte sur, donde se pueden observar sedimentos de arcilla negra que permiten el desarrollo de actividades agrícolas. Asimismo, existe también una composición de tierra fina que dificulta su humectación, por lo que se recurre a la irrigación para la germinación de vegetales. La ocupación del suelo en las últimas 5 décadas ha presentado un incremento de 623 hectáreas, pasando de 366 hectáreas en 1970 a 989 que se consideran para el uso urbano actualmente. Este crecimiento del área urbana absorbió terrenos cuyo uso era agrícola y con un régimen de propiedad ejidal. En la actualidad cuenta con 20,773 hectáreas, de las cuales el 4.77% son de área urbana (989 hectáreas), se encuentra como uno de los principales municipios que pertenecen el corredor florícola, el cual está compuesto por 31 municipios del Estado de México y en los cuales su actividad económica principal es la floricultura [98].

1.4.2 Zona Metropolitana del Valle de Toluca

Se define como zona metropolitana al conjunto de dos o más municipios donde se localiza una ciudad de 50 mil o más habitantes, cuya área urbana, funciones y actividades rebasan el límite del municipio que originalmente la contenía, incorporando como parte de sí misma o de su área de influencia directa a municipios vecinos, predominantemente urbanos, con los que mantiene un alto grado de integración socioeconómica. También se incluyen a aquellos municipios que por sus características particulares son relevantes para la planeación y políticas urbanas de las zonas metropolitanas en cuestión. La integración territorial de la ZMVT (Figura 1.2) se constituye por los siguientes 16 municipios: Tenango del valle, Almoloya de Juárez, Calimaya, Chapultepec, Lerma, Metepec, Mexicaltzingo, Ocoyoacac, Otzolotepec, Rayón, San Antonio la Isla, San Mateo Atenco, Temoaya, Toluca, Xonacatlán y Zinacantepec [99,100].

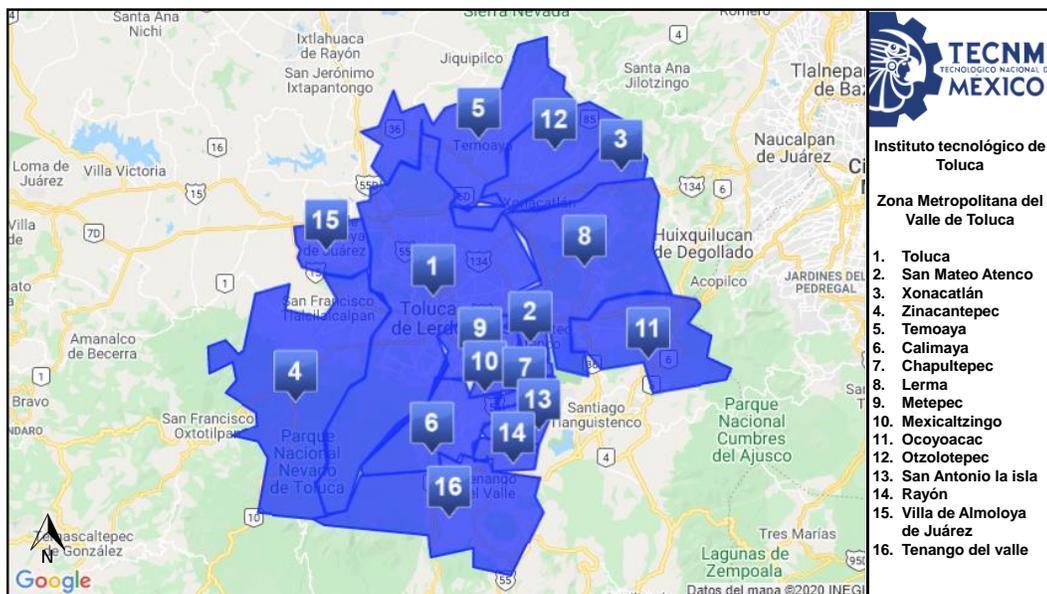


Figura 1.2 Mapa de la Zona metropolitana del Valle de Toluca.

2 METODOLOGÍA

La parte experimental se divide en 4 etapas, como se puede observar en la Figura 2.1; en la primera se realizan las entrevistas a las madres candidatas mediante cuestionarios, para poder seleccionar a aquellas que cumplan con los requisitos establecidos, también se lleva a cabo la recolección de las muestras y el almacenamiento. En la segunda etapa que es la preparación de las muestras, se lleva a cabo la descongelación y el acondicionamiento de las muestras. En la tercer etapa se lleva a cabo el análisis de las muestras por MEB y EDS, después se realiza el análisis por FTIR, y finalmente la cuarta etapa se centra en el análisis de resultados por medio del programa estadístico SPSS.

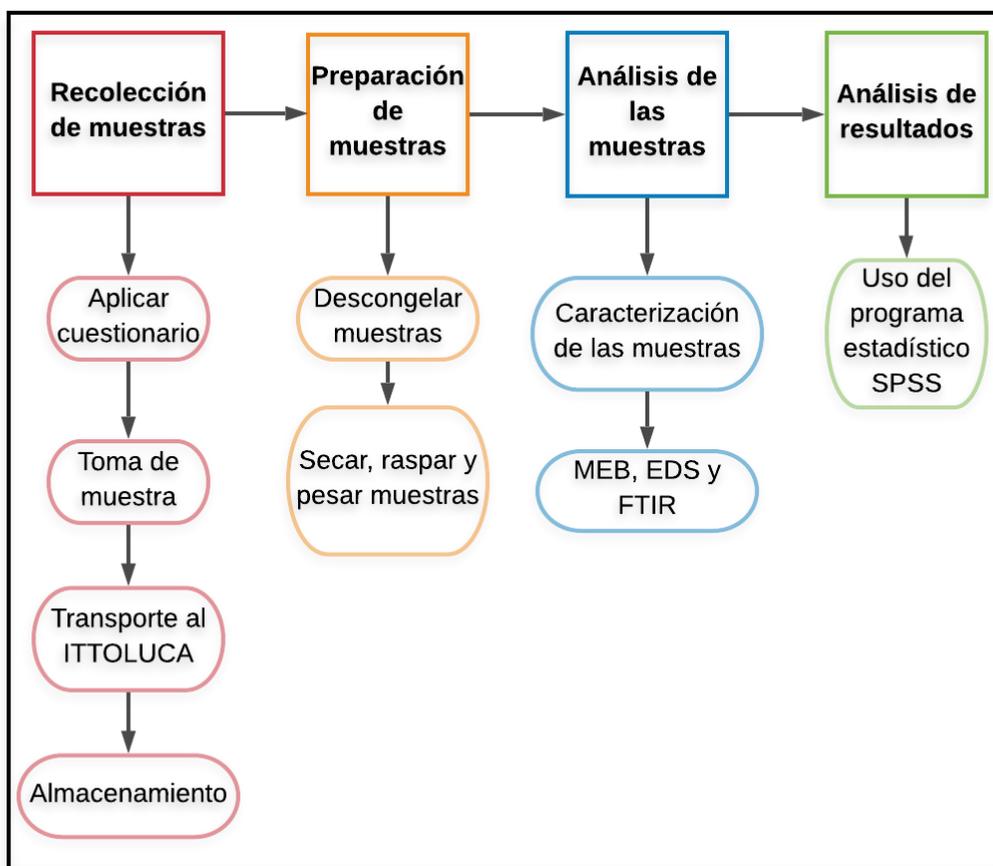


Figura 2.1 Diagrama de la parte experimental

2.1 Recolección de las muestras

El muestreo se llevó a cabo en 3 pasos, primero se realizó un cuestionario a las posibles candidatas para asegurar que cumplieran con los requisitos establecidos para el estudio, como el ser madres primerizas, que residieran al menos 10 años dentro de las zonas de estudio y que el bebé tuviera cumplidos entre 1.5 y 2 meses. Para la extracción de la leche se tomaron en cuenta las medidas de higiene necesarias para no contaminar las muestras, estas incluyeron la correcta higiene personal de la madre, el lavado adecuado de manos y el cabello recogido; los frascos de recolección fueron esterilizados y etiquetados previamente.

En la Figura 2.2 se muestra el procedimiento que se siguió para la extracción de la leche de forma manual, y que se llevó a cabo en 4 etapas: a cada mamá se le dió un masaje circular en el seno desde el exterior hacia el pezón con dirección a las manecillas del reloj (Fig. 2.2a) durante 3 minutos, enseguida se frotó suavemente el seno desde la base hacia la punta del pezón con la palma de la mano derecha mientras que con la izquierda se sostuvo (Fig. 2.2b), posteriormente con los dedos pulgar e índice al borde de la aréola se extrajo suavemente la leche cambiando poco a poco las posiciones de los dedos hasta vaciar completamente el seno (Fig. 2.2c y d).

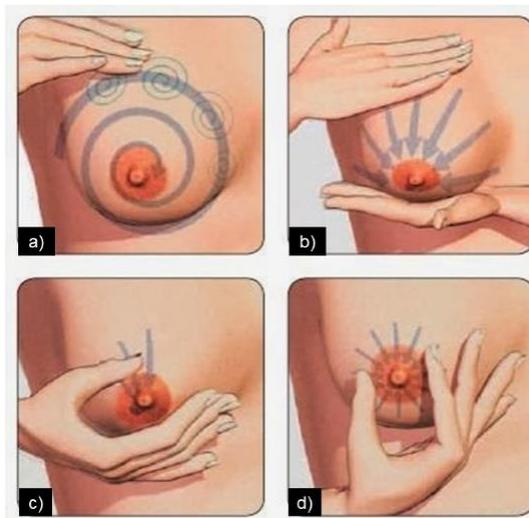


Figura 2.2 (a, b, c y d) Extracción manual de la muestra de leche.

La muestra se recolectó en un frasco de vidrio como se muestra en la Figura 2.3; debido a que en los primeros meses de lactancia el consumo del bebe es de pocos mL y la generación de leche en las donantes por ser primerizas es limitada, la recolección se llevó a cabo de entre 2 a 3 tomas para ajustar el volumen necesario para realizar los análisis, el tiempo estimado la extracción por donante fue de 4h, posteriormente se cierra el frasco para evitar la descomposición de la muestra y se guarda en una nevera para mantenerla a -4°C . Posteriormente las muestras se trasladaron a las instalaciones del ITToluca para su almacenamiento en un congelador a -20°C hasta su análisis.



Figura 2.3 Recolección de la muestra en el frasco de vidrio.

2.2 Preparación de las muestras

Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, posteriormente se pesaron 1.3 mL aproximadamente de cada una y se colocaron en cajas Petri de vidrio de 60x10 mL, previamente lavadas con Extran y etiquetadas; posteriormente se secaron a 30°C por 5 h y una vez secas se rasparon con una espátula, para obtener la muestra en polvo, finalmente se pesaron para obtener el porcentaje de material seco obtenido.

2.2.1 Porcentaje de humedad

Para determinar el porcentaje de humedad, las cajas petri se pusieron a peso constante, posteriormente se les colocó una cantidad de leche materna y se pesaron

(peso inicial), se secaron a 30 °C en una estufa y se pesaron nuevamente (peso final). Una vez conocidos el peso inicial y final, cada muestra se raspó con una espátula para retirar de las paredes de la caja la mayor cantidad de muestra para analizarse por MEB. La diferencia de peso permitió calcular el porcentaje de humedad con la ecuación 2.1.

$$\% H = \frac{P_i - P_f}{P_i} * 100 \dots\dots\dots\text{Ecuación 2.1}$$

Donde:

Pf= Peso final

Pi= Peso inicial

Finalmente, el resultado del material seco se restó del 100% obteniendo así el porcentaje de humedad [101,102,103].

2.3 Análisis de caracterización de las muestras

2.3.1 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) y Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS)

Para este estudio, se utilizó un microscopio electrónico marca JEOL JSM-610 LV el cual se encuentra en el laboratorio del LIIA del Instituto Tecnológico de Toluca, las muestras secas y en polvo se colocaron en porta muestra de aluminio con cinta de cobre sin recubrimiento de oro para realizar los análisis EDS, así mismo se obtuvieron las micrografías de cada muestra a diferentes aumentos: x5000, x500 y x100; para la determinación de la composición elemental se utilizó una sonda marca JEOL 6610 acoplada al microscopio electrónico de barrido, a un aumento de 100X.

2.3.1 Espectrofotometría Infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

Para la determinación de los grupos funcionales de las muestras de leche materna seca, se utilizó un equipo VARIAN 640-IR, con un intervalo de número de onda de 500 a 4000 cm^{-1} y se programaron 16 barridos.

2.4 Análisis estadístico

El porcentaje atómico detectado en las muestras de leche materna por EDS, se analizó estadísticamente utilizando el programa “IBM SPSS Statistics 25” obteniendo los histogramas que representan la frecuencia de los elementos detectados y se realizaron 2 dendogramas por zona, en el primero se utilizó como variable el porcentaje de los elementos detectados por EDS y en el segundo, el consumo y hábitos de las donantes, posteriormente con esta información se desarrolló un análisis factorial, utilizando el método de Ward, para generar un gráfico de dispersión el cual permite analizar si existe algún tipo de relación entre variables.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Recolección de las muestras

Se eligieron dos zonas de muestreo diferenciadas por su actividad económica principal, además del estilo de vida de las donantes, con el fin de detectar e identificar componentes no pertenecientes a la composición de la muestra.

En la Figura 3.1 se observa el mapa del Municipio de Villa Guerrero con la localización de las madres donantes de leche materna, el cual se realizó con el programa Scribblemaps, utilizando el sistema de referencia de cuadrícula militar MGRS; se tiene una tendencia hacia el lateral derecho de la zona, lo cual resulta de factores como el camino rural, la baja disponibilidad de transporte público a ciertas localidades y la poca colaboración de las donantes, dificultando la homogenización para toma de muestras y abarcar todo el Municipio. Se recolectaron un total de 55 muestras de esta zona, las donantes tienen una edad media de 20 años (± 4 años), la toma de la muestra se realizó alrededor de los 50 días (± 17 días) después del parto y se visitaron a 21 localidades del MVG; el Centro de Villa Guerrero y San Mateo Coapexco fueron donde más cantidad de muestras se obtuvieron con 12.7% en cada una, seguido de San Bartolo, Zacango y la Finca con 9.1% respectivamente, El potrero, San Miguel y San Francisco con 5.5% cada una, San José, Cruz vidriada, Santiago Oxtotitlán y Santa María Aránzazu con 3.6% cada una y finalmente El moral, Potrerillos, San diego, La joya, San Lucas, Tequimilpa, Buena vista, San Felipe y Jesús Carranza con 1.8% cada sitio.

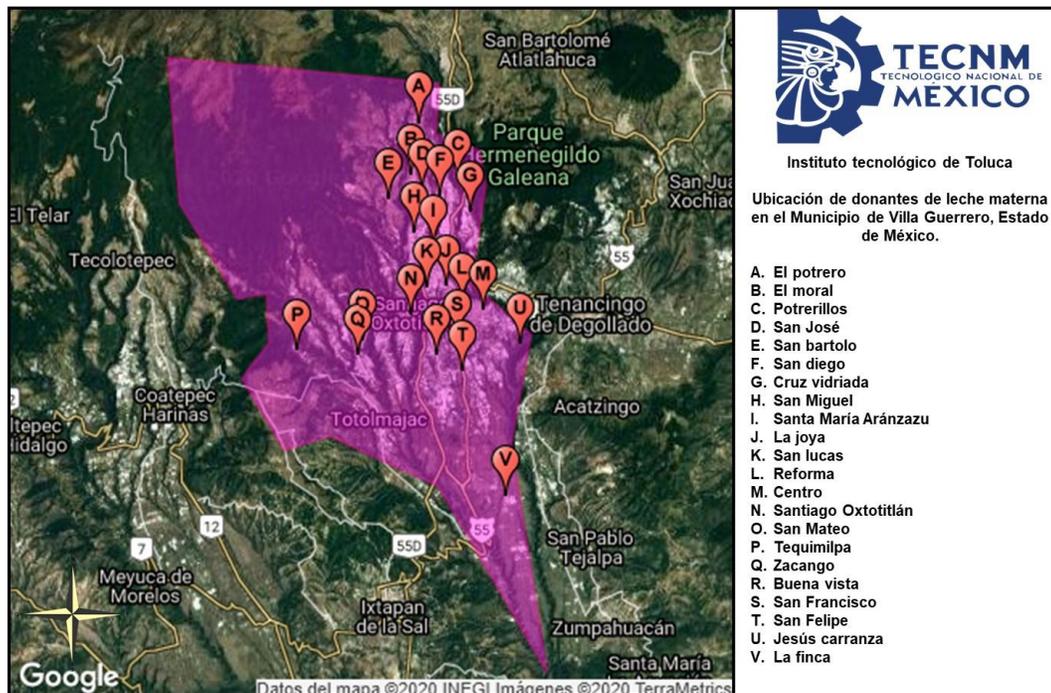


Figura 3.1 Mapa de la ubicación de las donantes en Villa Guerrero

En la Figura 3.2 se presenta el mapa de la distribución de las muestras de leche materna recolectadas en la ZMVT, las donantes se agruparon en Municipios y fueron canalizadas a través del apoyo del Hospital de Ginecología y Obstetricia ubicado en Toluca, el mapa se generó en el programa Scribblemaps, utilizando el sistema MGRS. La obtención de muestras en esta zona fue de más fácil acceso en comparación de Villa Guerrero debido a la urbanización actual, sin embargo, se presentaron situaciones en las que las posibles donantes desistían debido a que su producción de leche era baja, o se les dificultaba la donación por que debían regresar a sus actividades laborales antes de lo planeado. Se recolectaron un total de 55 muestras de esta zona, las donantes presentaron una edad promedio de 22 años (± 6 años), la toma de la muestra se realizó alrededor de los 49 días (± 12 días) después del parto y se visitaron 9 Municipios pertenecientes a la ZMVT, de los cuales en el que se obtuvo mayor número de donantes fue Toluca con 43.6%, seguido de Metepec y Zinacantepec con 14.5% cada uno, San Mateo Atenco con 7.3%, Temoaya, Lerma y Villa de Almoloya de Juárez con 3.6% cada uno, finalmente Ocoyoacac y Tenango del Valle con 1.8% en cada uno. También se recolectó el 5.5% de muestras en el Municipio de

Santiago Tianguistenco, sin embargo, a pesar de compartir sus actividades económicas similares a los Municipios antes mencionados y por su cercanía a ellos, no está oficialmente contemplado dentro de la ZMVT.

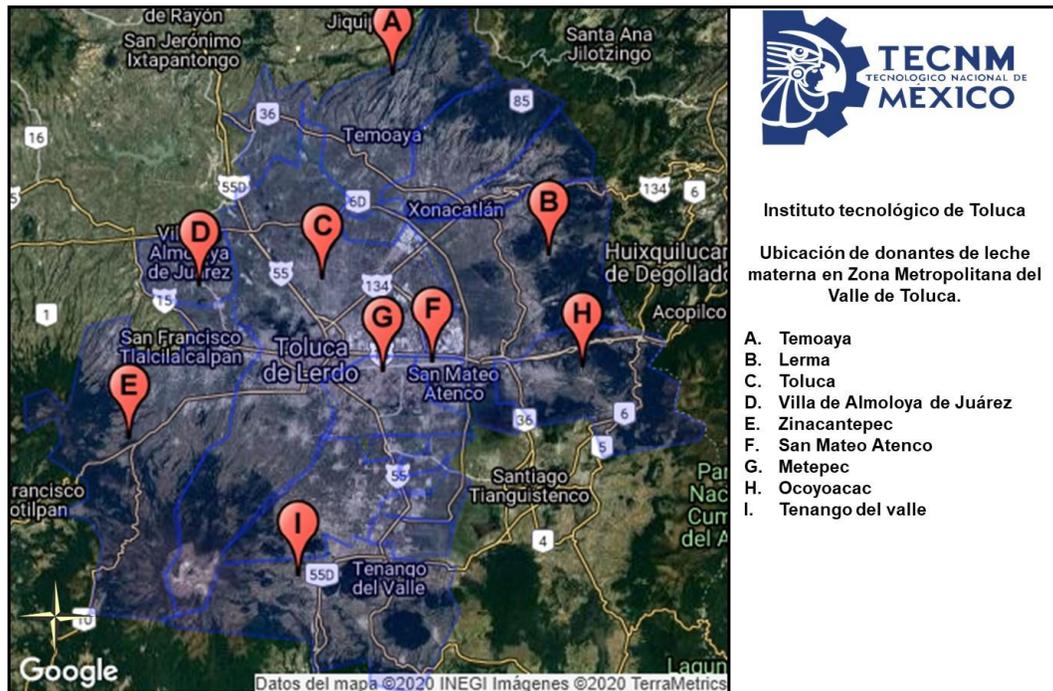


Figura 3.2 Mapa de la ubicación de las donantes de la ZMVT

3.2 Preparación de las muestras

En las 55 muestras de cada zona, presentaron diferentes características que permitieron agruparlas 4 grupos diferentes según su similitud de color, textura e hidratación. Para MVG en el primer grupo (Figura 3.3) se encontraron 14 muestras (25.45%) del total, las cuales presentan coloración blanca con aglomerados compactados de partículas finas por lo que la cantidad de material pareciera ser menor al de las demás muestras, estos se pueden apreciar con mayor detalle en la muestra LV7 y LV33 de la Figura 3.3.

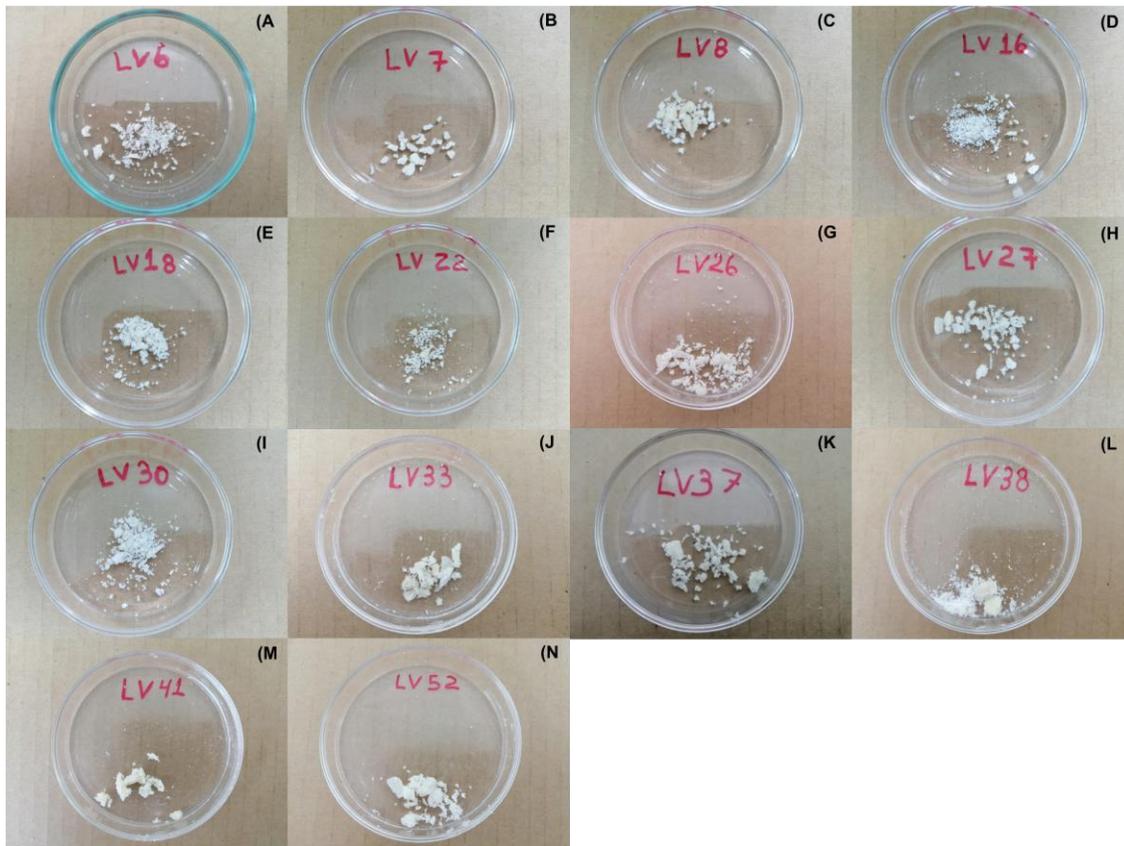


Figura 3.3 Muestras del Grupo 1 del MVG

El segundo grupo de las muestras de MVG está conformado por 21 muestras (Figura 3.4) que representan el 38.18% del total y en las cuales se observa una combinación de texturas tanto grumosas como polvosas, la tonalidad que predomina es el blanco, y sobresalen las muestras LV12 (Figura 3.4 E) y LV32 (Figura 3.4 K) en las cuales se pueden apreciar los dos tipos de texturas.



Figura 3.4 Muestras del Grupo 2 del MVG

El tercer grupo (Figura 3.5) está conformado por 14 muestras que equivale al 25.45% al igual que el primer grupo; su principal característica es una textura polvosa, sin embargo, no se observan formaciones de grumos y las tonalidades son blancas. En las muestras LV29 y LV51 (Figura 3.5 F,N) se obtuvo menor cantidad de material seco, este resultado puede ser atribuido contenido de agua. La característica de este grupo

es que los aglomerados se disuelven en polvo fino fácilmente al contacto con la espátula.

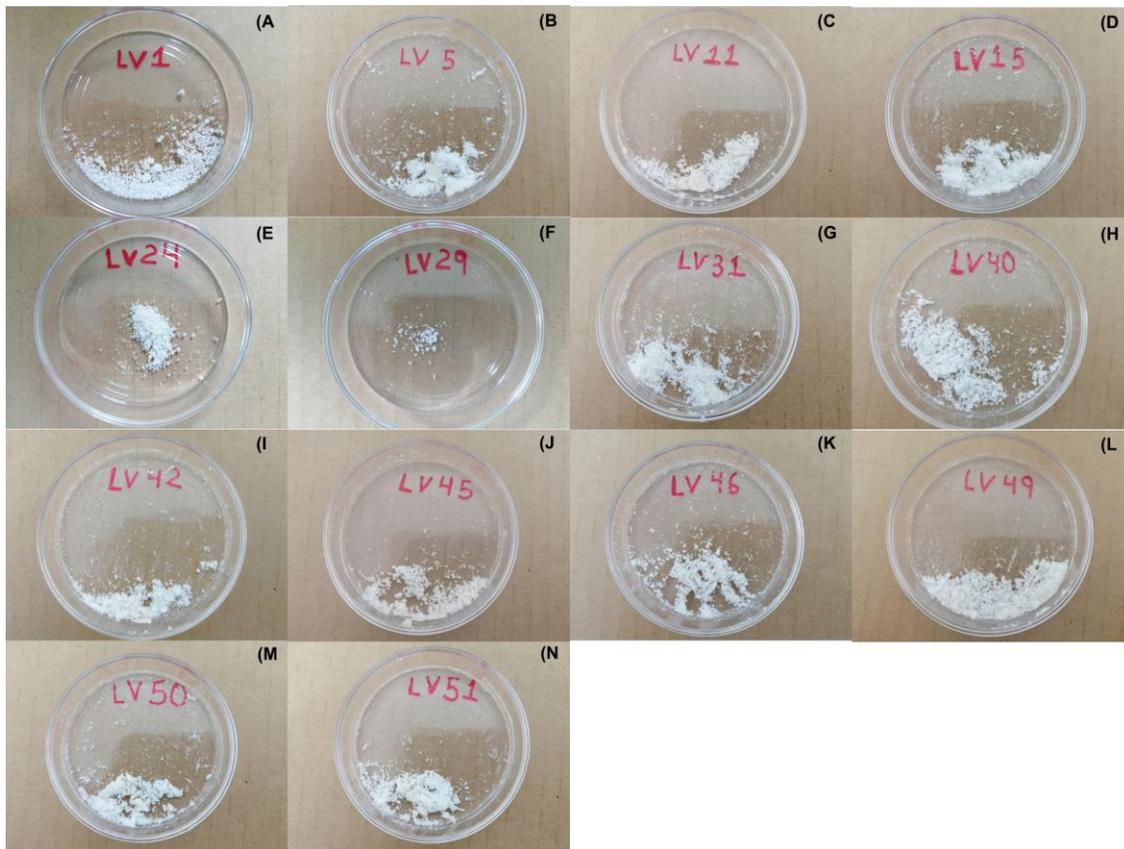


Figura 3.5 Muestras del Grupo 3 del MVG

Finalmente, el cuarto grupo (Figura 3.6) con un total de 6 muestras, representa el 10.91% del total de muestras y éstas presentan una coloración ligeramente amarillenta, el material está en aglomerados con alto contenido de grasa.

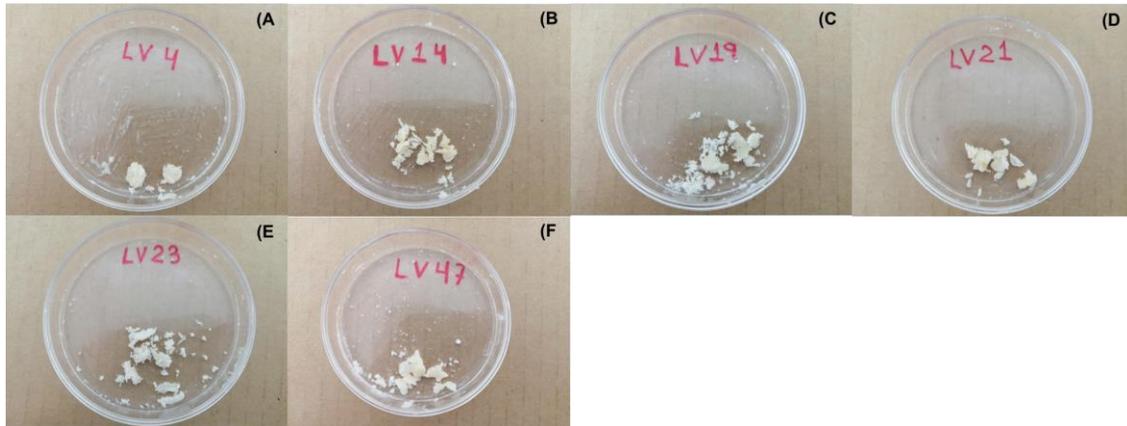


Figura 3.6 Muestras del Grupo 4 del MVG

En la ZMVT fueron acondicionadas de igual manera 55 muestras y se observaron también 4 tipos de muestras. El primero está conformado por 22 que representan el 40% del total y cuya característica principal es su textura grumosa con tonalidades amarillas; en las muestras LT37 (Figura 3.7 N) y LT 43 (Figura 3.7 R) se obtuvo mucho menor cantidad de material seco que en las demás muestras.

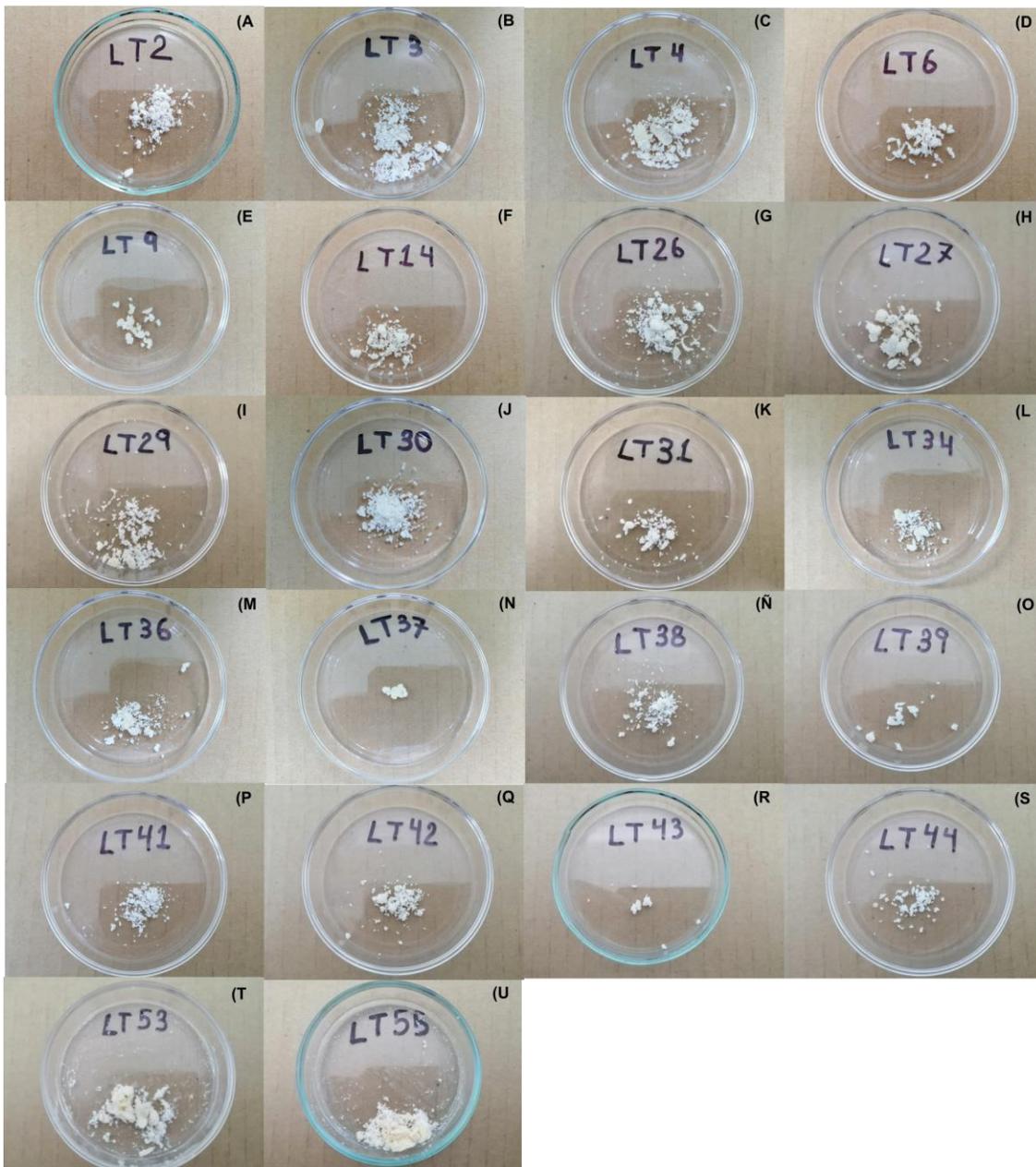


Figura 3.7 Muestras del Grupo 1 de la ZMVT

El segundo grupo (Figura 3.8) está conformado por 18 muestras que representan el 32.73% y en el cual se observan tanto muestras en forma de aglomerados como aquellas con material particulado fino, su tonalidad en la mayoría de los casos es

blanca, únicamente la muestra LT54 (Figura 3.8 (Q)) presenta una tonalidad ligeramente amarilla.

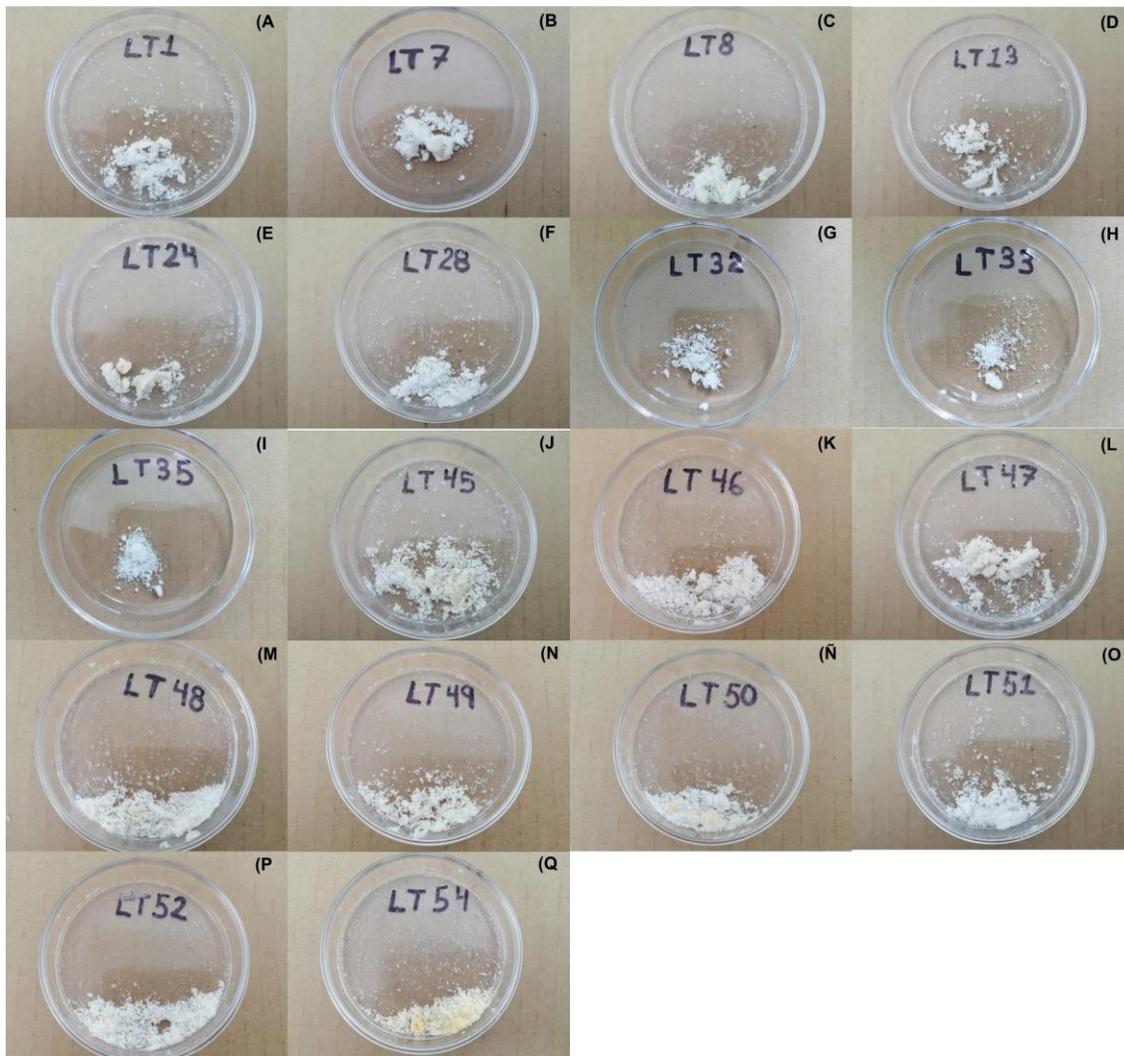


Figura 3.8 Muestras del Grupo 2 de la ZMVT

El tercer grupo de ZMVT (Figura 3.9) está compuesto por 10 muestras correspondientes al 18.18% de las muestras, se caracterizan por su textura polvosa y tonalidad blanca; en las muestras LT10 (Figura 3.9 B) y LT21 (Figura 3.9 F) se obtuvo muy poca muestra seca.

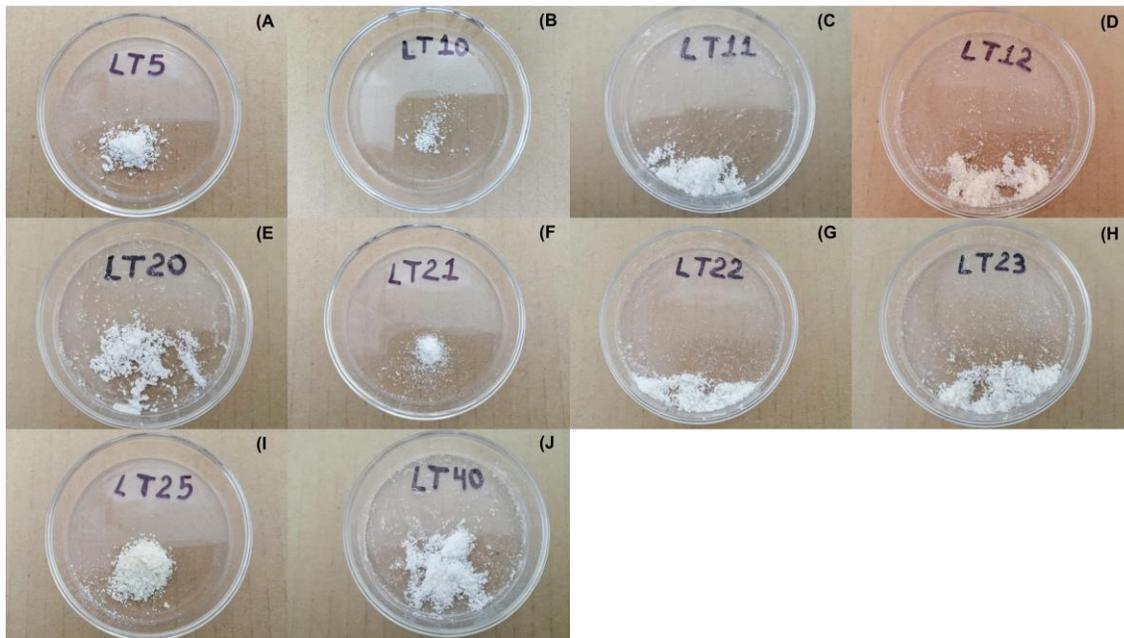


Figura 3.9 Muestras del Grupo 3 de la ZMVT

Finalmente, el cuarto grupo de ZMVT (Figura 3.10) está compuesto por 5 muestras que representan el 9.09% en las cuales se observa principalmente una tonalidad amarilla más fuerte, una textura grumosa y grasosa sobre todo en las muestras LT15 (Figura 3.10 A) y LT 17 (Figura 3.10 C).

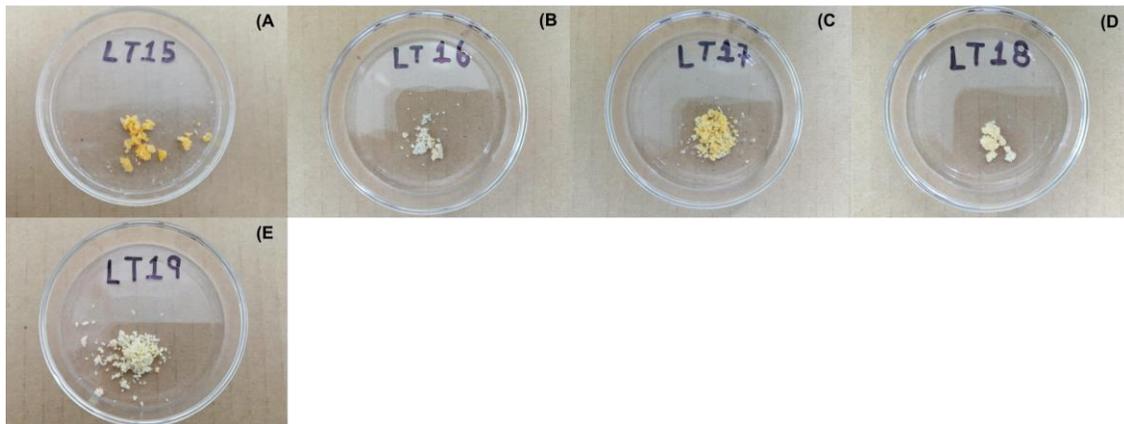


Figura 3.10 Muestras del Grupo 4 de la ZMVT

En ambas zonas se observaron los cuatro grupos diferentes, sin embargo, la primera diferencia que se obtiene es que en las muestras de la ZMVT hay más muestras con tonalidades amarillentas que en el MVG, e incluso el color es más fuerte, esta característica se relaciona con las donadoras y su consumo de una dieta más rica en alimentos con betacarotenos [104].

3.2.1 Porcentaje de humedad

Para determinar el porcentaje de humedad en las muestras de leche, se consideró el peso inicial de la muestra y el peso final una vez que fueron secadas en la estufa. En la Figura 3.11 se observan los porcentajes de humedad de las 55 muestras del MVG las cuales se muestra que en promedio el 88.48% de la muestra es agua [105,106].

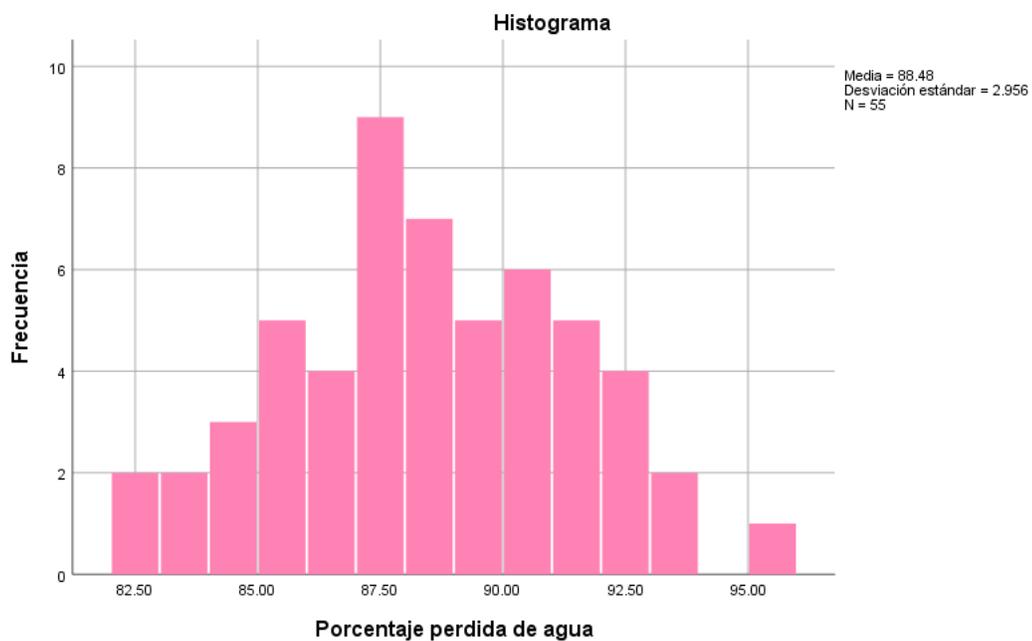


Figura 3.11 Porcentaje de pérdida de agua MVG

En la Figura 3.12 se observa el porcentaje de agua que se perdió de las 55 muestras analizadas de la ZMVT de las cuales la media es de 88.96%, un valor muy similar al MVG y que concuerda con la literatura encontrada.

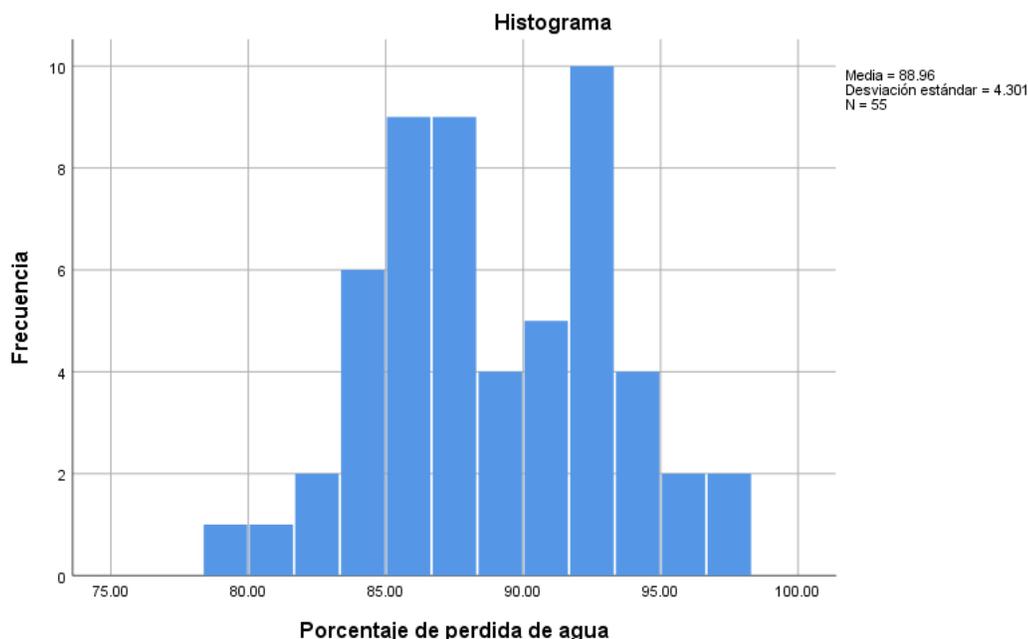


Figura 3.12 Porcentaje de pérdida de agua ZMVT

3.3 Análisis de caracterización de las muestras

3.3.1 Espectroscopía de Energía Dispersiva (EDS).

Las muestras del MVG fueron analizadas por EDS, obteniéndose datos de 10 elementos presentes (Anexo, Tabla 1), se calculó el porcentaje atómico puntual y su desviación estándar correspondiente, el C, N y el O son los elementos de mayor peso en las muestras, los demás elementos son: Na, P, S, Cl, K, Ca y Mg se detectaron en valores menores a 1% y en algunas muestras incluso no se presentan, cabe señalar que el Mg está presente solo en las muestras LV26 y LV48, sin embargo, debido a la cantidad de datos obtenidos se seleccionó el programa SPSS para realizar un análisis de conglomerados jerárquicos del cual se obtuvo como primer dato que las muestras se clasificaban mejor en 2 grupos (Figura 3.13), el primer grupo está compuesto por

las muestras LV1, LV2, LV5, LV6, LV9, LV11, LV13, LV15, LV17, LV18, LV20, LV22, LV24, LV25, LV26, LV29, LV31, LV34, LV36, LV38, LV40, LV41, LV42, LV44, LV46, LV48, LV50, LV51 y LV55, en las cuales la media de los elementos detectados es la siguiente: C 60.3369 ± 6.0797 , N 8.9331 ± 5.5913 , O 35.0997 ± 4.3431 , Na 0.0714 ± 0.0992 , S 0.0024 ± 0.0130 , P 0.0262 ± 0.0362 , Cl 0.1203 ± 0.0524 , K 0.1245 ± 0.0314 , Ca 0.0748 ± 0.0227 y Mg 0.103 ± 0.0323 ; el segundo grupo está compuesto por las muestras LV3, LV4, LV7, LV8, LV10, LV12, LV14, LV16, LV19, LV21, LV23, LV27, LV28, LV30, LV32, LV33, LV35, LV37, LV39, LV43, LV45, LV47, LV49, LV52, LV53 y LV54, en las cuales la media del elemento C 73.8077 ± 4.0306 es mayor que en el primer grupo; sin embargo, los demás son más bajos: N 0.4450 ± 1.5723 , O 26.1273 ± 4.2307 , Na 0.0446 ± 0.0857 , S 0.0073 ± 0.02108 , P 0.0246 ± 0.03535 , Cl 0.0931 ± 0.0394 , K 0.0788 ± 0.02503 , Ca 0.0592 ± 0.0282 y en este grupo no hubieron muestras que tuvieran Mg.

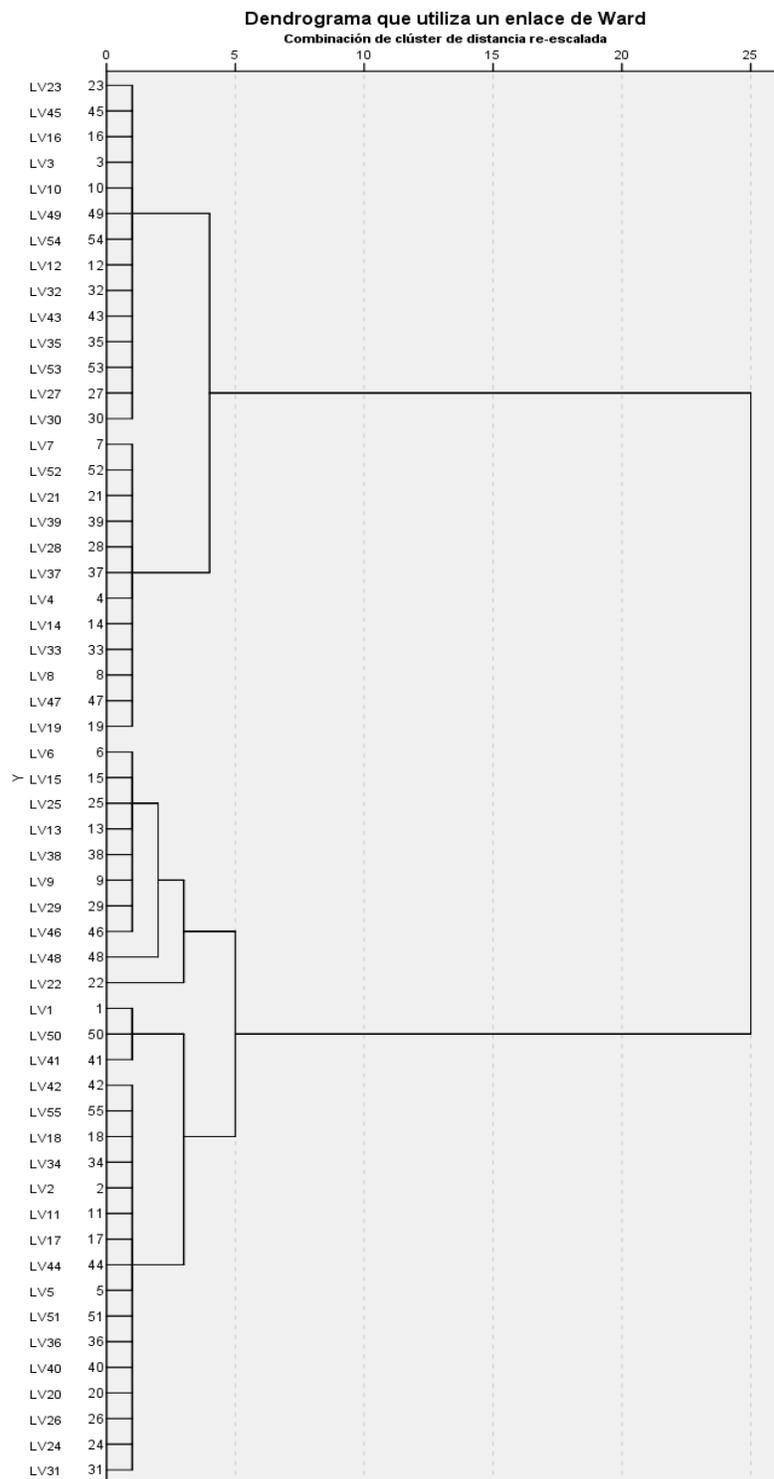


Figura 3.13 Dendrograma MVG

Con el análisis de conglomerados jerárquicos y un análisis factorial posterior, en el cual se obtuvieron 3 factores se observa como la tendencia del grupo 1 de las muestras representadas en círculos azules está por encima de valores mayores a 0.0 y como las muestras del grupo 2 representadas por los círculos rojos tienden a estar por debajo de los mismos.

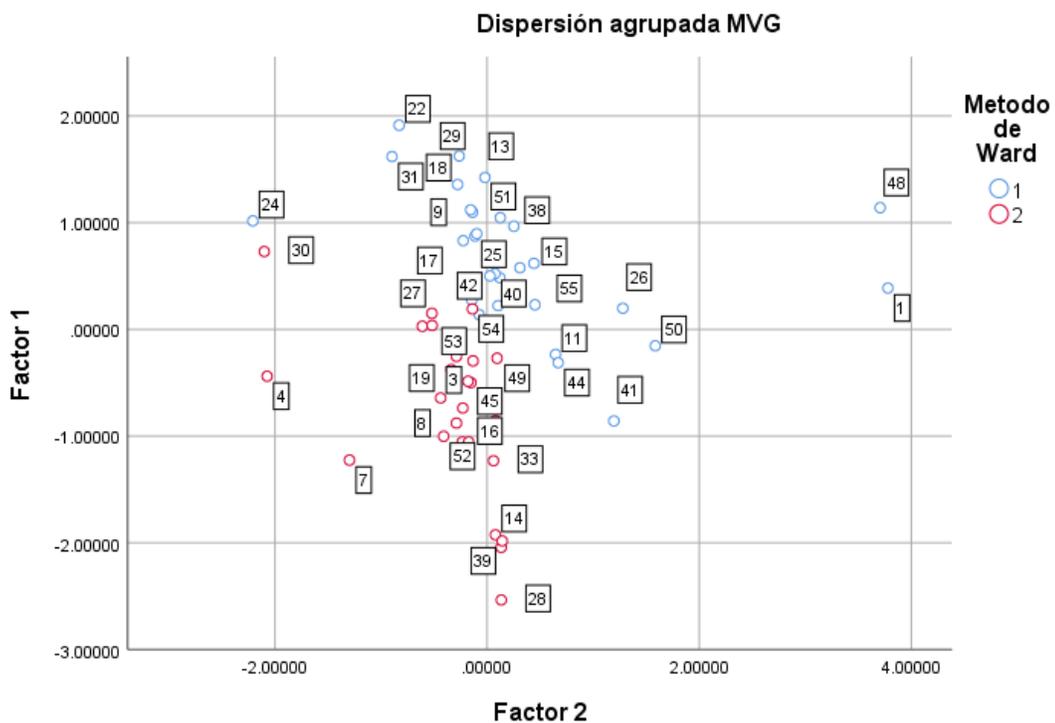


Figura 3.14 Gráfico de dispersión MVG

Para un mejor análisis se realizaron graficas de dispersión de cada uno de los elementos con respecto a los dos grupos obtenidos. En la Figura 3.15 observamos la dispersión del Carbono en el MVG, del cual el grupo 1 tiende a estar entre el 50.0 al 80.0 de porcentaje atómico promedio y el grupo 2 lo supera estando en valores entre el 60.0 y 80.0%.

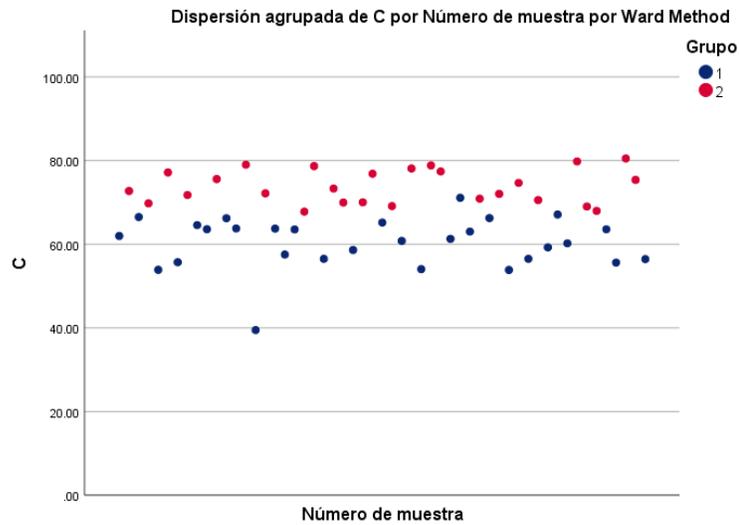


Figura 3.15 Dispersión C MVG

En el nitrógeno (Figura 3.16), el grupo 1 presenta valores desde el 4.0 al 24.0% muy diferente al grupo 2 en el que solo se detectó en dos muestras de menos del 9.0%.

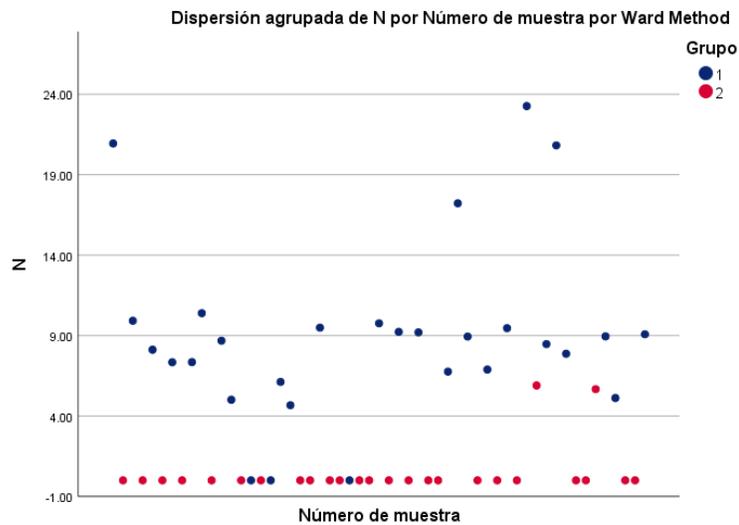


Figura 3.16 Dispersión N MVG

En el oxígeno (Figura 3.17) el grupo 1 se concentra en valores del 30.0 al 45.0%, mayor al grupo 2 el cual tiende a estar entre el 20.0 al 30.0%.

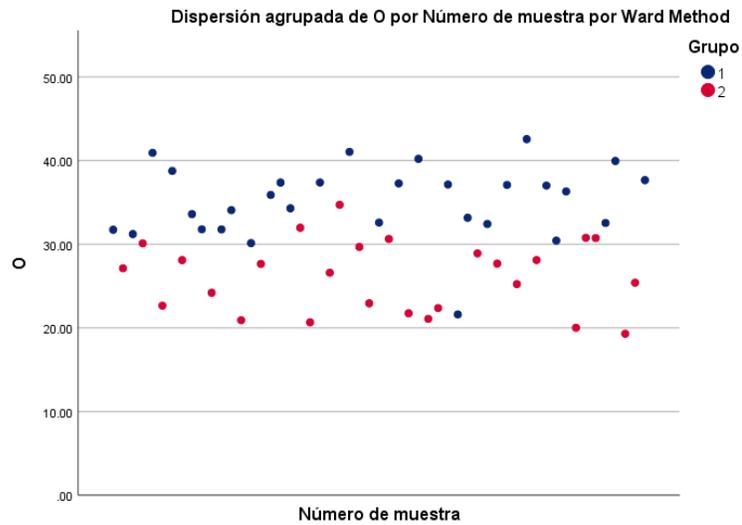


Figura 3.17 Dispersión O MVG

El sodio (Figura 3.18) fue detectado en solo doce muestras del grupo 1 y siete del grupo 2, sin embargo, no marca una tendencia que clasifique o diferencie uno del otro ya que los porcentajes obtenidos van desde 0.01 a 0.04% en ambos grupos.

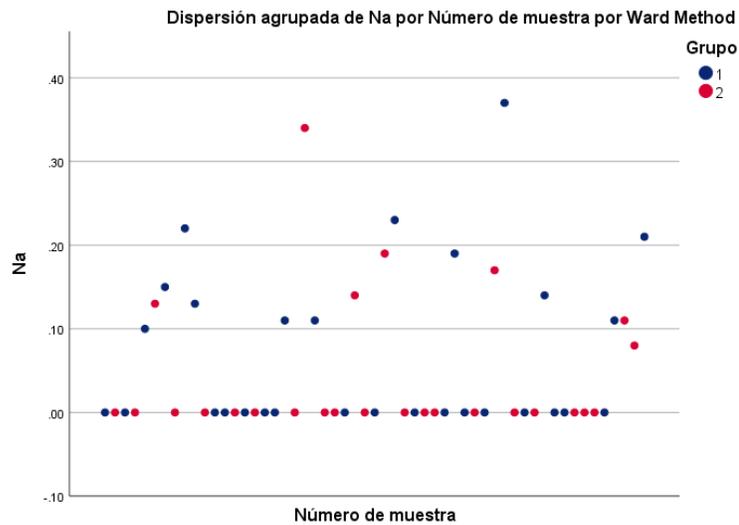
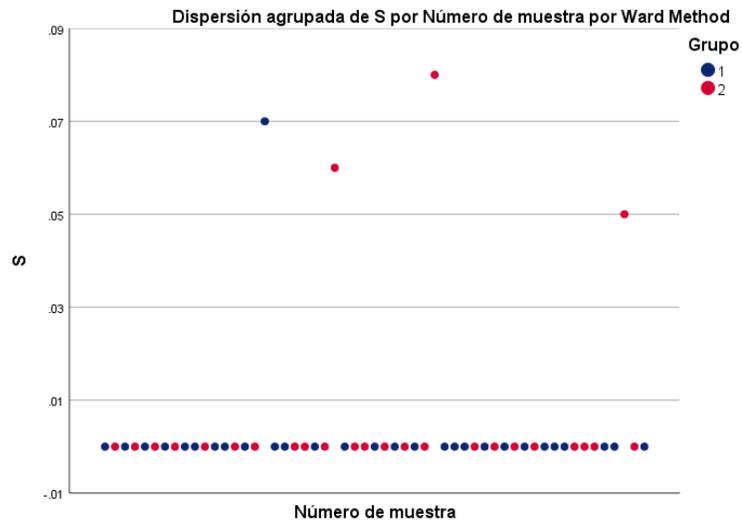


Figura 3.18 Dispersión Na MVG

El azufre es un elemento disponible en la leche materna naturalmente, sin embargo, la detección por medio del análisis EDS fue muy baja, detectándose (Figura 3.19) solo

en 4 muestras, una perteneciente al grupo 1 con 0.007% y las otras tres del grupo 2 entre el 0.005 y 0.009%.



El siguiente elemento es el cloro (Figura 3.21) el cual no fue detectado en 1 muestra clasificada en el grupo 2, y su tendencia está entre el 0.01 al 0.20%, el grupo 1 presenta ligeramente un porcentaje mayor.

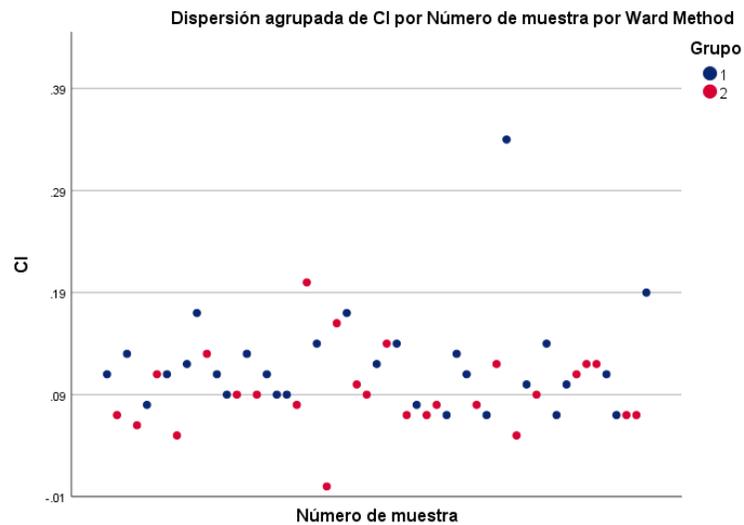


Figura 3.21 Dispersión Cl MVG

El potasio (Figura 3.22) si es un elemento que muestra una tendencia mayor en el grupo 1 con valores del 0.09 hasta 0.19% a diferencia del grupo 2 en el que sus valores detectados son más bajos, va desde 0.0 a 0.14%.

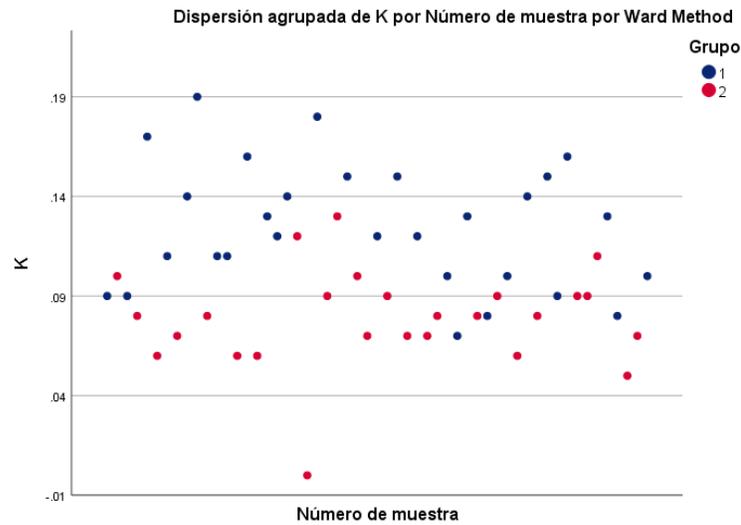


Figura 3.22 Dispersión K MVG

El calcio (Figura 3.23) presenta un ligero mayor contenido en el grupo 1 que en el grupo 2 sin embargo la tendencia del porcentaje detectado va de 0.05 a 0.09% mayormente.

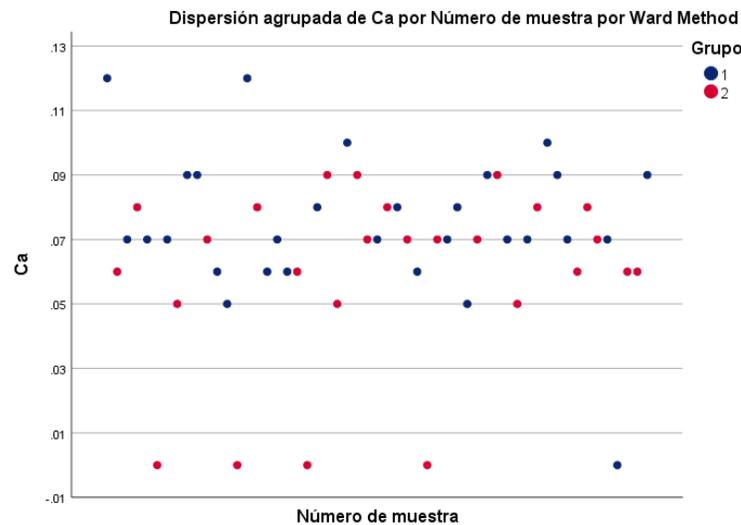


Figura 3.23 Dispersión Ca MVG

El magnesio solo fue detectado en muestras del grupo 1 con porcentajes bajos entre el 0.06% al 0.13%.

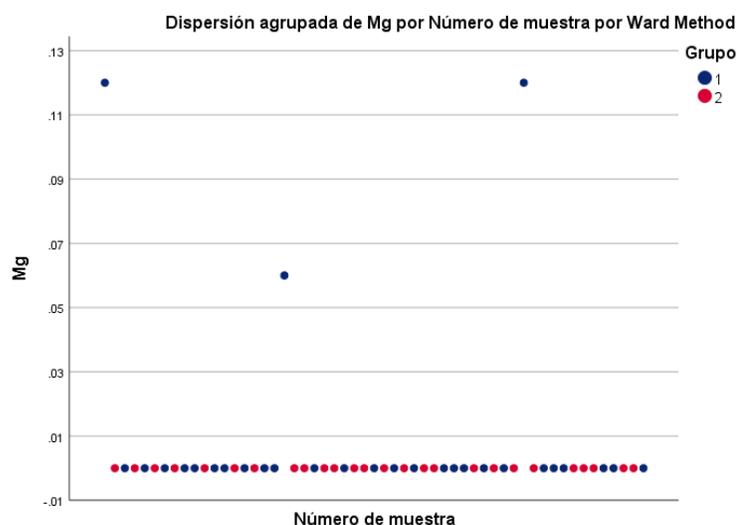


Figura 3.24 Dispersión Mg MVG

Posteriormente se analizaron las muestras de la ZMVT (Anexo, Tabla 2) de igual manera que en el MVG el C, N y el O son los elementos de mayor peso en las muestras y se detectaron el Na, P, S, Cl, K, Ca, sin embargo, no hubo muestras que presentaran al Mg.

Al realizar el análisis de conglomerados jerárquicos en el programa SPSS (Figura 3.25) se obtuvieron 2 grupos que clasifican mejor a las muestras, de igual manera que en el MVG; el primer grupo está compuesto por las muestras LT1, LT2, LT3, LT6, LT7, LT9, LT11, LT13, LT14, LT15, LT17, LT19, LT20, LT24, LT25, LT26, LT27, LT31, LT36, LT38, LT49 y LT51, en las cuales la media de los elementos detectados es la siguiente: C 70.6335 ± 1.9831 , N 0.6386 ± 2.0699 , O 28.9235 ± 2.0199 , Na 0.0884 ± 0.1219 , S 0.0427 ± 0.0501 , P 0.0112 ± 0.0295 , Cl 0.1181 ± 0.5014 , K 0.0908 ± 0.0289 , Ca 0.0656 ± 0.0546 ; el segundo grupo está compuesto por las muestras LT4, LT5, LT8, LT10, LT12, LT16, LT18, LT21, LT22, LT23, LT28, LT29, LT30, LT32, LT33, LT34, LT35, LT37, LT39, LT40, LT41, LT42, LT43, LT44, LT45, LT46, LT47, LT48, LT50, LT52, LT53, LT54 y LT55, en las cuales la media de los elementos C 63.6610 ± 3.0020 , Na 0.0799 ± 0.1014 y S 0.0408 ± 0.0382 tienen valores menores que en el grupo 1, los demás están por encima del porcentaje detectado N 4.6361 ± 3.9157 , O 34.2218

± 2.9555 , P 0.0212 ± 0.0358 , Cl 0.1230 ± 0.0658 , K 0.1038 ± 0.0395 , Ca 0.0689 ± 0.0320 , en esta zona no se detectó Mg en ninguna de las muestras.

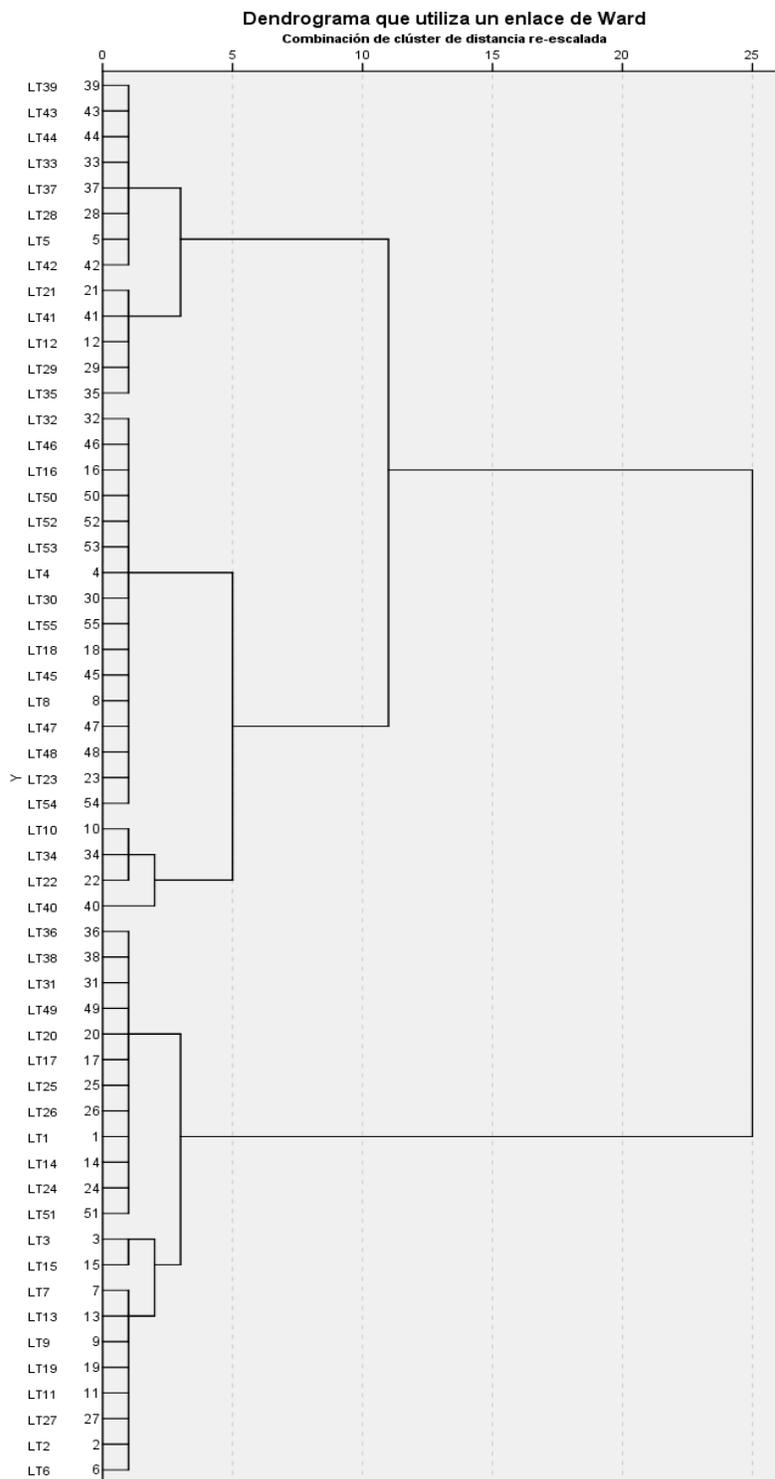


Figura 3.25 Dendrograma ZMVT

Posteriormente, se realizó un gráfico de dispersión agrupada (Figura 3.26) en el que usando el factor 2 y 3 podemos observar como la tendencia del grupo 1 de muestras representadas en círculos azules está por debajo de valores 0.0 y como las muestras del grupo 2 representadas por los círculos rojos tienden a estar por encima de los valores menores a 0.0.

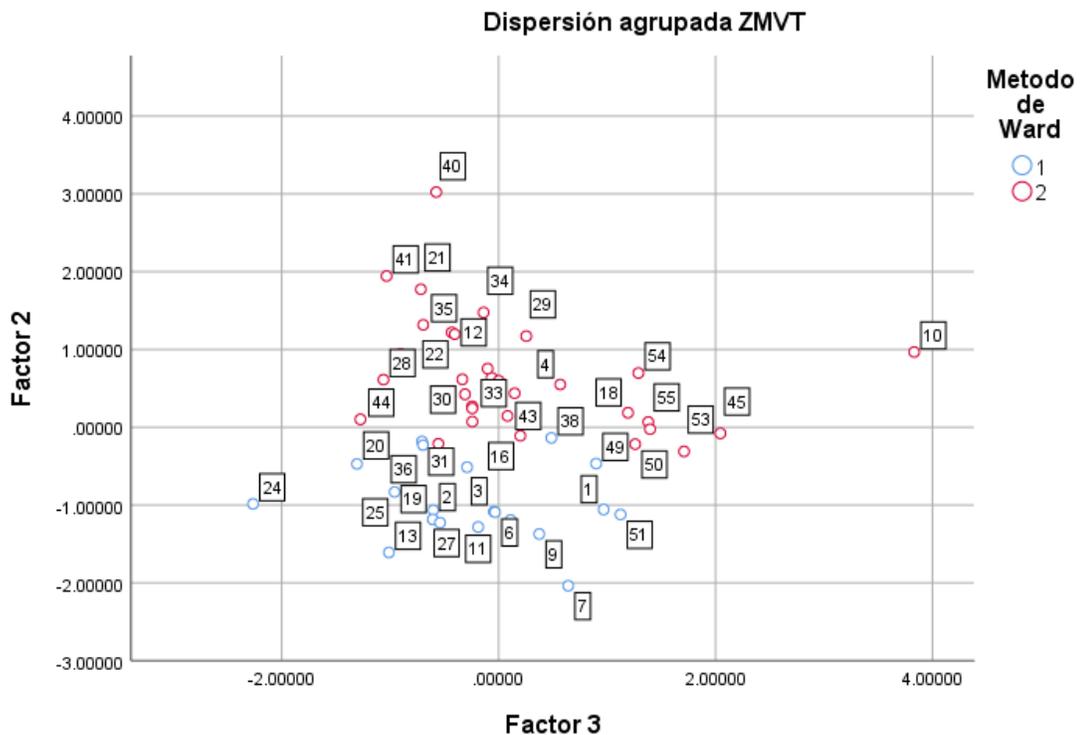


Figura 3.26 Gráfico de dispersión ZMVT

Posteriormente también se realizó graficas de dispersión de cada uno de los elementos con respecto a los dos grupos obtenidos. En la Figura 3.27 observamos la dispersión del carbono en la ZMVT, del cual el grupo 1 tiende a estar entre el 70.0 al 80.0 de porcentaje atómico promedio y el grupo 2 es más bajo con valores entre el 50.0 y 70.0%.

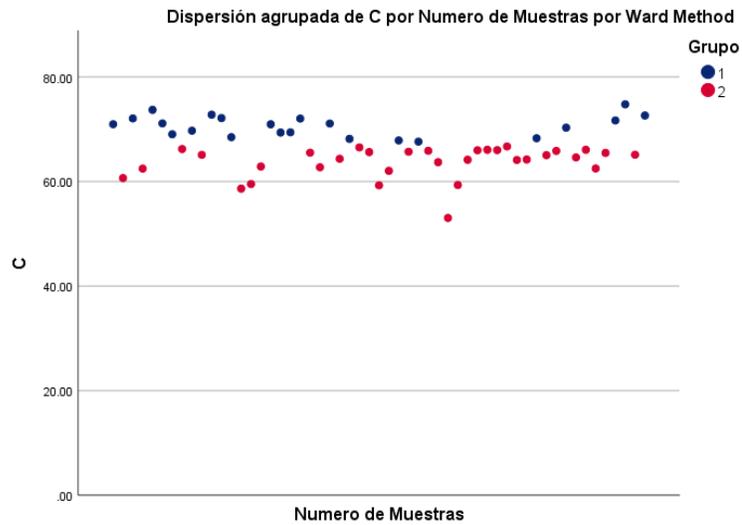


Figura 3.27 Dispersión del C ZMVT

En la Figura 3.28 se presenta al nitrógeno, este elemento fue mayormente detectado en el grupo 2 de la ZMVT con una tendencia de 5.0 a 9.0%, en el grupo 1 solo se detectó en dos muestras, a diferencia del carbono que fue detectado en todas las muestras.

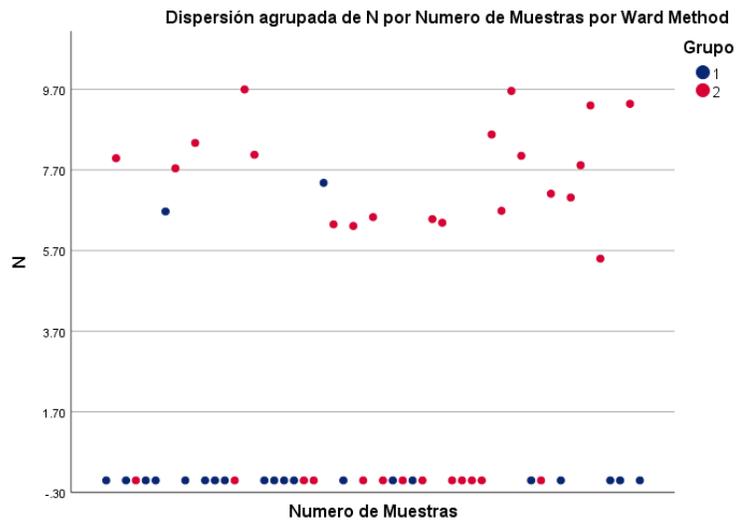


Figura 3.28 Dispersión del N ZMVT

El oxígeno (Figura 3.29) también se detectó en todas las muestras; sin embargo, contrario al carbono, se observa un porcentaje más alto en el grupo 2 que va de 30.0 a 40.0% y el grupo 1 tiene más tendencia entre 20.0 a 30.0%.

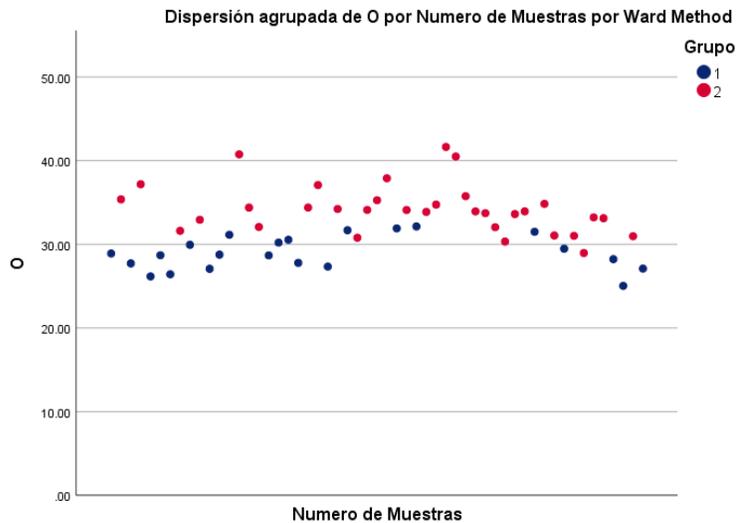


Figura 3.29 Dispersión del O ZMVT

El sodio (Figura 3.30) se detectó en más muestras del grupo 2 que en el grupo 1, pero su tendencia es muy similar en ambos grupos, con porcentajes del 0.10 al 0.30%.

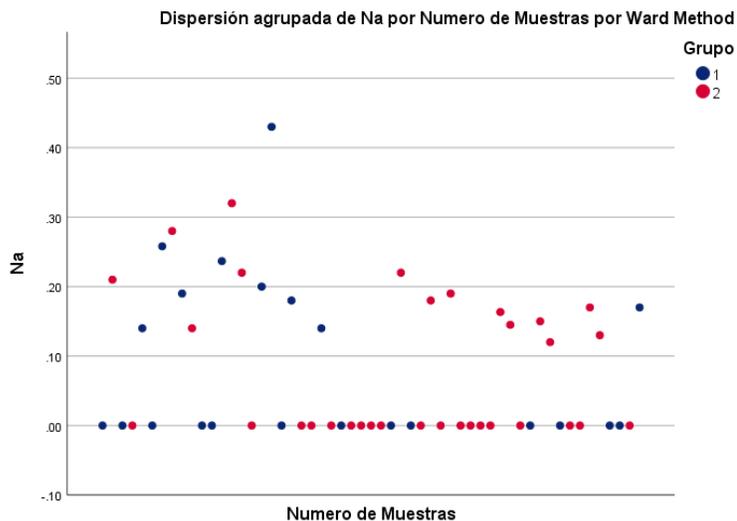


Figura 3.30 Dispersión del Na ZMVT

El azufre (Figura 3.31) de igual manera que en los dos elementos anteriores se detectó en más muestras del grupo 2, pero la tendencia de ambos grupos va del 0.004 al 0.14%.

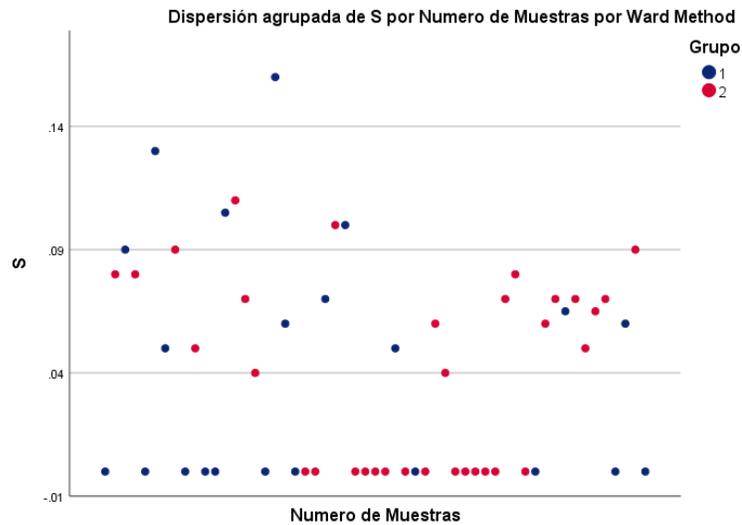


Figura 3.31 Dispersión del S ZMVT

El fósforo (Figura 3.32) fue detectado en más muestras del grupo 2, similar al sodio, la tendencia del porcentaje va del 0.05 al 1.0 %.

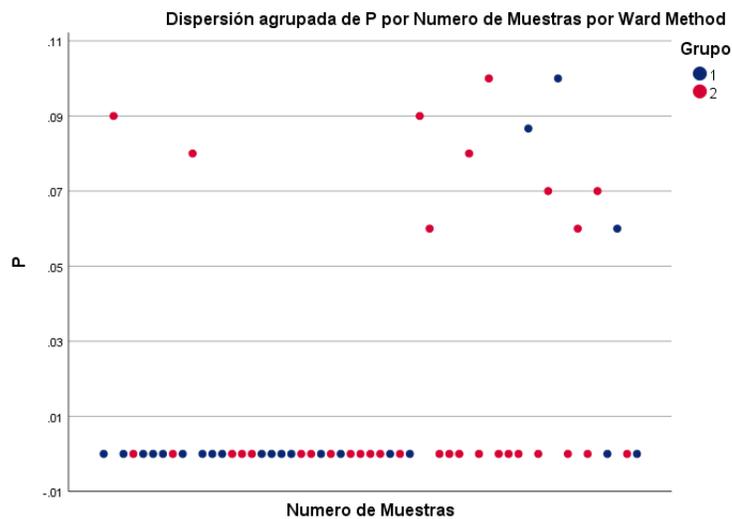


Figura 3.32 Dispersión del P ZMVT

En la Figura 3.33 tenemos al cloro, elemento que solo no fue detectado en 2 muestras y es ligeramente más alta la concentración detectada en el grupo 2, sin embargo, ambos grupos se encuentran entre los rangos de 0.09 a 0.30% de detección.

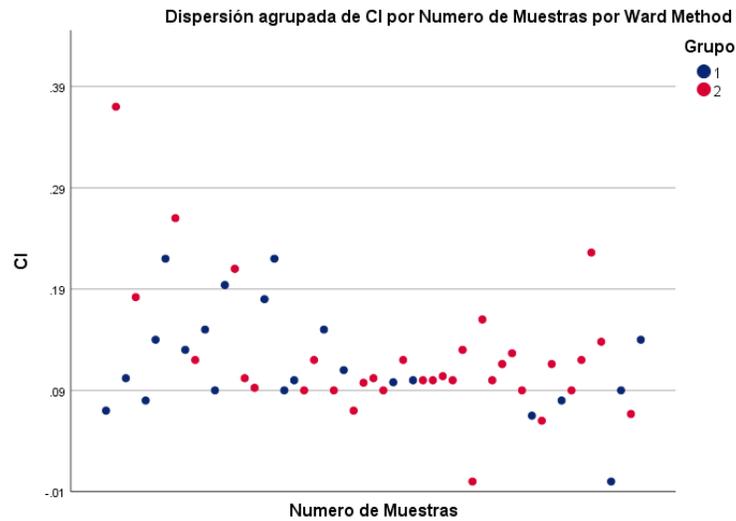


Figura 3.33 Dispersión del Cl ZMVT

El potasio (Figura 3.34) presenta una tendencia muy similar en ambos grupos, con rango de 0.04 a 0.14% en la mayoría de las muestras.

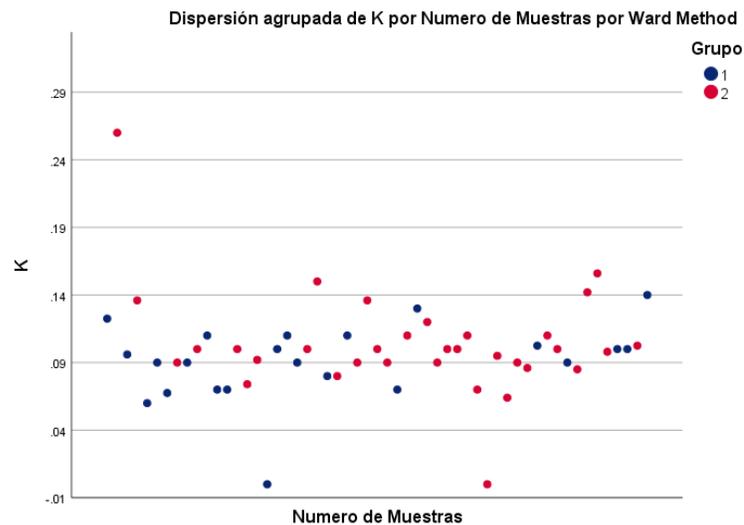


Figura 3.34 Dispersión del K ZMVT

Finalmente, el calcio (Figura 3.35) también presenta similitud al comportamiento del potasio, ambos grupos predominan en el rango de 0.04 a 0.14% y son pocas las muestras en las que no se detectó.

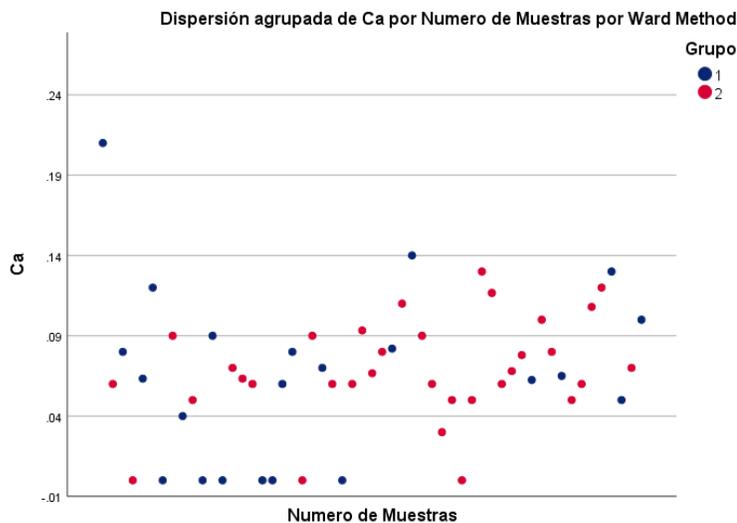


Figura 3.35 Dispersión del Ca ZMVT

El análisis de los elementos unitarios confirma la tendencia que se observa en los gráficos de dispersión agrupada de ambas zonas (MVG y ZMVT), así como la similitud de clasificar 2 grupos en cada una de ellas con respecto a los dendogramas, del cual el Mg no se detectó en las muestras de la ZMVT a diferencia del MVG. Sin embargo, de los 10 elementos detectados el C, N y O son característicos de la composición de péptidos bioactivos, aminoácidos, nucleótidos, hormonas, poliaminas, vitaminas, carbohidratos y lípidos en la leche materna, al igual que el S que forma parte de las proteínas en conjunto con los elementos antes mencionados (C, N y O). Mientras que el Ca, P, Mg, Na, Cl y K son considerados oligoelementos los cuales son sustancias químicas primordiales para el buen funcionamiento del organismo y el metabolismo [107,108,109].

3.3.2 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Las muestras analizadas por MEB a 3 diferentes aumentos, 100X, 500X y 5000X, presentan estructuras esférica aglomeradas que miden de 2 a 12 μm de diámetro en promedio, también es posible identificar estructuras rectangulares a partir de 500X pero en un número menor de muestras, estas miden entre 6 a 18 μm de largo y entre 1 a 3 μm de ancho, dichas estructuras se aglomeran debido a la cristalización de la grasa y al proceso de secado, esto ha sido reportado utilizando temperaturas de entre 20 a 30 °C [110,111]. Sin embargo, debido a la sensibilidad de las muestras al calor hubieron algunas que a 5000X presentaron degradación durante el análisis después de algunos segundos de incidencia del haz de electrones, para evitar el deterioro se disminuyó la potencia del haz y el tiempo de exposición.

Se clasificaron las micrografías de acuerdo con los grupos obtenidos con el análisis de conglomerados para analizar si la estructura varía conforme al contenido de los elementos detectados. Adicionalmente, en este trabajo se utilizaron los resultados del contenido de grasa obtenidos previamente por Sánchez en las muestras de estudio (2021). En dónde el valor promedio para MVG es de 4.20 ± 1.86 mientras que para ZMVT es de 3.81 ± 1.67 , a pesar de que aparentemente la diferencia no es tan grande entre las muestras de ambas zonas, si se observan algunos cambios entre un grupo de muestras y otro, por esta razón, se analizaron individualmente las muestras [112].

En la Figura 3.36 se agruparon las 29 muestras que conforman al primer conjunto del MVG, las cuales presentan una media de contenido de grasa de $3.29 \text{ g/mL} \pm 1.246$ con un rango de 1 a 6 g/mL, con respecto a la grasa de la leche de las donantes (anexo Figura 1 a), se observan a un aumento de X500, principalmente se encontraron estructuras aglomeradas características de muestras grasosas, sin embargo, en las Figuras 3.36 D, G, N, Ñ, O, X y Y que corresponden a las muestras LV 6, 13, 25, 26, 29, 46 y 48 respectivamente se observan estructuras lisas con pocas aglomeraciones y no se observan estructuras rectangulares.

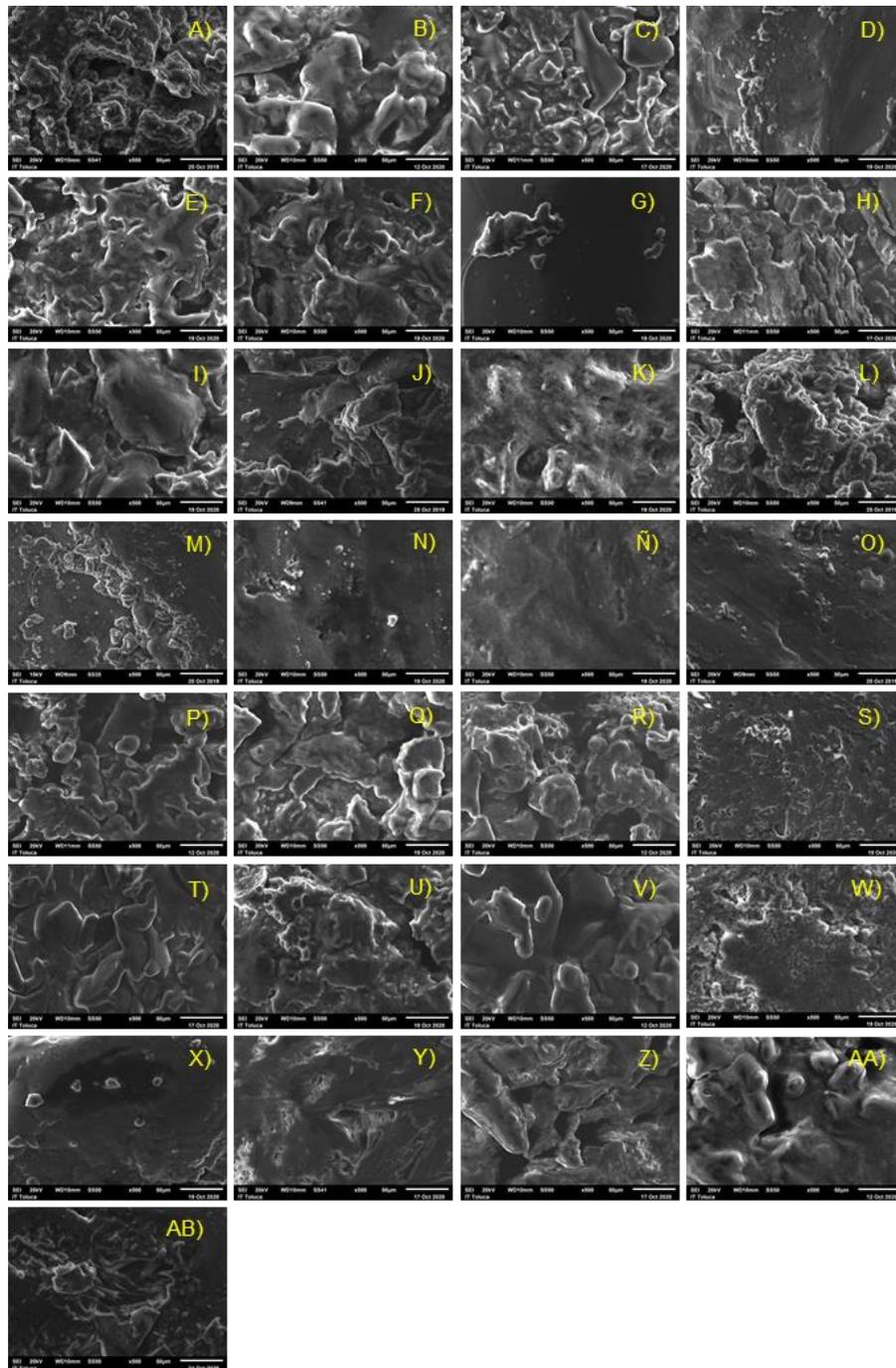


Figura 3.36 Micrografías del Grupo 1 a 500X

El segundo grupo perteneciente al MVG (Figura 3.37) se agruparon las 26 muestras que conforman al segundo conjunto del MVG, las cuales presentan una media de 5.06 g/mL \pm 2.02 con un rango de 1 a 10 g/mL, con respecto a la grasa de la leche de las donantes (anexo Figura 1 b); se observan estructuras aglomeradas a excepción de la Figura 3.37 V que corresponde a la muestra LV 49 en la cual se ven estructuras esféricas huecas, la temperatura usada para secar las muestras fue la misma; sin embargo, a simple vista la textura es más polvosa; también se observan estructuras rectangulares correspondientes a la cristalización de la grasa como resultado del secado Figuras 3.37 C, D, F, J, L, O y Q).

La diferencia principal entre los dos grupos es la aparición de las estructuras rectangulares que pueden atribuirse a la presencia de grasa en las muestras.

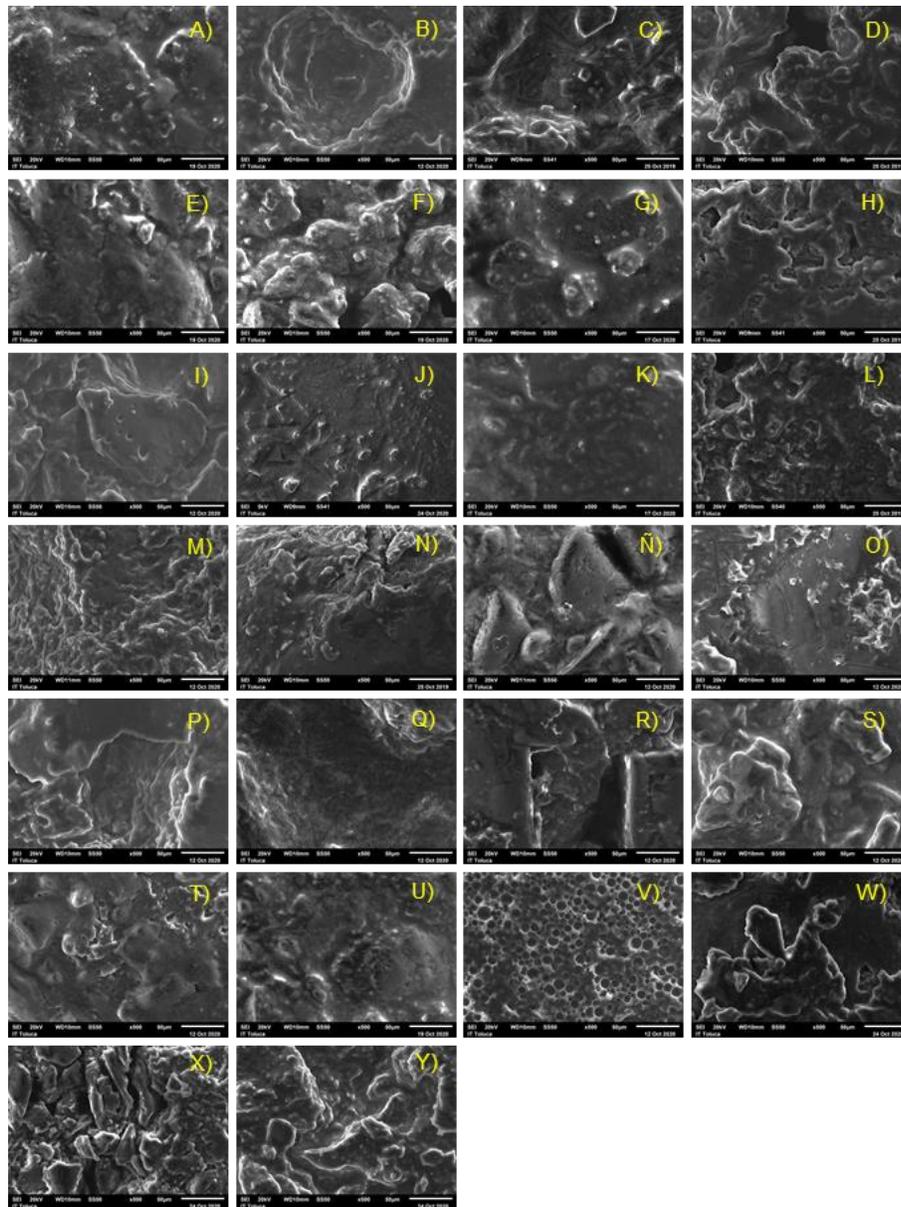


Figura 3.37 Micrografías del Grupo 2 a 500X del MVG

En la Figura 3.38 se agruparon las 22 muestras que conforman al primer conjunto de la ZMVT, cuyas estructuras con diferentes morfologías presentan tamaños promedio de 2.3 a 11.8 μm a 500X, similares a las encontradas en las muestras de MVG, además se presentan estructuras aglomeradas sobre superficies lisas. En la Figura 3.38 Ñ se observan formaciones similares, pero con la presencia de algunas cavidades. En las

Figuras 3.38 E, N, P y R que corresponden a las muestras LT 7, 24, 27 y 36 respectivamente se aprecian estructuras rectangulares; este grupo de muestras presentan (anexo Figura 2 a), una media de contenido de grasa de $4.14 \text{ g/mL} \pm 1.698$ en un rango de 1 a 9 g/mL.

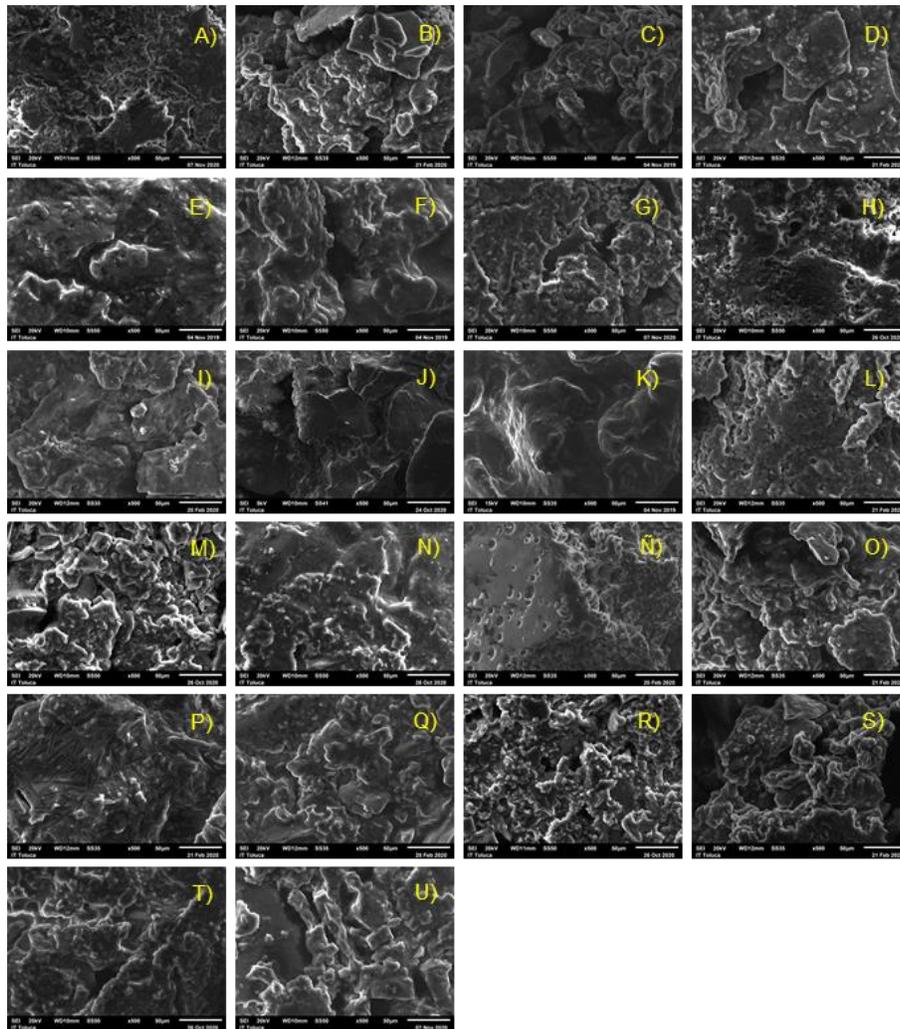


Figura 3.38 Grupo 1 ZMVT a 500X

En la Figura 3.39 se muestran las 33 muestras que conforman al segundo conjunto de muestras de la ZMVT, las cuales presentan estructuras con diferentes morfologías, diámetros y longitudes que van de 2.1 a $10.37 \mu\text{m}$. A 500X, en la mayoría de las micrografías se observan estructuras con superficie lisa cubiertas con material particulado de menor tamaño, a diferencia del grupo anterior, se encuentra un mayor

número de muestras con estas características; este conjunto de muestras presentan en promedio de 3.67 g/mL de contenido de grasa (anexo Figura 2 b).

.

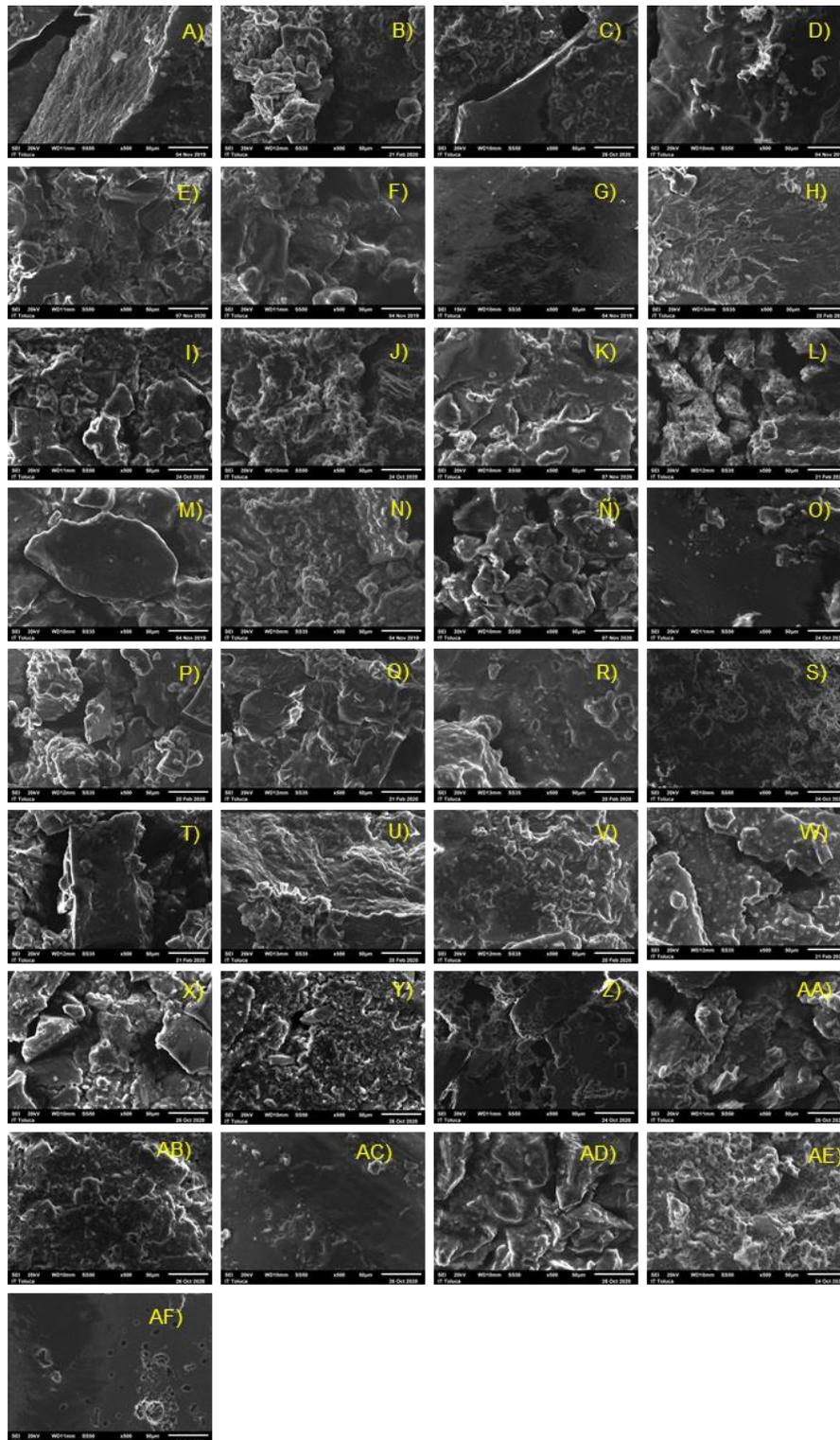


Figura 3.39 Micrografías del Grupo 2 de la ZMVT a 500X

La diferencia principal se observa en el grupo 1, el cual presenta algunas estructuras de mayor tamaño que en el grupo 2 de la ZMVT.

A 5000X, igualmente utilizando la clasificación por grupos obtenida del análisis factorial, el acercamiento se hizo en diminutas cavidades o en las algunas de las paredes de las estructuras que se encuentran aglomeradas, ya que en la superficie no se distinguían claramente la estructuras de los cristales.

En el primer grupo del MVG (Figura 3.40) se aprecian mejor las estructuras rectangulares que miden entre 5.8 a 17 μm de largo y entre 1.1 a 2.8 μm ancho, sin embargo, en las Figuras 3.40 B, H, L, M, Q, R, T, V, X, Z y AA que corresponden a las muestras LV 2, 15, 22, 24, 34, 36, 40, 42, 46, 50 y 51 respectivamente la sensibilidad de muestra al calor provocó el desvanecimiento de los cristales en el momento de la captura de imagen.

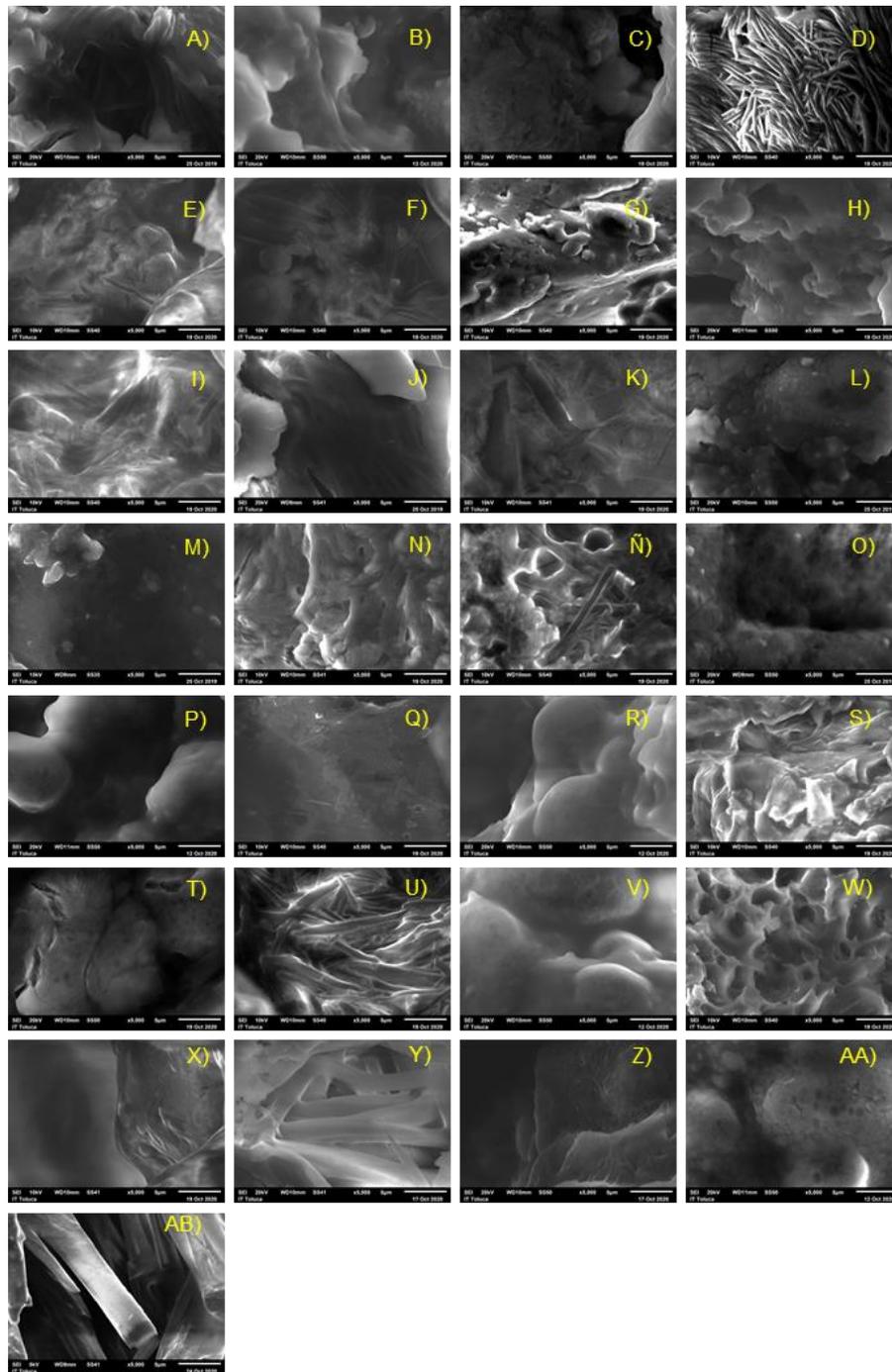


Figura 3.40 Grupo 1 MVG a 5000X

En el segundo grupo del MVG (Figura 3.41) se observan también las estructuras rectangulares que miden entre 6.3 a 17.8 μm de largo y entre 1 a 2.6 μm promedio, sin

embargo en las Figuras 3.41 C, D, H, I, L, M, Ñ, P, Q, R, S, T y V que corresponden a las muestras LV 7, 8, 16, 19, 27, 28, 30, 35, 37, 39, 43, 45 y 49 respectivamente, la sensibilidad de muestra al calor provoco el desvanecimiento de los cristales en el momento de la captura de imagen; en la Figura 3.41 X que corresponde a la muestra LV 53 podemos observar además de las estructuras rectangulares, una estructura esférica que miden entre 5 a 8.9 μm promedio de diámetro y que corresponde de igual manera a la cristalización de la grasa al momento de llevar la leche a un proceso de secado por calor.

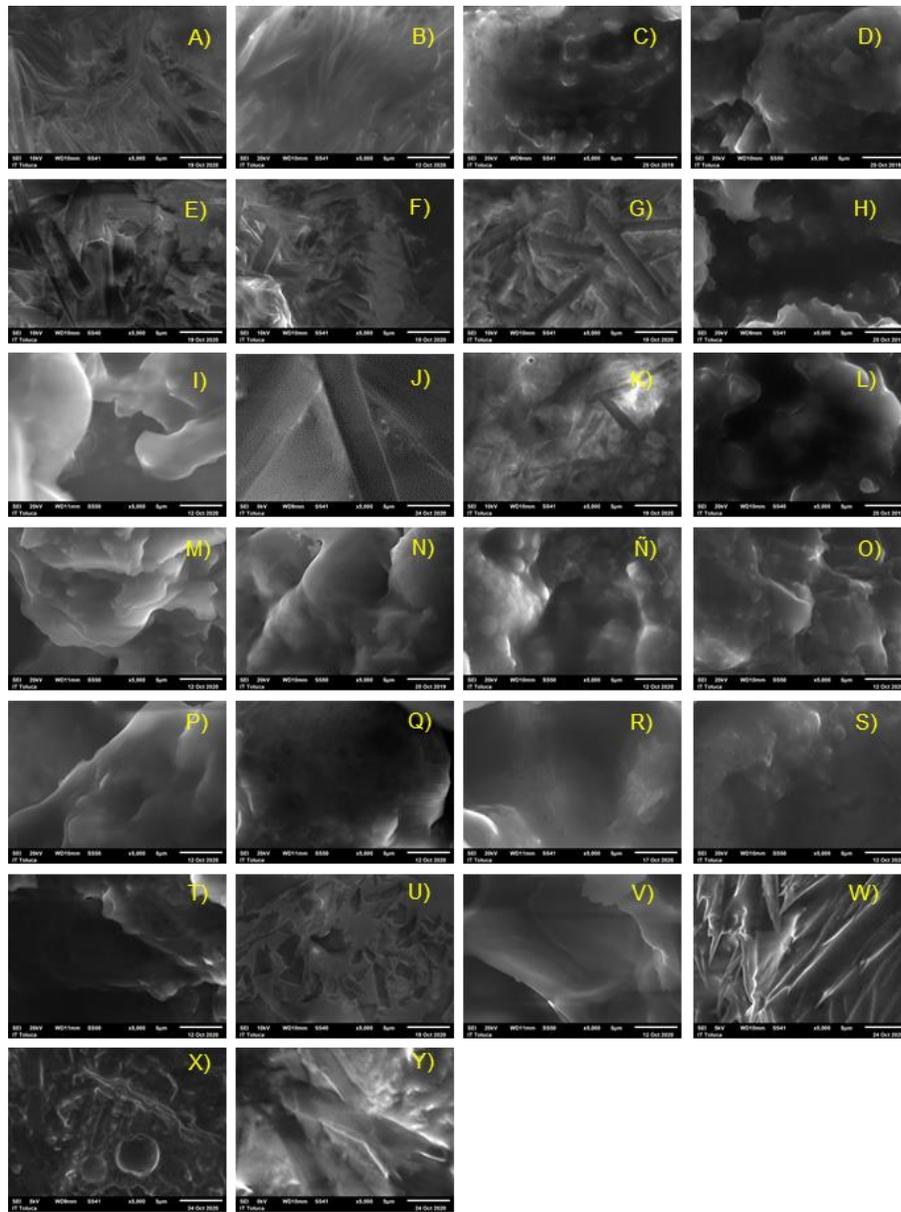


Figura 3.41 Grupo 2 MVG a 5000X.

En el primer grupo de la ZMVT (Figura 3.42) se observan estructuras lobulares (Figura 3.42 R y T, que corresponden a las muestras LT36 y LT49) que miden entre 4.6 a 8.7 μm de diámetro. Adicionalmente se tiene presencia de cristales rectangulares que miden de 6 a 17.6 μm de largo y entre 1 a 2.7 μm ancho.

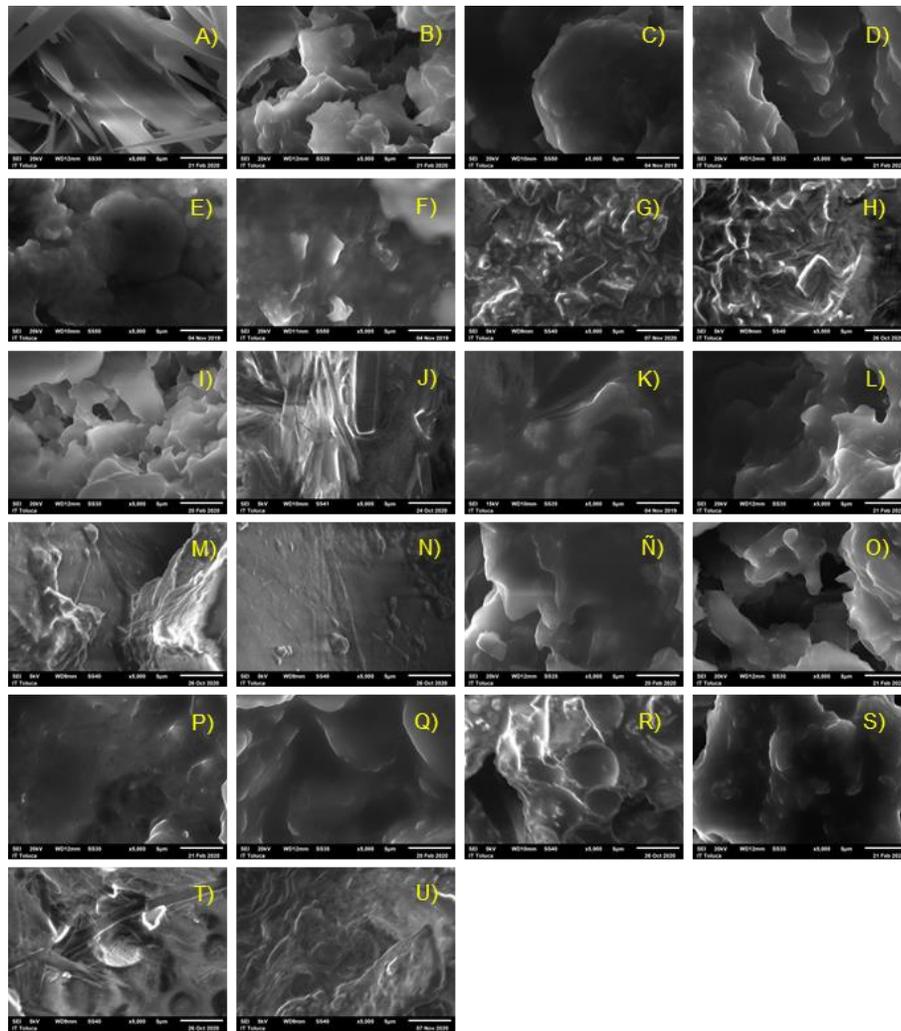


Figura 3.42 Micrografías del Grupo 1 de la ZMVT a 5000X.

El segundo grupo (Figura 3.43) de la ZMVT, presenta en algunas muestras estructuras esféricas (Figura 3.43 M), con diámetro en un rango de entre 5 a 9.3 μm . También se observan estructuras alargadas rectangulares y cúbicas que miden de 6 a 17.6 μm de largo y de 1 a 2.7 μm de ancho. Cabe señalar que algunas de las muestras durante el análisis presentaron cierta dificultad para su análisis debido a que por su fragilidad sufren daño las estructuras al contacto con el haz de electrones, dicho efecto puede observarse en las Figuras 3.43 B y L.

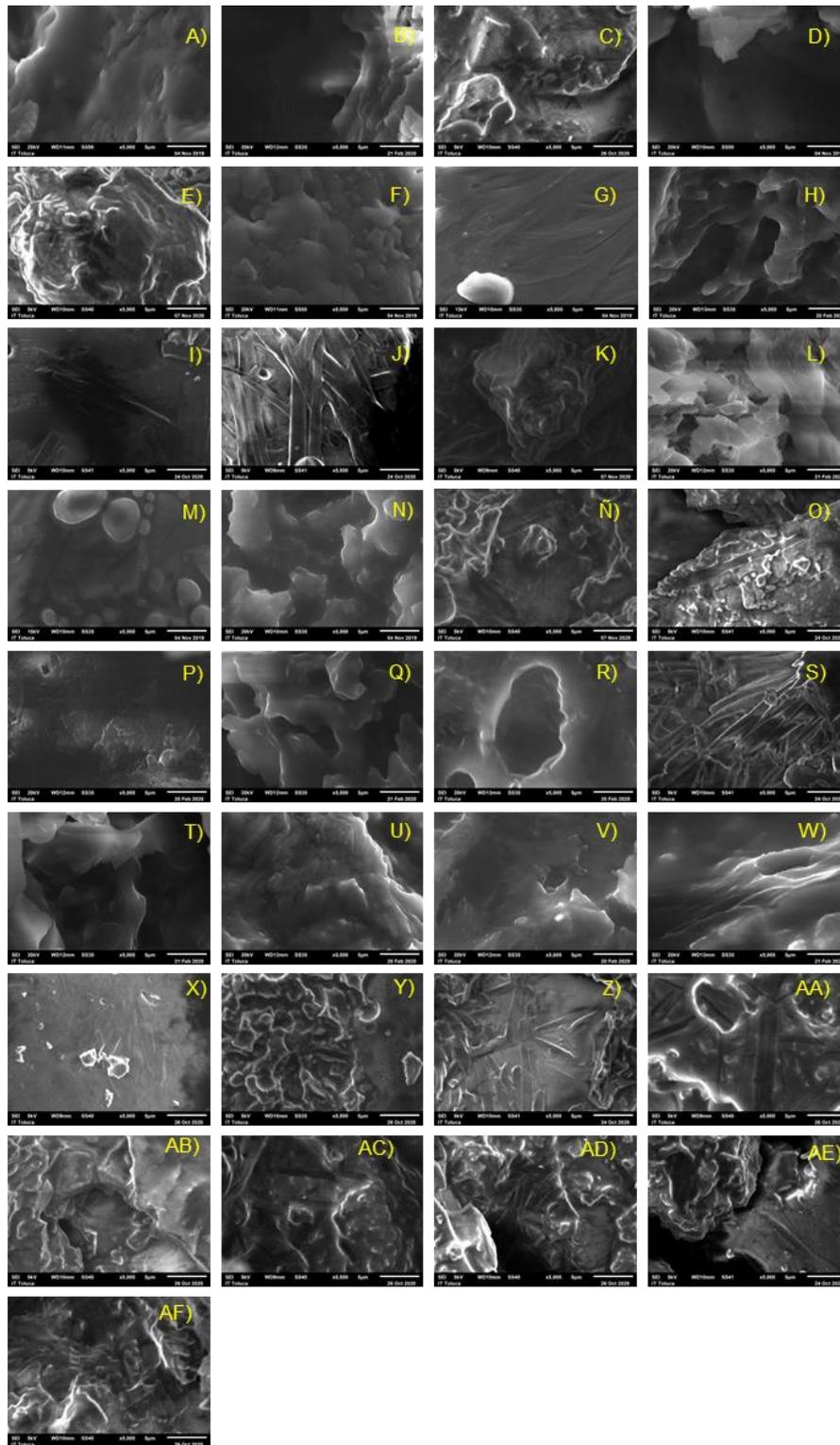


Figura 3.43 Micrografías del Grupo 2 de la ZMVT a 5000X

3.3.3 Espectroscopía de Infrarojo con Transformada de Fourier (FTIR)

El IR se ha utilizado en estudios recientes para identificar la presencia de macronutrientes presentes en la leche materna, encontrándose principalmente grupos funcionales pertenecientes a las proteínas, grasas y la lactosa. La vibración a 3360 cm^{-1} corresponde a los grupos hidroxilos O-H de los carbohidratos, mientras que las vibraciones de 2920 a 2855 cm^{-1} corresponden al estiramiento débil del grupo alifático CH_2 , los compuestos orgánicos como azúcar y proteínas en la leche, corresponden a la vibración a 1644 cm^{-1} correspondientes al anillo de la galactosa C-O, la vibración a 1368 cm^{-1} corresponde al estiramiento simétrico de los grupos $-\text{COO}$, y la vibración de 1025 cm^{-1} corresponde al estiramiento de $-\text{C-O}$ presente en la lactosa, la vibración de 888 cm^{-1} puede ser atribuida a los restos del residuo de serina fosfato PO_3^{2-} , la vibración de 777 cm^{-1} corresponde a la presencia de enlaces alfa glucosídicos $-\text{OH}$ y la vibración de 627 cm^{-1} corresponde al estiramiento de haluros de alquilo C-H-X ($\text{X}=\text{átomo de halógeno}$) [113,114].

Los espectros IR de cada muestra de las dos zonas de estudio se presentan en el apartado de anexos (Figuras 3, 4, 5, 6, 7 y 8) en donde se observa que existe variación en las intensidades de cada pico, conservando las mismas posiciones en todas las muestras de estudio, un ejemplo de esta diferencia se observa en la Figura 3.44 donde se tienen los espectros de 2 muestras representativas, en la primera se puede observar menor intensidad en comparación con la segunda, una primer vibración se encuentra a 3360 cm^{-1} y corresponde a los carbohidratos (círculos verdes), posteriormente en los círculos azules que abarcan la región de 2920 a 2855 cm^{-1} es atribuido a los azúcares y proteínas, así como en el pico a 1644 cm^{-1} que se atribuye a la galactosa (círculos morados) y finalmente a 1025 cm^{-1} (círculos amarillos) el pico atribuido a la lactosa.

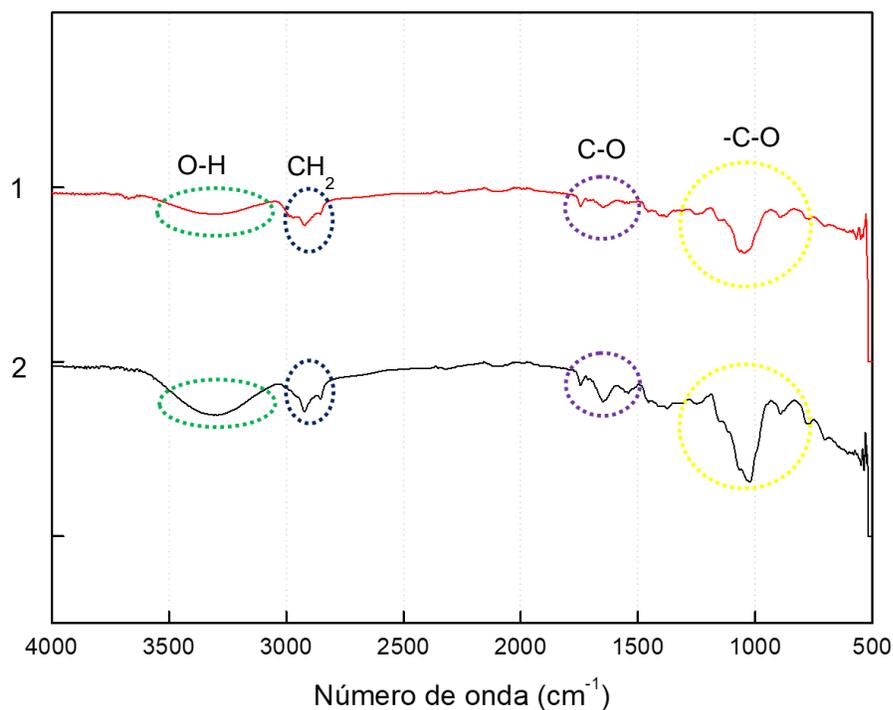


Figura 3.44 FTIR Comparación de la intensidad

3.3.4 Frecuencia de hábitos de consumo

En la Figura 3.45 se evalúa el consumo de pescado y sus derivados a la semana que presentaron las donantes durante su embarazo en el MVG, la primer barra con un porcentaje de 29.1% corresponde a las donantes que nunca consumen pescado, la segunda con 52.7% presenta a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la tercera con 12.7% nos indica las que al menos lo consumen 1 vez a la semana, la cuarta, quinta y sexta barras con 1.8% cada una, muestran que las donantes que consumen dos veces, más de dos veces y las alérgicas respectivamente.

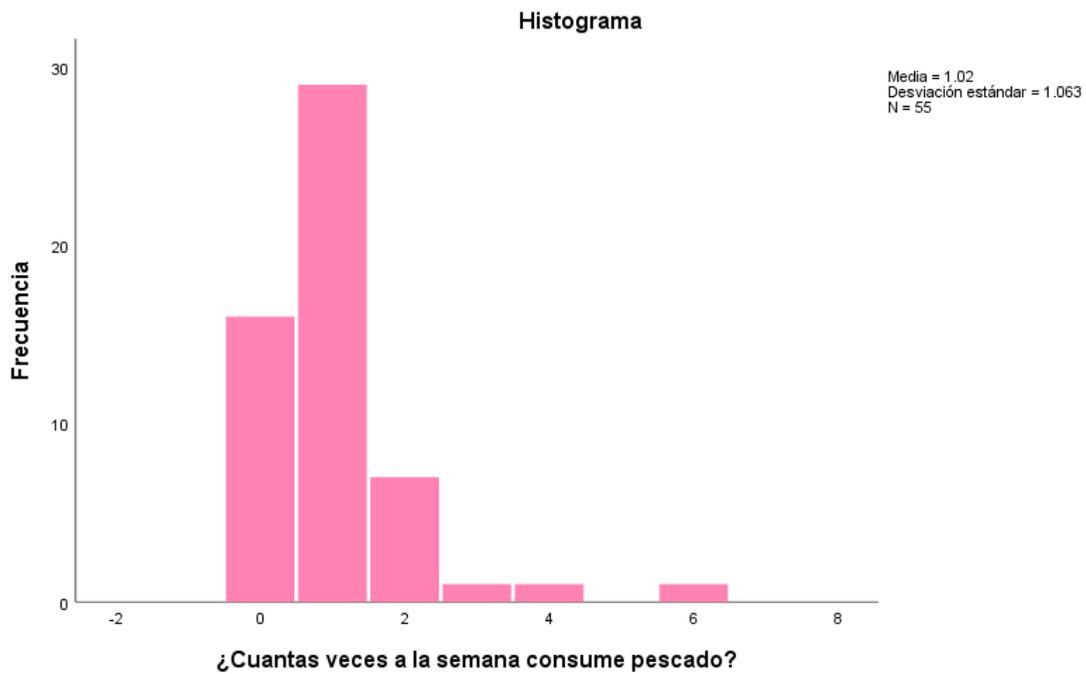


Figura 3.45 Histograma MVG (pescado)

En la Figura 3.46 se presenta el consumo de lácteos y sus derivados a la semana de las donantes durante su embarazo en el MVG, la primer barra con un porcentaje de 5.3% corresponde a las donantes que nunca consumen lácteos, la segunda con 1.8% presenta a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la tercera, cuarta y quinta con 18.2% representa a las donantes que al menos lo consumen 1 vez a la semana, dos veces y más de dos veces respectivamente, finalmente la sexta barra indica que el consumo diario es del 38.2%.

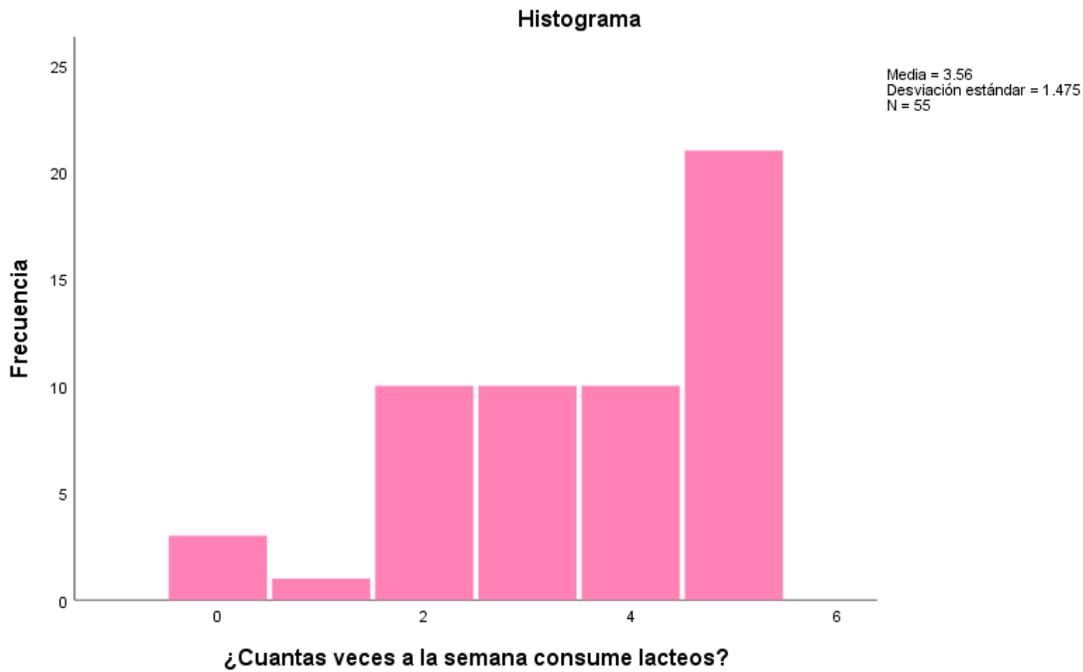


Figura 3.46 Histograma MVG (lácteos)

En la Figura 3.47 se observa el consumo de carne y sus derivados semanalmente durante el embarazo en el MVG, la primer barra con un porcentaje de 1.8% corresponde a las donantes que nunca consumen carnes, la segunda con 3.6% presenta a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la tercera con 29.1% representa a aquellas donantes que al menos lo consumen 1 vez a la semana, la cuarta con 30.9% muestra que el consumo es de dos veces, la quinta con 18.2% es de más de dos veces a la semana, finalmente la sexta barra indica que el consumo diario es del 16.4%.

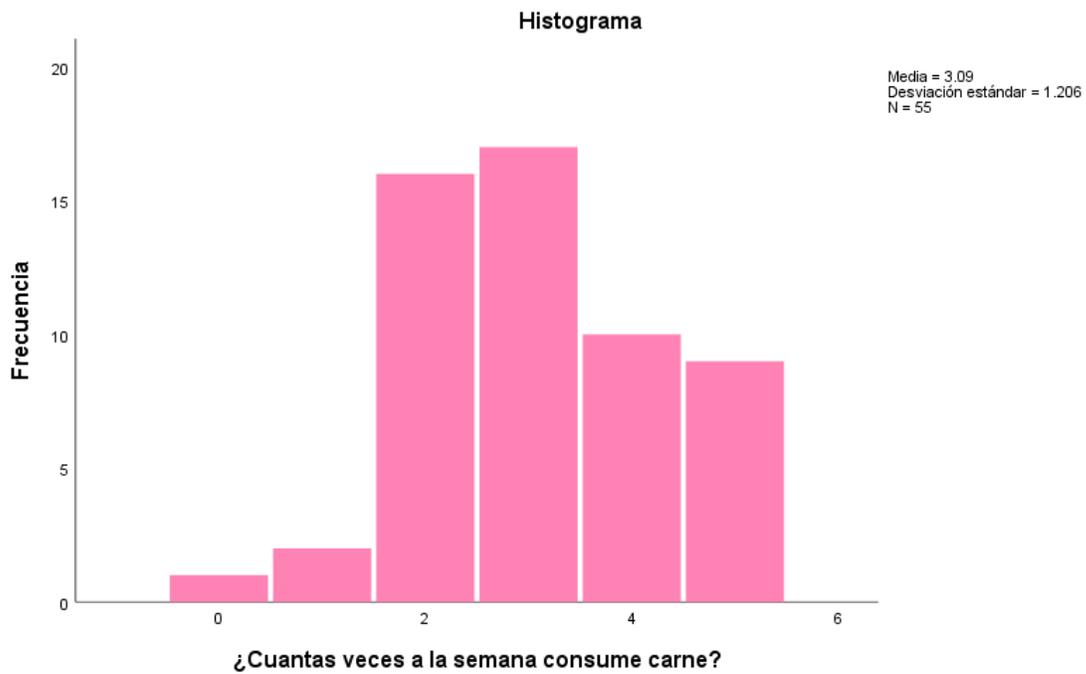


Figura 3.47 Histograma MVG (carne)

El consumo de huevo de las donantes durante su embarazo en el MVG se presenta en la Figura 3.48, la primer barra con un porcentaje de 9.1% corresponde a las donantes que nunca consumen huevo, la segunda con 20% presenta a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la tercera y cuarta con 25.5% indica las que al menos lo consumen 1 vez y dos veces a la semana respectivamente, la quinta y la sexta con 9.1% más de dos veces a la semana y diario, finalmente la sexta con 1.8% indica a aquellas donantes que son alérgicas.

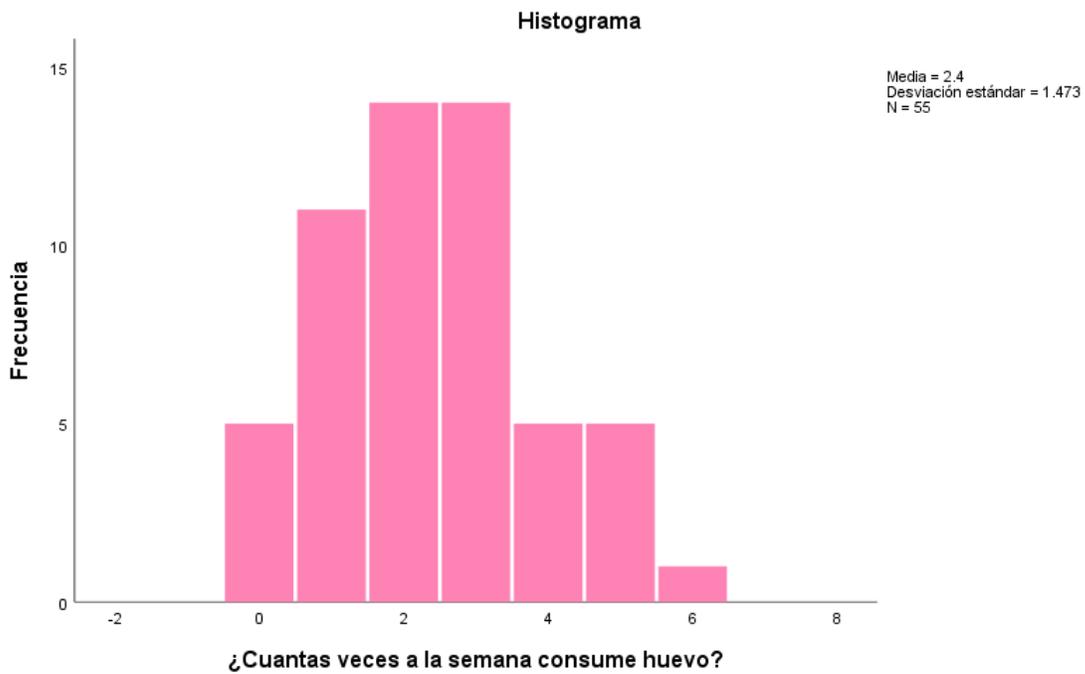


Figura 3.48 Histograma MVG (huevo)

En la Figura 3.49 se tiene el consumo de agua de las donantes durante su embarazo en el MVG, la primer barra corresponde a las donantes que no se pudieron clasificar con un 3.6%, la segunda barra representa las que toman agua de garrafón (diversas marcas) con 20%, la tercera las que toman de la llave con 1.8%, la cuarta son las que obtienen el agua de veneros con 7.3%, la quinta es de manantiales con 20%, la sexta menciona agua potable (de casa y de purificadoras) con 43.6% y finalmente la séptima es de pozo con 3.6%.

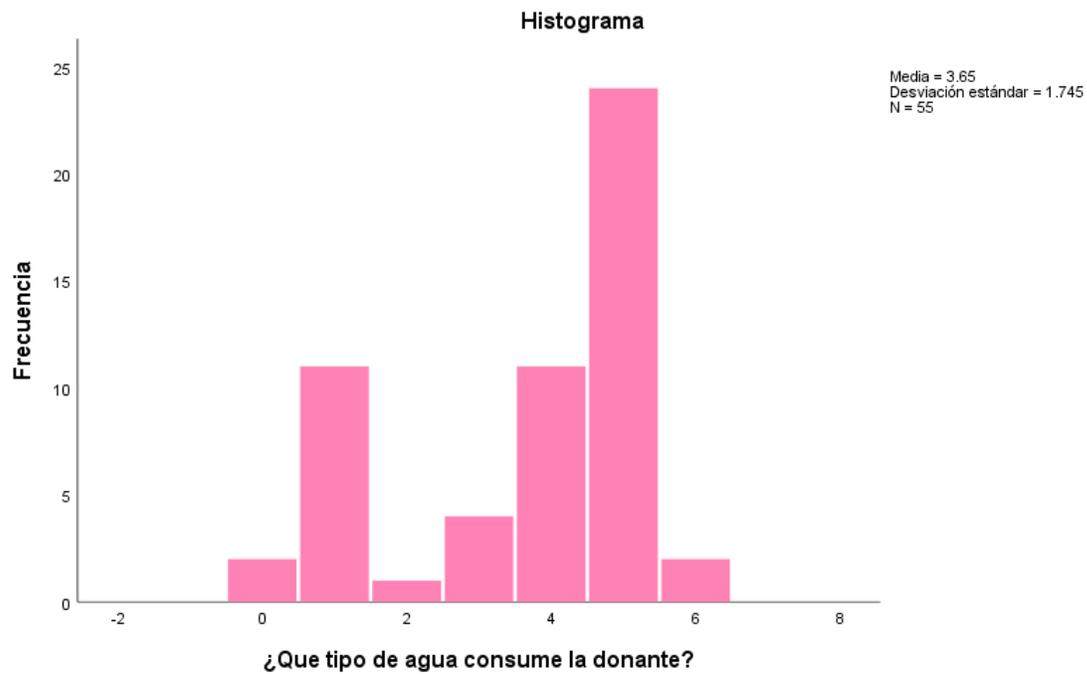


Figura 3.49 Histograma MVG (agua)

En la Figura 3.50 se observan los resultados de las donantes que han trabajado en el campo o agricultura a lo largo de su vida o durante su embarazo en el MVG, la primera barra representa a las que no se pudieron clasificar con 1.8%, la segunda con 38.2% las que si han trabajado en el campo y la tercera con 60% las que se dedican al hogar.

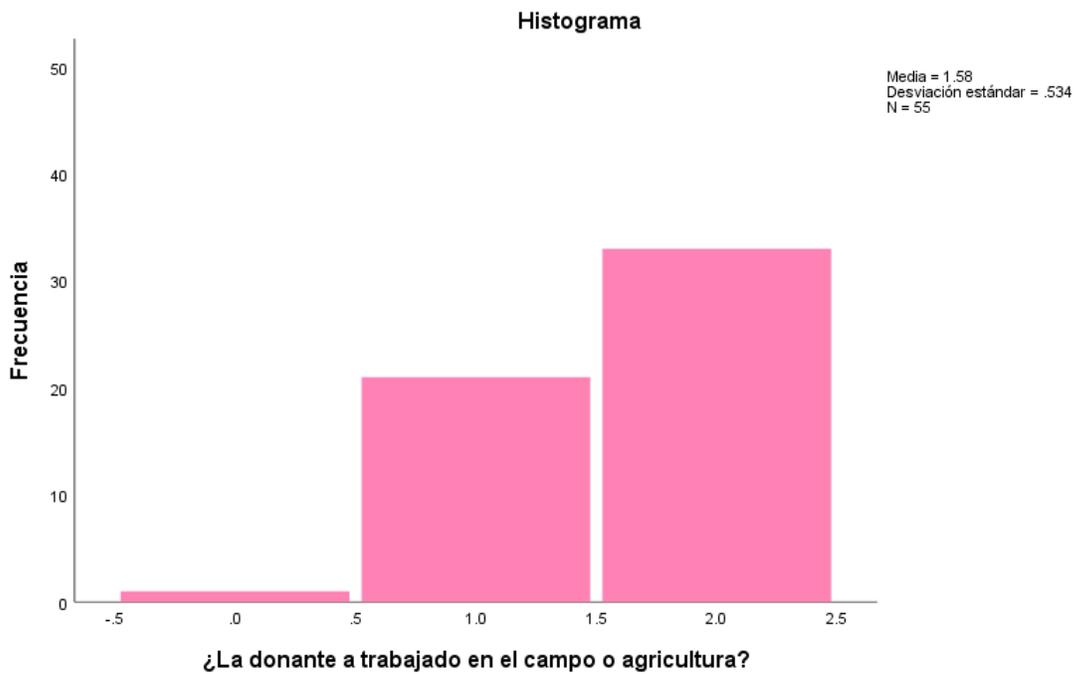


Figura 3.50 Histograma MVG (actividad económica de las donantes)

En la Figura 3.51 se evalúa si las parejas de las donantes han trabajado en el campo o agricultura en el MVG, la primer barra representa a los que no se pudieron clasificar con 5.5%, la segunda con 74.5% los que si han trabajado en el campo y la tercera con 20% las que no han trabajado en otras áreas.



Figura 3.51 Histograma MVG (actividad económica de los conyuges)

En la Figura 3.52 se analiza si las donantes han vivido cerca de algún invernadero o campo de cultivo a lo largo de su vida o durante el embarazo en el MVG, la primer barra representa a las que no se pudieron clasificar con 5.5%, la segunda con 56.4% las que viven a menos de un 1 km de distancia, la tercera con 5.5% las que viven a 1 km y la cuarta con 32.7% las que viven a más de 1 km de distancia.

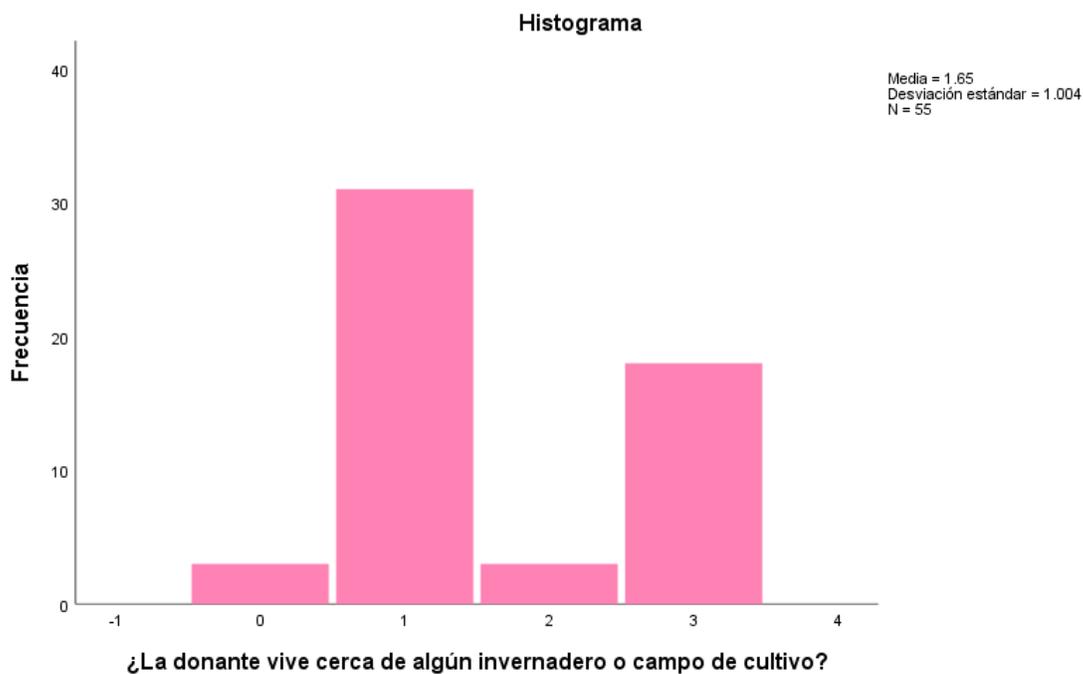


Figura 3.52 Histograma MVG (vivienda)

En la Figura 3.53 se muestra si las donantes han consumido cigarro a lo largo de su vida o durante el embarazo en el MVG, la primer barra representa a las que no se pudieron clasificar con 1.8%, la segunda con 41.8% las que si lo consumieron, la tercera con 56.4% las que no lo consumieron.

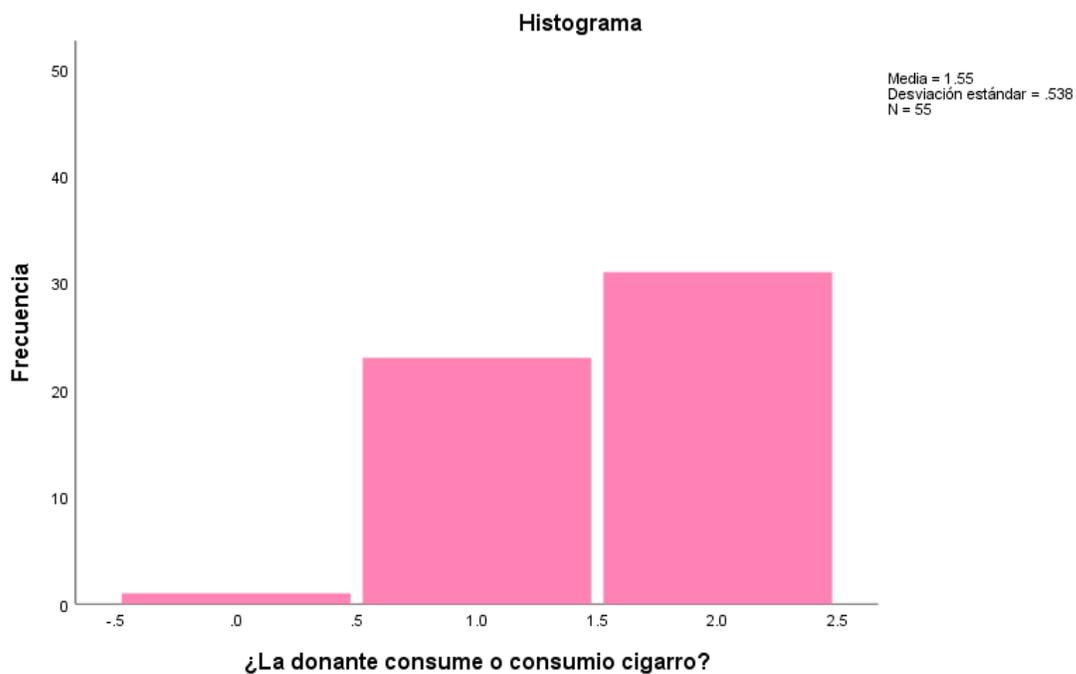


Figura 3.53 Histograma MVG (consumo de cigarro)

En la Figura 3.54 se evalúa si alguna vez se ha fumigado el hogar de la donante a lo largo de su vida o durante el embarazo en el MVG, la primer barra representa a las que no se pudieron clasificar con 3.6%, la segunda con 21.8% las que si han fumigado su hogar, la tercera con 74.5% las que no fumigan.

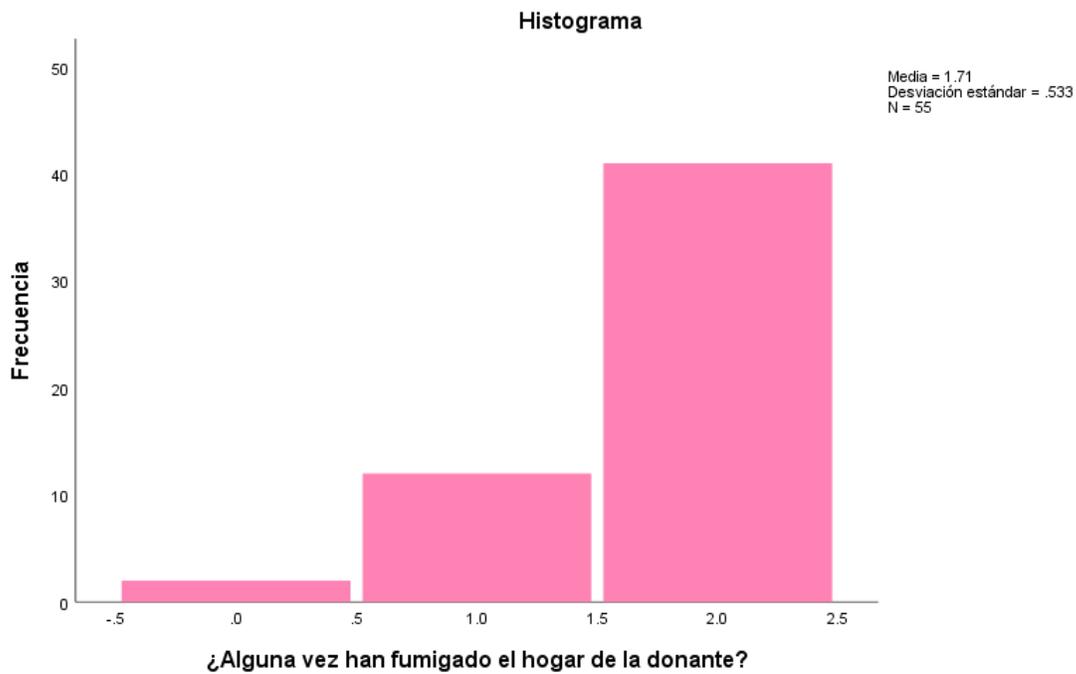


Figura 3.54 Histograma MVG (fumigación)

En la Figura 3.55 se evalúa el consumo de pescado y sus derivados durante su embarazo en la ZMVT, la primer barra con un porcentaje de 20% corresponde a las donantes que nunca consumen pescado, la segunda con 29.1% representa a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la tercera con 41.8% indica las que al menos lo consumen 1 vez a la semana, la cuarta con 5.5% las donantes que lo consumen dos veces y la quinta barra con 3.6% más de dos veces a la semana, en este caso ninguna de las donantes manifestó tener alergia a este alimento.

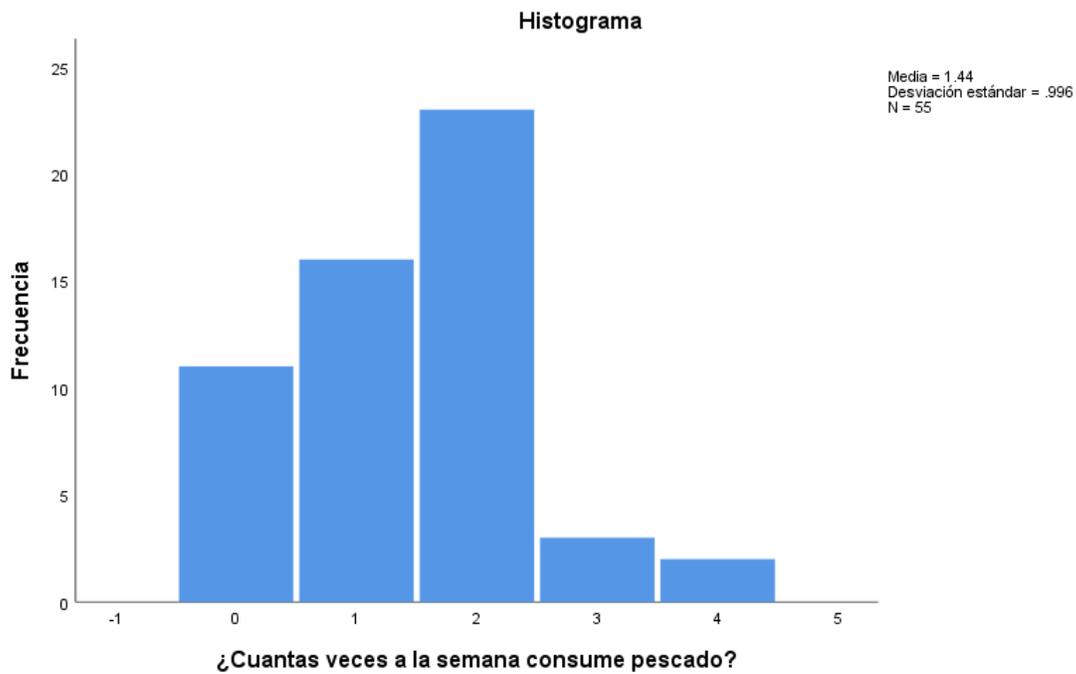


Figura 3.55 Histograma ZMVT (pescado)

En la Figura 3.56 se presenta el consumo de lácteos y sus derivados a la semana de las donantes durante su embarazo en la ZMVT, la primer barra con un porcentaje de 1.8% corresponde a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la segunda con 12.7% indica que al menos lo consumen 1 vez a la semana, la tercera con 9.1% indica las que consumen dos veces, la cuarta con 30.9% dice que el consumo fue de dos veces por semana, finalmente la quinta barra indica que el consumo diario es del 45.5%.

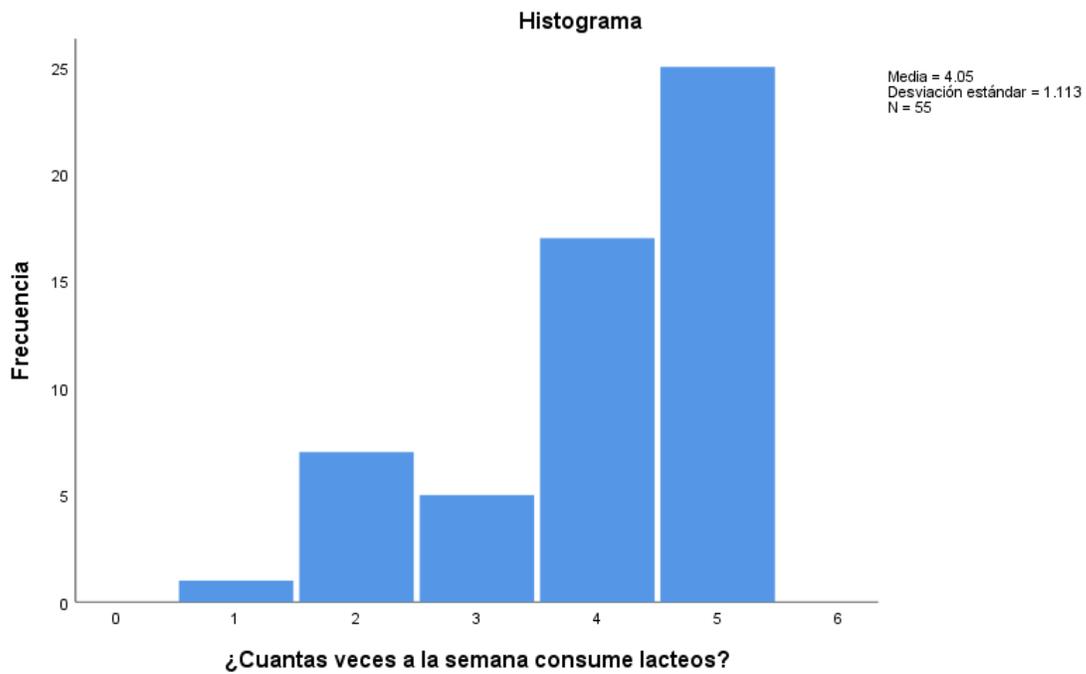


Figura 3.56 Histograma ZMVT (lácteos)

El consumo de carne y sus derivados de las donantes durante su embarazo en la ZMVT, se evalúa en la Figura 3.57, la primer y segunda barra con un porcentaje de 1.8% corresponden a las donantes que nunca consumen carne y a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la tercera con 20% indica las que al menos lo consumen 1 vez a la semana, la cuarta con 29.1% muestra que el consumo es de dos veces, la quinta con 27.3% es de más de dos veces a la semana, finalmente la sexta barra indica que el consumo diario es del 20%.

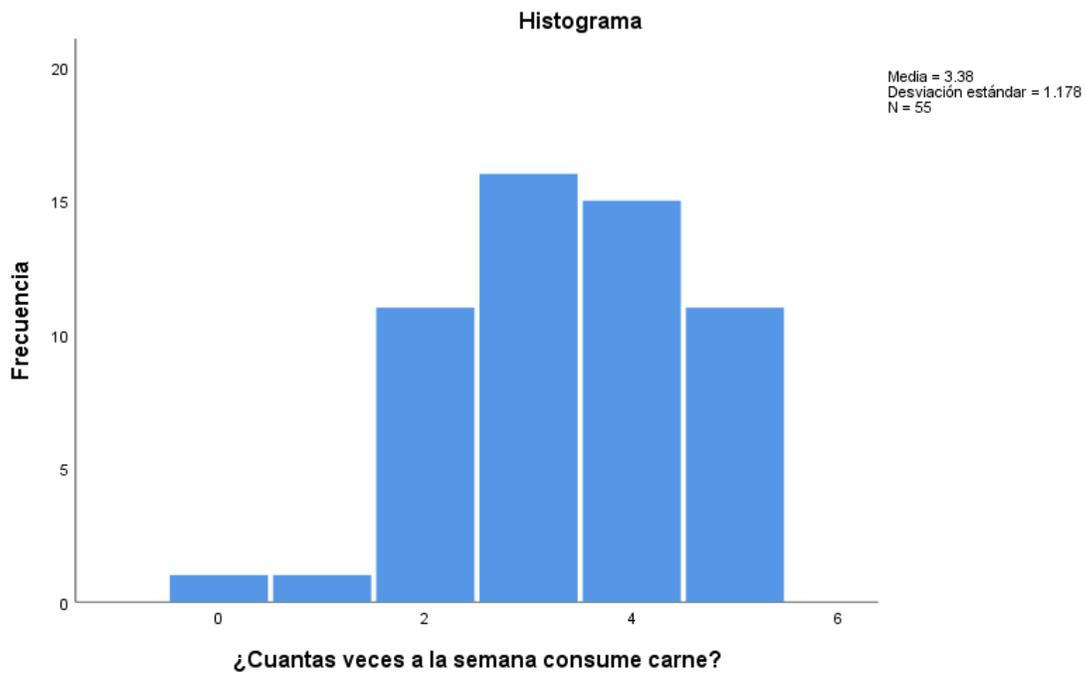


Figura 3.57 Histograma ZMVT (carne)

En la Figura 3.58 se evalúa el consumo de huevo de las donantes durante su embarazo en la ZMVT, la primer barra con un porcentaje de 9.1% corresponde a las donantes que nunca consumen huevo, la segunda con 10.9% representa a las que lo consumen menos de una vez a la semana, la tercera con 29.1% las que al menos lo consumen 1 vez, la cuarta con 25.5% indica el consumo de dos veces a la semana, la quinta con 14.5% es de más de dos veces a la semana y finalmente la sexta el consumo diario con 10.9%.

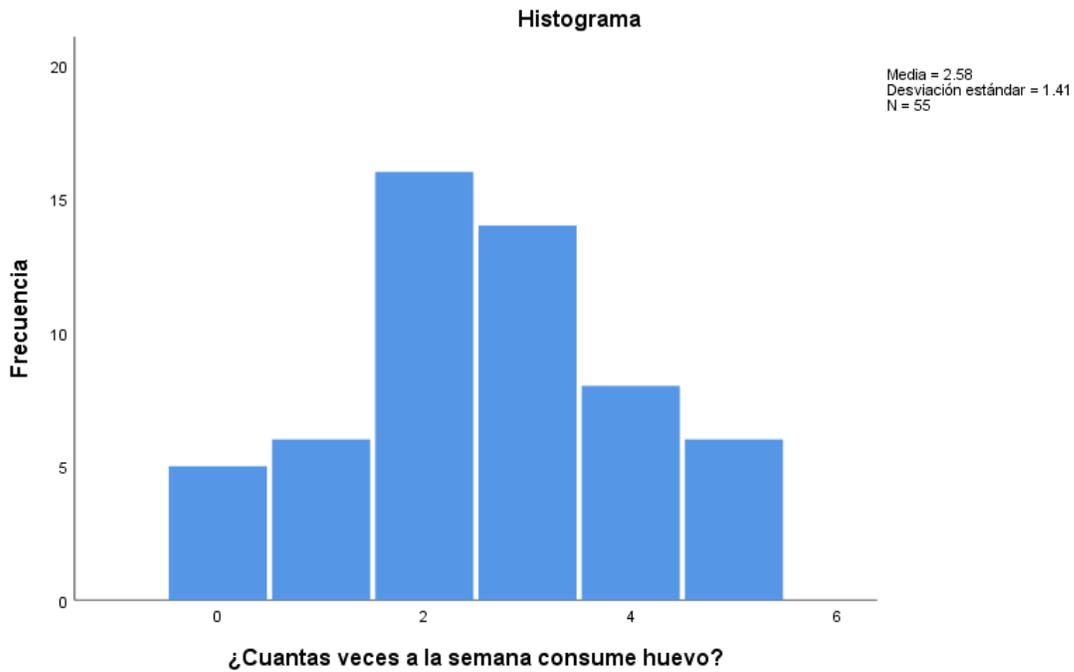


Figura 3.58 Histograma ZMVT (huevo)

En la Figura 3.59 se observa el consumo y tipo de agua consumían las donantes a lo largo de su embarazo en la ZMVT, la primer barra son las donantes que no se pudieron clasificar con un 1.8%, la segunda barra representa las que toman agua de garrafón (diversas marcas) con 56.4%, la tercera las que toman de la llave con 1.8%, la cuarta es de manantiales con 5.5%, la quinta inica el consumo de agua potable (de casa y de purificadoras) con 32.7% y finalmente la séptima es de pozo con 1.8%.

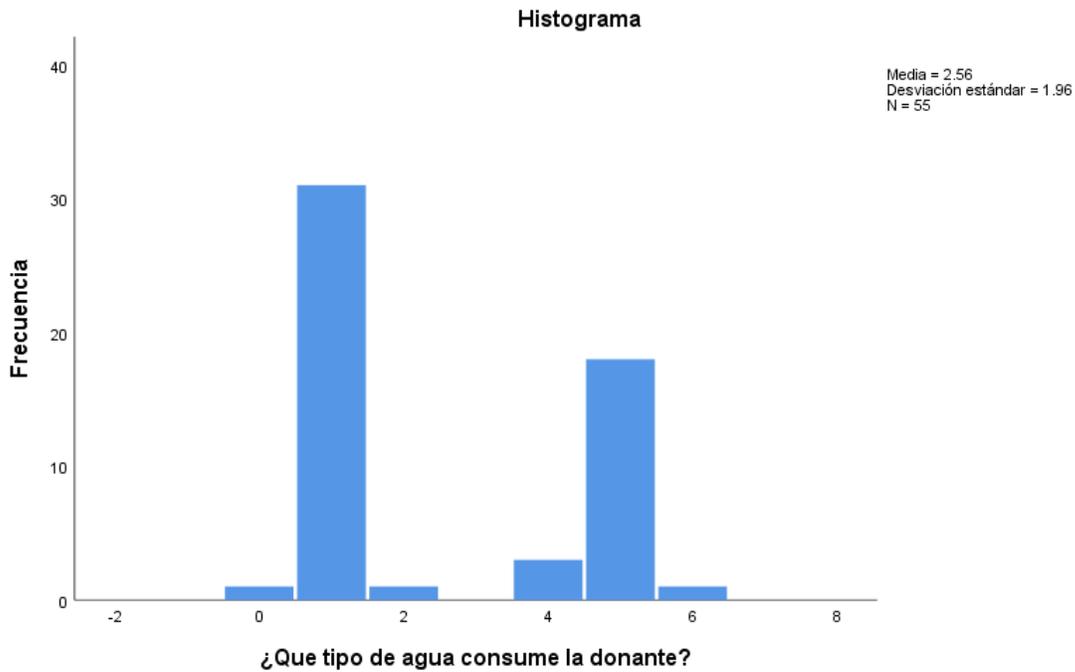


Figura 3.59 Histograma ZMVT (agua)

En la Figura 3.60 se presentan las donantes que han trabajado en el campo o agricultura a lo largo de su vida o durante su embarazo en la ZMVT, la primer barra representa a las que si han trabajado en el campo con 7.3% y la segunda con 92.7% las que no han trabajado en estas áreas.

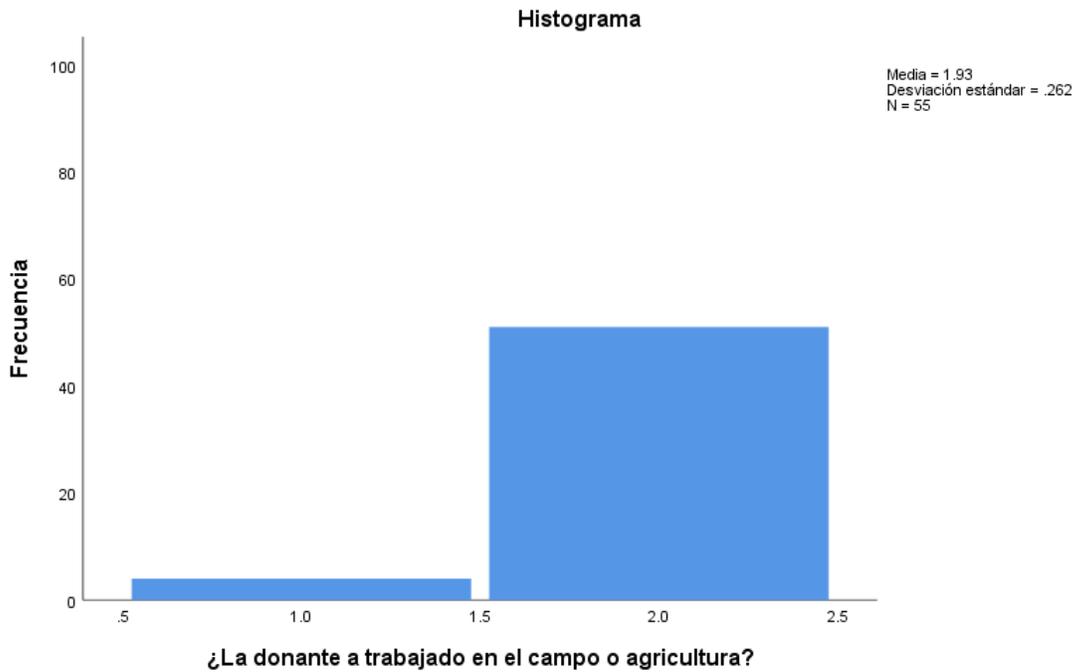


Figura 3.60 Histograma ZMVT (actividad económica de las donantes)

En la Figura 3.61 se observa si las parejas de las donantes han trabajado en el campo o agricultura en la ZMVT, la primer barra representa a los que no se pudieron clasificarse con 41.8% ya que las donantes desconocían los trabajos de sus parejas, la segunda con 4.5% los que si han trabajado en el campo y la tercera con 43.6% los que no han trabajado en alguna de estas áreas.

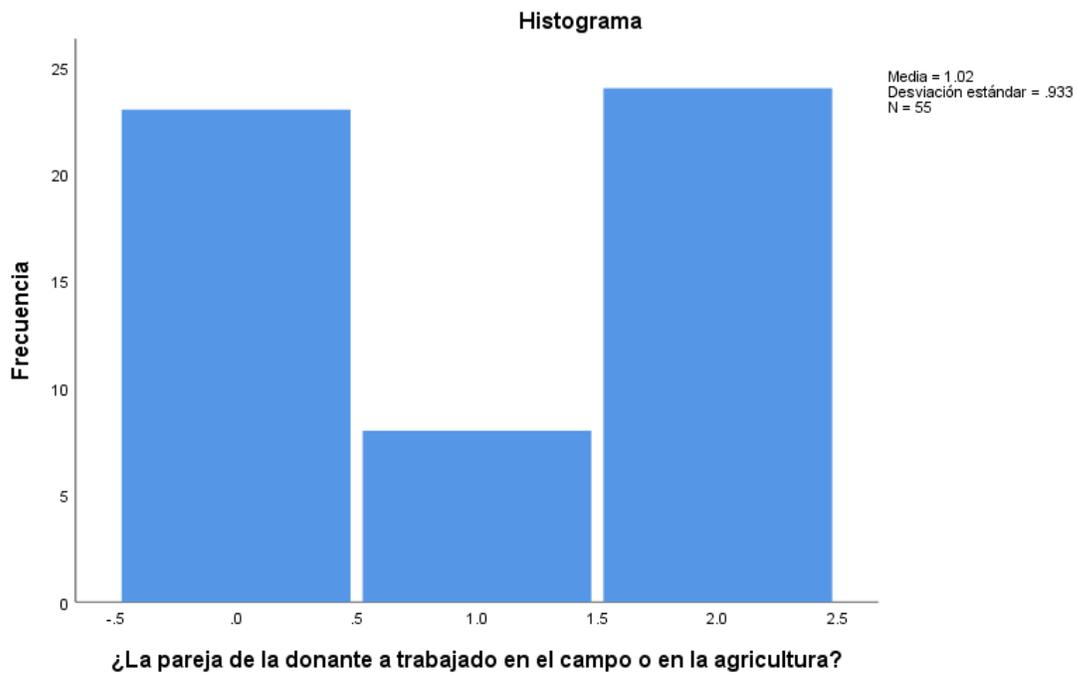


Figura 3.61 Histograma ZMVT (actividad económica de los conyuges)

En la Figura 3.62 se presenta si las donantes han vivido cerca de algún invernadero o campo de cultivo a lo largo de su vida o durante el embarazo en la ZMVT, la primer barra representa a las que no se pudieron clasificar con 5.5%, la segunda con 32.7% las que viven a menos de un 1 km de distancia, la tercera con 1.8% las que viven a 1 km y la cuarta con 60% las que viven más lejos de 1 km de distancia.

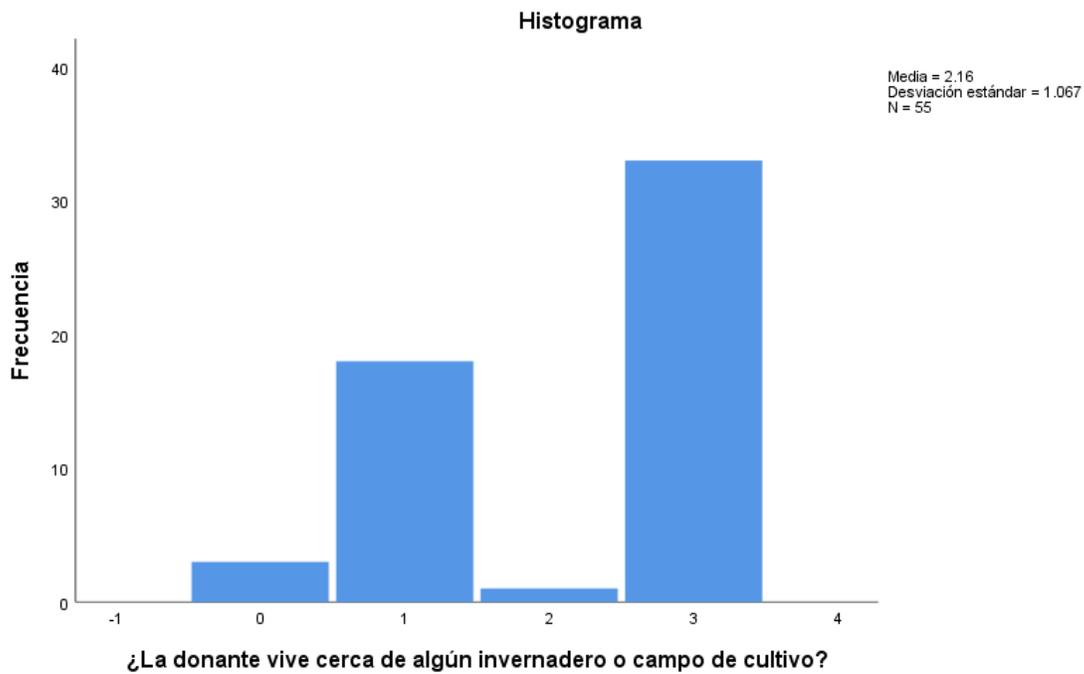


Figura 3.62 Histograma ZMVT (vivienda)

En la Figura 3.63 se muestra si las donantes han consumido cigarro a lo largo de su vida o durante el embarazo en la ZMVT, la primer barra representa con 20% las que, si lo consumieron, la segunda con 80% las que no lo consumieron.

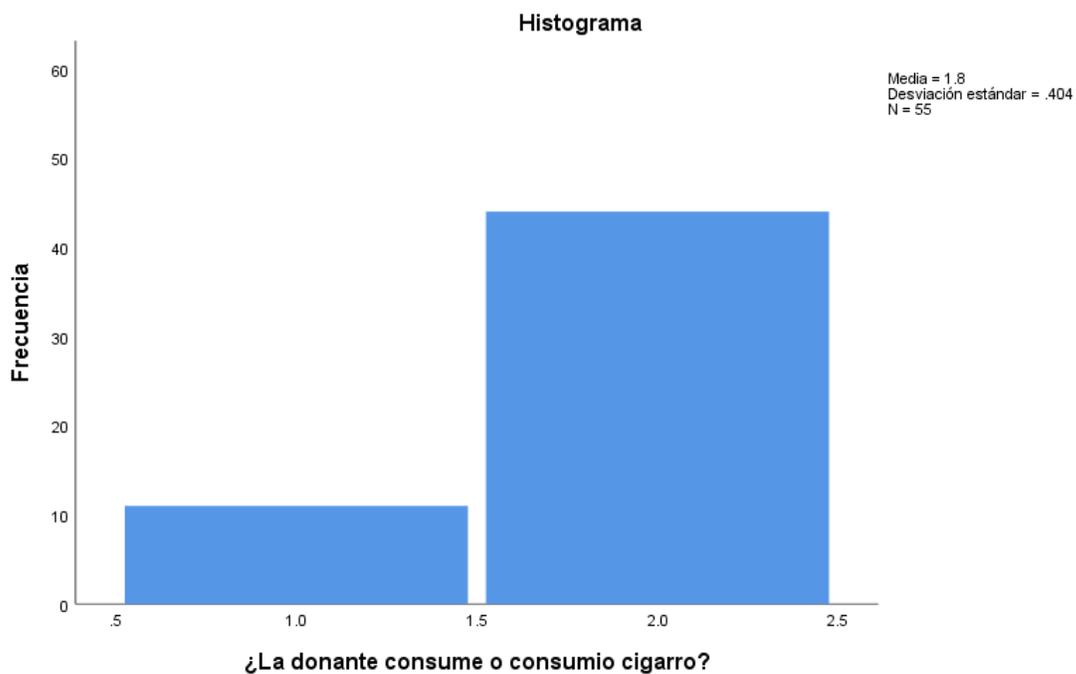


Figura 3.63 Histograma ZMVT (consumo de cigarro)

En la Figura 3.64 se evalúa si alguna vez se ha fumigado el hogar de la donante durante el embarazo en la ZMVT, la primer barra representa con 25.5% a las que, si han fumigado su hogar, la segunda con 74.5% las que no fumigan.

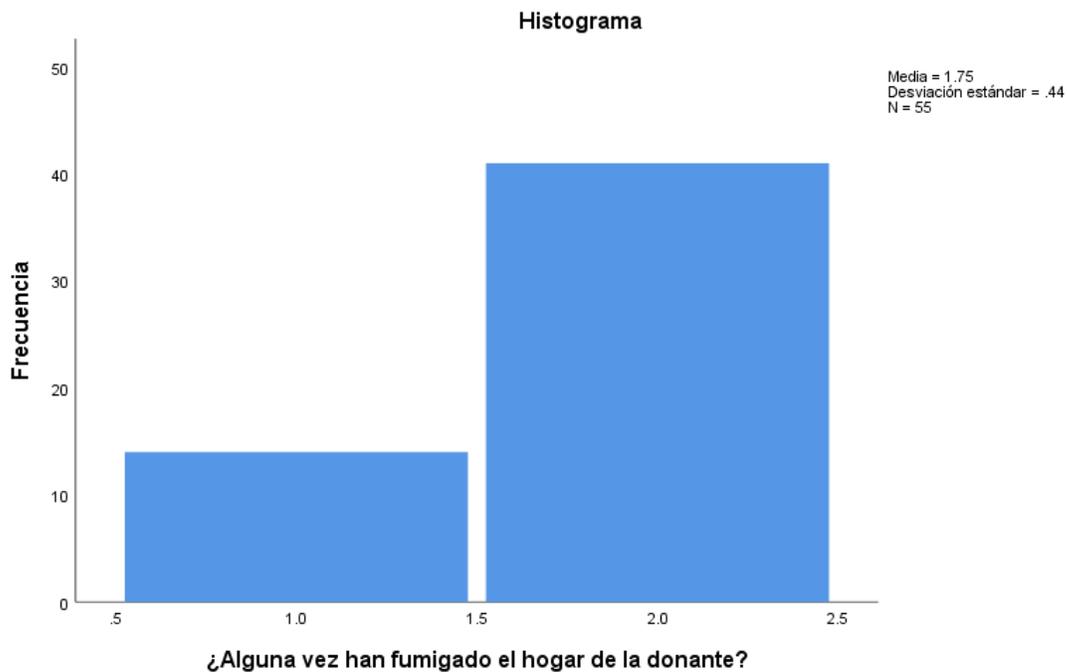


Figura 3.64 Histograma ZMVT (Fumigación)

De acuerdo con los datos presentados de los cuestionarios realizados a las donadoras, estas comen poco pescado, a diferencia de los productos lácteos, los cuales se consumen más en la ZMVT; la carne y el huevo son productos que se incluyen en la dieta de manera similar en ambas zonas. Sin embargo, la carne se ingiere más veces que el huevo; la diferencia más notable entre los hábitos de consumo es el agua ya que en la zona del MVG se consume menos de garrafón y se obtiene incluso de venteros y manantiales. También se observa un índice más alto de donadoras del MVG que han trabajado en el campo, comportamiento similar en sus parejas y de igual manera presentan una distancia menor de sus viviendas con respecto a áreas de cultivo o invernaderos.

4 CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados del análisis de conglomerados jerárquicos y el factorial, realizado con los porcentajes atómicos de los elementos detectados por EDS en las muestras de ambas zonas, se clasificaron las muestras en dos grupos principales; en el MVG se obtuvo que el grupo 1 tiene como característica principal menor porcentaje del C y mayor porcentaje de los elementos N, O, Na, P, S, Cl, K, Ca y Mg mientras que el grupo 2 presentó por el contrario, menor porcentaje en estos elementos y mayor contenido de C. En la ZMVT el grupo 1 presentó mayor porcentaje de C, Na y S y el grupo 2 una menor cantidad de estos pero mayor cantidad de N, O, P, Cl, K y Ca. A través de la microscopia electrónica de barrido se estudio la morfología de las muestras, ambos grupos presentaron formaciones esféricas de diferentes diámetros así como estructuras rectangulares. Se observó similitud en la morfología y tamaño de partícula entre el grupo 2 del MVG y 1 de la ZMVT. Por IR se identificaron los grupos funcionales correspondientes a los carbohidratos, galactosa, lactosa entre otros presentes en las muestras de leche.

Los histogramas indican que las madres donantes del MVG consumen menos pescado, lácteos, carne y huevo que las de la ZMVT y contrariamente consumen más cigarro en la primer zona (41.8%) que en la segunda (20%); también se aprecia que en el MVG se consume más agua potable proveniente de casa o purificadoras locales a diferencia de la ZMVT en la que se consume más la de garrafones de diferentes marcas. Otra diferencia importante es que el porcentaje de donantes que han trabajado en el campo o áreas de agricultura es mayor en el MVG (38.2%) que en la ZMVT (7.3%), en MVG la mayoría de las donantes viven a menos de 1 km de los campos de cultivo o invernaderos y en la segunda zona viven a más de 1 km de distancia, finalmente la fumigación en los hogares tiene porcentajes muy similares.

Es importante señalar que a través del análisis EDS no fue posible identificar la presencia de metales pesados, dichos resultados pueden deberse a la sensibilidad de

esta técnica y a que unicamente proporciona un análisis semicuantitativo puntual, por tal motivo se recomienda analizar las muestras con un método más sensible y que sea multicomponente, como el análisis por Activación Neutrónica (AAN).

5 ANEXOS

Tabla 1 Porcentaje atómico MVG

Muestra	C		N		O		Na		P		S		Cl		K		Ca		Mg	
	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±	%	±
LV1	61.97	4.67	20.94	12.03	31.73	2.12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.11	0.00	0.09	0.00	0.12	0.00	n.d.	n.d.
LV2	66.22	4.60	8.68	0.00	31.77	2.50	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.11	0.02	0.11	0.03	0.06	0.01	n.d.	n.d.
LV3	73.31	4.42	n.d.	n.d.	26.59	4.37	n.d.	0.09	0.02	0.09	0.02	n.d.	n.d.							
LV4	77.39	1.45	n.d.	n.d.	22.37	1.44	n.d.	n.d.	0.08	0.00	n.d.	n.d.	0.08	0.02	0.08	0.03	0.07	0.01	n.d.	n.d.
LV5	59.25	5.74	8.47	2.33	37.01	1.46	0.14	0.00	n.d.	n.d.	0.08	0.00	0.14	0.01	0.15	0.02	0.10	0.00	n.d.	n.d.
LV6	55.61	2.11	5.12	0.43	39.95	2.56	0.11	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.02	0.08	0.02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LV7	80.50	2.26	n.d.	n.d.	19.31	2.22	0.11	0.00	0.05	0.01	n.d.	n.d.	0.07	0.02	0.05	0.02	0.06	0.01	n.d.	n.d.
LV8	75.39	2.11	n.d.	n.d.	25.40	2.14	0.08	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.01	0.07	0.01	0.06	0.01	n.d.	n.d.
LV9	56.44	4.25	9.08	1.41	37.66	0.77	0.21	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.19	0.05	0.10	0.03	0.09	0.03	n.d.	n.d.
LV10	72.73	3.06	n.d.	n.d.	27.12	3.06	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.08	0.00	0.07	0.00	0.10	0.01	0.06	0.01	n.d.	n.d.
LV11	66.51	2.59	9.92	0.00	31.21	1.76	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.01	0.13	0.02	0.09	0.02	0.07	0.02	n.d.	n.d.
LV12	69.77	2.20	n.d.	n.d.	30.11	2.19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	0.00	0.08	0.01	0.08	0.01	n.d.	n.d.
LV13	53.88	3.53	8.12	2.62	40.92	1.71	0.10	0.00	n.d.	n.d.	0.03	0.00	0.08	0.03	0.17	0.11	0.07	0.04	n.d.	n.d.
LV14	77.16	1.73	n.d.	n.d.	22.66	1.68	0.13	0.00	n.d.	n.d.	0.08	0.01	0.11	0.03	0.06	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LV15	55.69	3.90	7.34	0.86	38.76	1.07	0.15	0.00	n.d.	n.d.	0.07	0.03	0.11	0.04	0.11	0.02	0.07	0.03	n.d.	n.d.
LV16	71.76	3.55	n.d.	n.d.	28.10	3.53	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.05	0.00	0.07	0.02	0.05	0.01	n.d.	n.d.
LV17	64.56	3.38	7.35	0.00	33.60	2.39	0.22	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.12	0.01	0.14	0.07	0.09	0.02	n.d.	n.d.
LV18	63.58	5.34	10.39	1.37	31.78	1.80	0.13	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.17	0.04	0.19	0.04	0.09	0.02	n.d.	n.d.
LV19	75.58	1.68	n.d.	n.d.	24.20	1.69	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.13	0.03	0.08	0.02	0.07	0.01	n.d.	n.d.
LV20	63.77	2.17	5.01	0.12	34.07	0.97	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.01	0.11	0.03	0.05	0.00	n.d.	n.d.
LV21	79.01	1.61	n.d.	n.d.	20.92	1.58	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.00	0.09	0.00	0.06	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LV22	39.48	2.12	n.d.	n.d.	30.13	2.13	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.13	0.02	0.16	0.01	0.12	0.04	n.d.	n.d.
LV23	72.16	3.22	n.d.	n.d.	27.65	3.18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	0.00	0.09	0.01	0.06	0.02	0.08	0.04	n.d.	n.d.
LV24	63.73	1.41	n.d.	n.d.	35.89	1.43	n.d.	n.d.	0.07	0.01	n.d.	n.d.	0.11	0.00	0.13	0.02	0.06	0.00	n.d.	n.d.
LV25	57.53	3.04	6.12	2.11	37.37	2.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.01	0.12	0.03	0.07	0.00	n.d.	n.d.
LV26	63.53	3.33	4.67	0.40	34.29	1.54	0.11	0.00	n.d.	n.d.	0.05	0.00	0.09	0.03	0.14	0.03	0.06	0.02	0.06	0.00
LV27	67.79	1.42	n.d.	n.d.	31.97	1.44	n.d.	0.02	0.12	0.02	0.06	0.01	n.d.	n.d.						
LV28	78.67	1.51	n.d.	n.d.	20.67	1.61	0.34	0.05	n.d.	n.d.	0.10	0.03	0.20	0.03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LV29	56.50	3.87	9.49	0.93	37.38	1.95	0.11	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.14	0.03	0.18	0.05	0.08	0.02	n.d.	n.d.
LV30	69.97	1.08	n.d.	n.d.	34.71	1.10	n.d.	n.d.	0.06	0.00	n.d.	n.d.	0.16	0.02	0.13	0.01	0.05	0.00	n.d.	n.d.
LV31	58.62	1.28	n.d.	n.d.	41.04	1.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.17	0.02	0.15	0.01	0.10	0.00	n.d.	n.d.
LV32	70.02	1.12	n.d.	n.d.	29.68	1.13	0.14	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.02	0.10	0.01	0.09	0.02	n.d.	n.d.
LV33	76.85	1.43	n.d.	n.d.	22.94	1.42	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	0.00	0.09	0.02	0.07	0.02	0.07	0.00	n.d.	n.d.
LV34	65.19	3.29	9.76	0.00	32.59	1.74	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.12	0.02	0.12	0.03	0.07	0.01	n.d.	n.d.
LV35	69.11	3.71	n.d.	n.d.	30.63	3.60	0.19	0.02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.14	0.03	0.09	0.02	0.08	0.01	n.d.	n.d.
LV36	60.79	5.48	9.23	0.00	37.27	3.03	0.23	0.00	n.d.	n.d.	0.11	0.05	0.14	0.04	0.15	0.03	0.08	0.04	n.d.	n.d.
LV37	78.10	0.54	n.d.	n.d.	21.75	0.49	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.01	0.07	0.02	0.07	0.01	n.d.	n.d.
LV38	54.04	4.21	9.20	0.57	40.21	1.44	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.08	0.01	0.12	0.03	0.06	0.01	n.d.	n.d.
LV39	78.84	2.48	n.d.	n.d.	21.08	2.48	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.00	0.07	0.01	0.07	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LV40	61.28	1.86	6.76	0.00	37.14	1.69	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.01	0.10	0.01	0.07	0.00	n.d.	n.d.
LV41	71.10	4.42	17.22	9.58	21.61	10.92	0.19	0.02	n.d.	n.d.	0.06	0.01	0.13	0.02	0.07	0.01	0.08	0.01	n.d.	n.d.
LV42	63.01	3.74	8.94	0.26	33.16	0.92	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.11	0.01	0.13	0.02	0.05	0.00	n.d.	n.d.
LV43	70.88	1.27	n.d.	n.d.	28.90	1.28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.08	0.01	0.08	0.02	0.07	0.01	n.d.	n.d.
LV44	66.25	5.16	6.89	0.00	32.42	4.50	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.08	0.02	0.07	0.01	0.08	0.01	0.09	0.04	n.d.	n.d.
LV45	72.03	1.34	n.d.	n.d.	27.68	1.23	0.17	0.00	n.d.	n.d.	0.06	0.00	0.12	0.03	0.09	0.01	0.09	0.02	n.d.	n.d.
LV46	53.85	3.67	9.46	0.74	37.09	1.81	0.37	0.05	n.d.	n.d.	0.08	0.02	0.34	0.08	0.10	0.03	0.07	0.01	n.d.	n.d.
LV47	74.66	1.55	n.d.	n.d.	25.23	1.58	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.05	0.01	0.06	0.02	0.05	0.01	n.d.	n.d.
LV48	56.51	1.67	23.26	18.49	42.56	0.38	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.01	0.14	0.04	0.07	0.01	0.12	0.00
LV49	70.55	8.68	5.90	0.00	28.11	6.85	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.00	0.08	0.04	0.08	0.05	n.d.	n.d.
LV50	67.10	4.47	20.82	12.67	30.43	1.54	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	0.02	0.07	0.01	0.09	0.03	0.09	0.02	n.d.	n.d.
LV51	60.21	4.89	7.87	0.94	36.31	2.39	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.01	0.16	0.02	0.07	0.02	n.d.	n.d.
LV52	79.79	3.28	n.d.	n.d.	20.02	3.25	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.11	0.02	0.09	0.02	0.06	0.00	n.d.	n.d.
LV53	69.01	1.70	n.d.	n.d.	30.77	1.67	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	0.00	0.12	0.02	0.09	0.02	0.08	0.00	n.d.	n.d.
LV54	67.97	3.72	5.67	0.00	30.74	3.32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.12	0.00	0.11	0.02	0.07	0.01	n.d.	n.d.
LV55	63.57	5.07	8.95	0.74	32.54	1.78	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.00	0.11	0.03	0.13	0.03	0.07	0.01	n.d.	n.d.

Tabla 2 Porcentaje atómico ZMVT

Muestra	C		N		O		Na		P		S		Cl		K		Ca		Mg	
	Atómico	±																		
LT1	70.948	1.37	n.d.	n.d.	28.898	1.39	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0	0.1225	0.04	0.21	0	n.d.	n.d.
LT2	72.12	3.6	n.d.	n.d.	28.76	2.54	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.03	0.07	0.03	0.09	0.00	n.d.	n.d.
LT3	71.08	3.55	7.38	0.00	27.33	1.31	0.14	0.00	n.d.	n.d.	0.07	0.01	0.15	0.05	0.08	0.03	0.07	0.02	n.d.	n.d.
LT4	63.69	1.4	6.48	0.20	34.74	1.10	0.18	0.02	0.06	0.01	0.06	0.03	0.10	0.03	0.09	0.01	0.06	0.00	n.d.	n.d.
LT5	65.03	1.42	n.d.	n.d.	34.83	3.53	0.15	0.00	n.d.	n.d.	0.06	0.03	0.06	0.00	0.11	0.02	0.10	0.01	n.d.	n.d.
LT6	71.67	3.4	n.d.	n.d.	28.22	1.80	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.01	0.13	0.01	n.d.	n.d.
LT7	74.75	2.11	n.d.	n.d.	25.03	2.13	n.d.	n.d.	0.06	0.00	0.06	0.00	0.09	0.01	0.10	0.01	0.05	0.00	n.d.	n.d.
LT8	65.116	2.34	9.34	2.09	30.964	2.81	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.01	0.06667	0.01	0.1025	0.05	0.07	0.02	n.d.	n.d.
LT9	72.61	3.45	n.d.	n.d.	27.09	1.43	0.17	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.14	0.01	0.14	0.02	0.10	0.01	n.d.	n.d.
LT10	60.65	4.74	7.99	0.92	35.37	1.44	0.21	0.05	0.09	0.00	0.08	0.02	0.37	0.02	0.26	0.03	0.06	0.02	n.d.	n.d.
LT11	72.052	1.5	n.d.	n.d.	27.712	1.49	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0	0.102	0.01	0.096	0.02	0.08	0	n.d.	n.d.
LT12	62.458	0.89	n.d.	n.d.	37.178	0.95	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.08	0	0.182	0.05	0.136	0.04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT13	73.698	1.61	n.d.	n.d.	26.162	1.66	0.14	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.08	0.03	0.06	0	0.06333	0.01	n.d.	n.d.
LT14	71.11	2.75	n.d.	n.d.	28.69	1.95	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.13	0.01	0.14	0.01	0.09	0.00	0.12	0.04	n.d.	n.d.
LT15	69.03	3.46	6.67	0.9	26.412	1.48	0.258	0.05	n.d.	n.d.	0.05	0	0.22	0.01	0.0675	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT16	66.21	1.40	7.74	0.85	31.61	2.12	0.28	0.05	n.d.	n.d.	0.09	0.00	0.26	0.04	0.09	0.02	0.09	0.03	n.d.	n.d.
LT17	69.71	2.75	n.d.	n.d.	29.94	2.22	0.19	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.13	0.03	0.09	0.01	0.04	0.02	n.d.	n.d.
LT18	65.09	4.78	8.37	0.00	32.93	2.14	0.14	0.00	0.08	0.01	0.05	0.10	0.12	0.01	0.10	0.02	0.05	0.01	n.d.	n.d.
LT19	72.77	2.79	n.d.	n.d.	27.07	2.13	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.15	0.05	0.11	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT20	68.472	0.8	n.d.	n.d.	31.136	0.71	0.23667	0.03	n.d.	n.d.	0.105	0.02	0.194	0.01	0.07	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT21	58.63	4.80	n.d.	n.d.	40.75	1.43	0.32	0.06	n.d.	n.d.	0.11	0.00	0.21	0.03	0.10	0.02	0.07	0.00	n.d.	n.d.
LT22	59.506	2.99	9.69667	0.59	34.39	3.29	0.22	0	n.d.	n.d.	0.07	0.01	0.102	0.03	0.074	0.01	0.06333	0.01	n.d.	n.d.
LT23	62.858	5.25	8.07667	1.39	32.072	1.59	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.04	0	0.0925	0.01	0.092	0.02	0.06	0.01	n.d.	n.d.
LT24	70.94	1.6	n.d.	n.d.	28.67	1.3	0.2	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.18	0.02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT25	69.36	1.10	n.d.	n.d.	30.20	1.44	0.43	0.08	n.d.	n.d.	0.16	0.01	0.22	0.04	0.10	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT26	69.40	1.09	n.d.	n.d.	30.54	2.13	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.06	0.00	0.09	0.00	0.11	0.01	0.06	0.00	n.d.	n.d.
LT27	72.03	2.83	n.d.	n.d.	27.78	1.43	0.18	0.02	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.01	0.09	0.00	0.08	0.01	n.d.	n.d.
LT28	65.5083	2.12	n.d.	n.d.	34.3917	2.16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.01	0.1	0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT29	62.72	4.80	n.d.	n.d.	37.08	1.44	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.12	0.02	0.15	0.01	0.09	0.01	n.d.	n.d.
LT30	64.34	4.85	6.35	0.15	34.22	2.22	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.01	0.09	0.01	0.08	0.02	0.06	0.02	n.d.	n.d.
LT31	68.15	1.68	n.d.	n.d.	31.68	2.14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.01	0.11	0.02	0.11	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT32	66.52	4.87	6.31	0.34	30.78	3.53	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.00	0.09	0.00	0.06	0.01	n.d.	n.d.
LT33	65.624	0.83	n.d.	n.d.	34.106	0.77	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.0975	0.01	0.136	0.06	0.09333	0.01	n.d.	n.d.
LT34	59.262	2.96	6.53	0.93	35.262	0.89	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.102	0.01	0.1	0.05	0.06667	0.01	n.d.	n.d.
LT35	62.04	3.88	n.d.	n.d.	37.89	1.80	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.01	0.09	0.01	0.08	0.02	n.d.	n.d.
LT36	67.852	1.77	n.d.	n.d.	31.902	1.81	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.05	0	0.098	0.01	0.07	0.01	0.082	0.02	n.d.	n.d.
LT37	65.69	4.89	n.d.	n.d.	34.10	2.13	0.22	0.03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.12	0.02	0.11	0.01	0.11	0.01	n.d.	n.d.
LT38	67.62	2.90	n.d.	n.d.	32.13	1.43	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.00	0.13	0.01	0.14	0.02	n.d.	n.d.
LT39	65.86	4.91	n.d.	n.d.	33.87	1.44	n.d.	n.d.	0.09	0.00	n.d.	n.d.	0.10	0.00	0.12	0.02	0.09	0.01	n.d.	n.d.
LT40	53.028	2.52	6.39	0.29	41.638	0.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.04	0	0.104	0.05	0.1	0.06	0.03	0	n.d.	n.d.
LT41	59.33	3.92	n.d.	n.d.	40.49	1.95	0.19	0.00	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.10	0.00	0.10	0.00	0.05	0.00	n.d.	n.d.
LT42	64.15	2.93	n.d.	n.d.	35.75	1.10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.13	0.01	0.11	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
LT43	65.97	1.42	n.d.	n.d.	33.93	2.13	n.d.	n.d.	0.08	0.01	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0.00	0.05	0.00	n.d.	n.d.
LT44	66.06	1.50	n.d.	n.d.	33.72	1.43	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.16	0.04	n.d.	n.d.	0.13	0.01	n.d.	n.d.
LT45	66	1.83	8.58	0	32.038	2.32	n.d.	n.d.	0.1	0	n.d.	n.d.	0.1	0.02	0.095	0.01	0.11667	0.03	n.d.	n.d.
LT46	66.696	3.04	6.685	0.81	30.324	1.1	0.16333	0.02	n.d.	n.d.	0.07	0	0.116	0.02	0.064	0.01	0.06	0	n.d.	n.d.
LT47	64.112	3.58	9.66	0	33.614	0.79	0.145	0	n.d.	n.d.	0.08	0.03	0.12667	0	0.09	0.02	0.068	0.03	n.d.	n.d.
LT48	64.204	1.54	8.05	0	33.934	2.03	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.09	0.01	0.086	0.01	0.078	0.02	n.d.	n.d.
LT49	68.272	0.78	n.d.	n.d.	31.496	0.71	n.d.	n.d.	0.08667	0.02	n.d.	n.d.	0.065	0.01	0.1025	0.01	0.0625	0.01	n.d.	n.d.
LT50	65.844	3.67	7.11	0.33	31.05	1.05	0.12	0	0.07	0	0.07	0	0.116	0.03	0.1	0.03	0.08	0	n.d.	n.d.
LT51	70.294	0.96	n.d.	n.d.	29.47	1	n.d.	n.d.	0.1	0	0.065	0.01	0.08	0.02	0.09	0.02	0.065	0.01	n.d.	n.d.
LT52	64.602	5.46	7.01667	1.25	31.01	2.48	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.07	0	0.09	0.01	0.085	0.01	0.05	0	n.d.	n.d.
LT53	66.064	4.31	7.81667	0.39	28.954	1.38	n.d.	n.d.	0.06	0	0.05	0	0.12	0.05	0.142	0.04	0.06	0	n.d.	n.d.
LT54	62.48	3.78	9.3	0.66	33.218	1.21	0.17	0.01	n.d.	n.d.	0.065	0.01	0.226	0.03	0.156	0.04	0.108	0.02	n.d.	n.d.
LT55	65.47	2.06	5.5	0	33.116	0.69	0.13	0	0.07	0	0.07	0	0.138	0.04	0.098	0.04	0.12	0	n.d.	n.d.

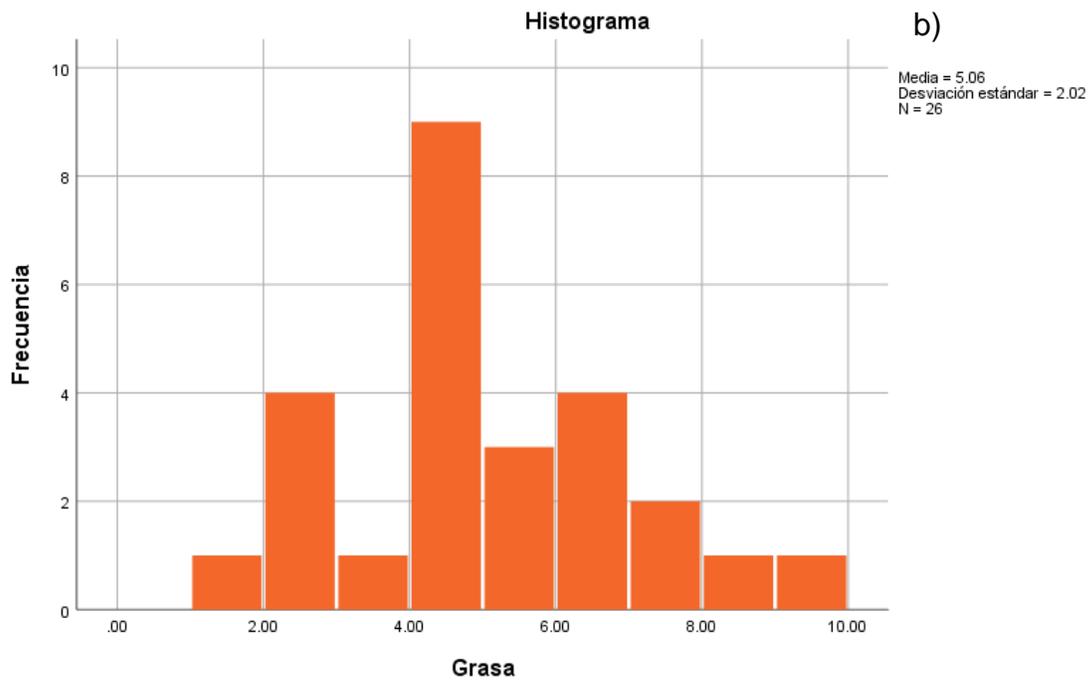
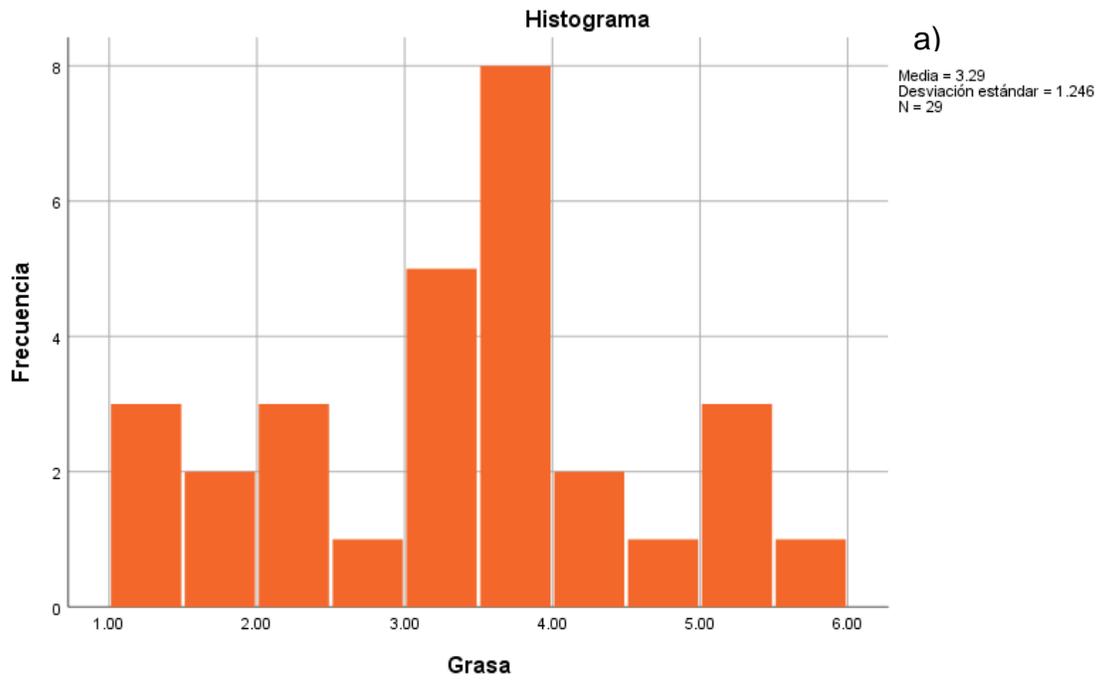


Figura 1 Grupo 1 a) y Grupo 2 b) MVG Grasa (g/mL)

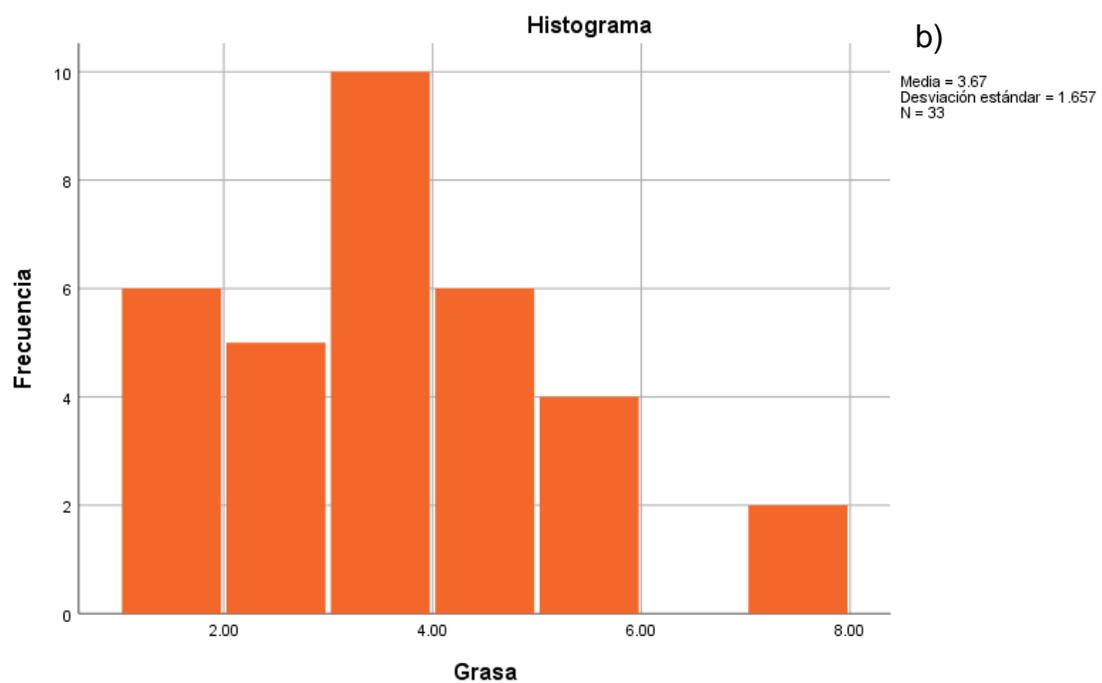
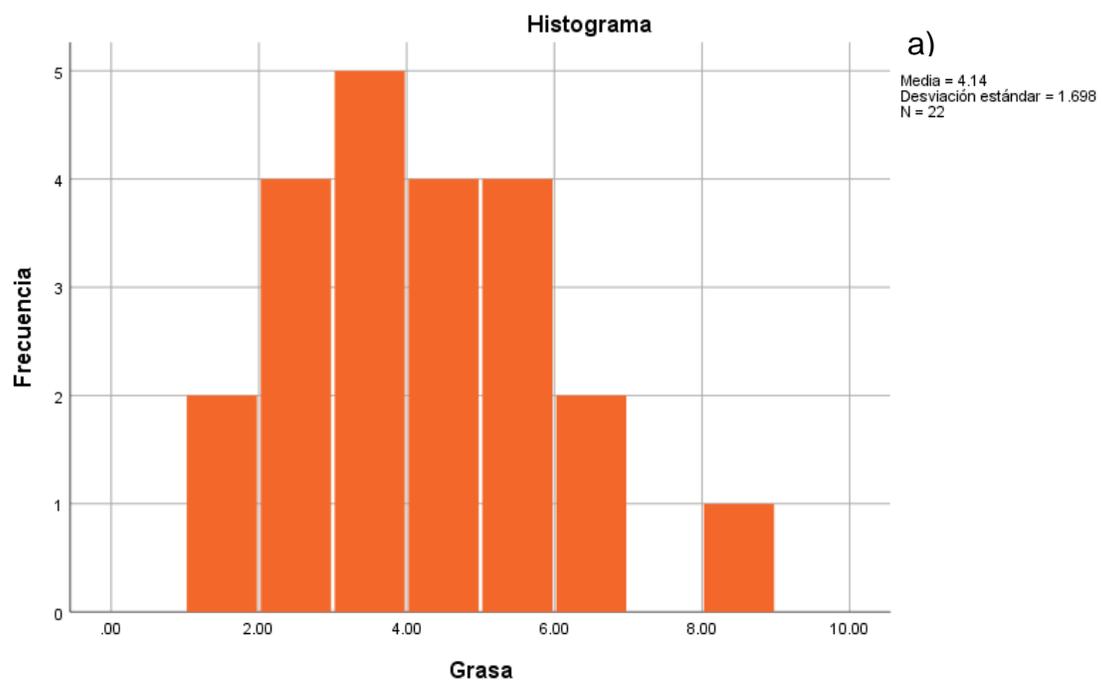


Figura 2 Grupo 1 a) y Grupo 2 b) ZMVT Grasa (g/mL)

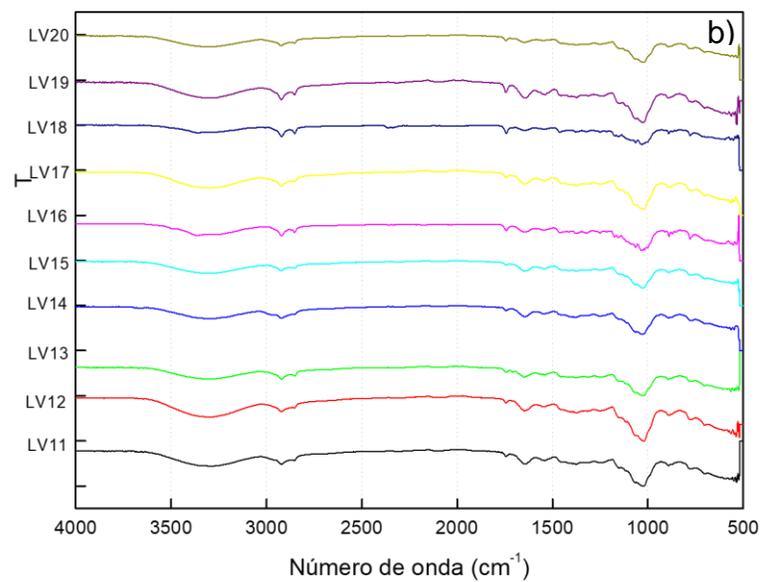
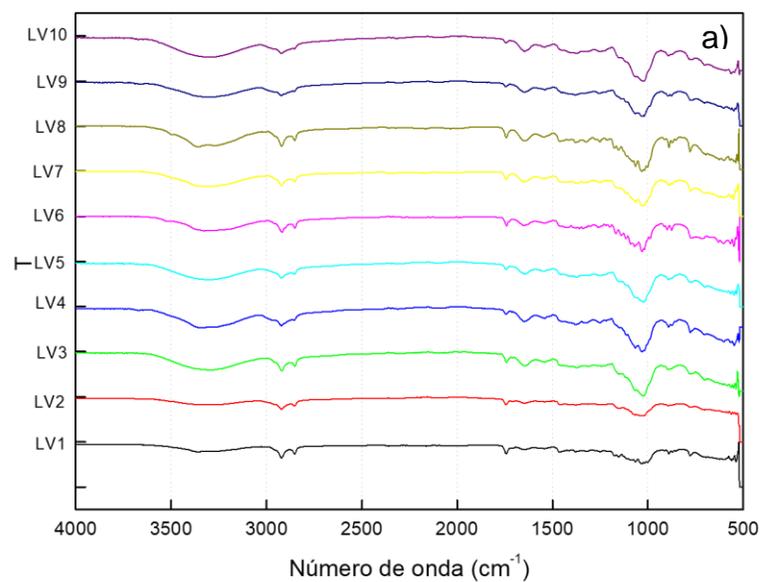


Figura 3 FTIR LV a) 1-10 y b) 11-20 del MVG

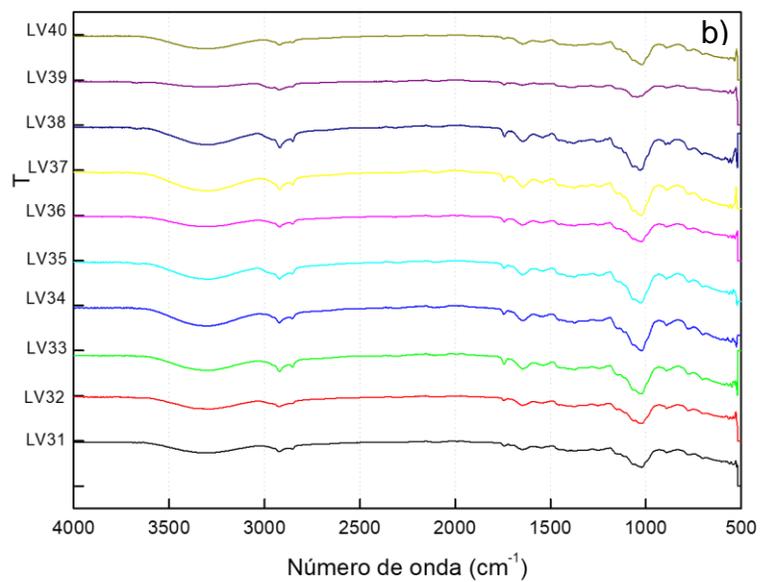
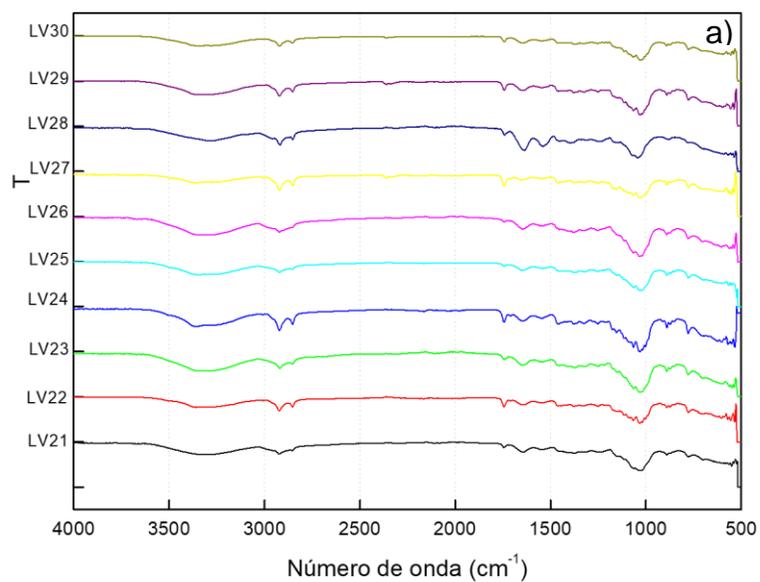


Figura 4 FTIR LV a) 21-30 y b) 31-40 del MVG

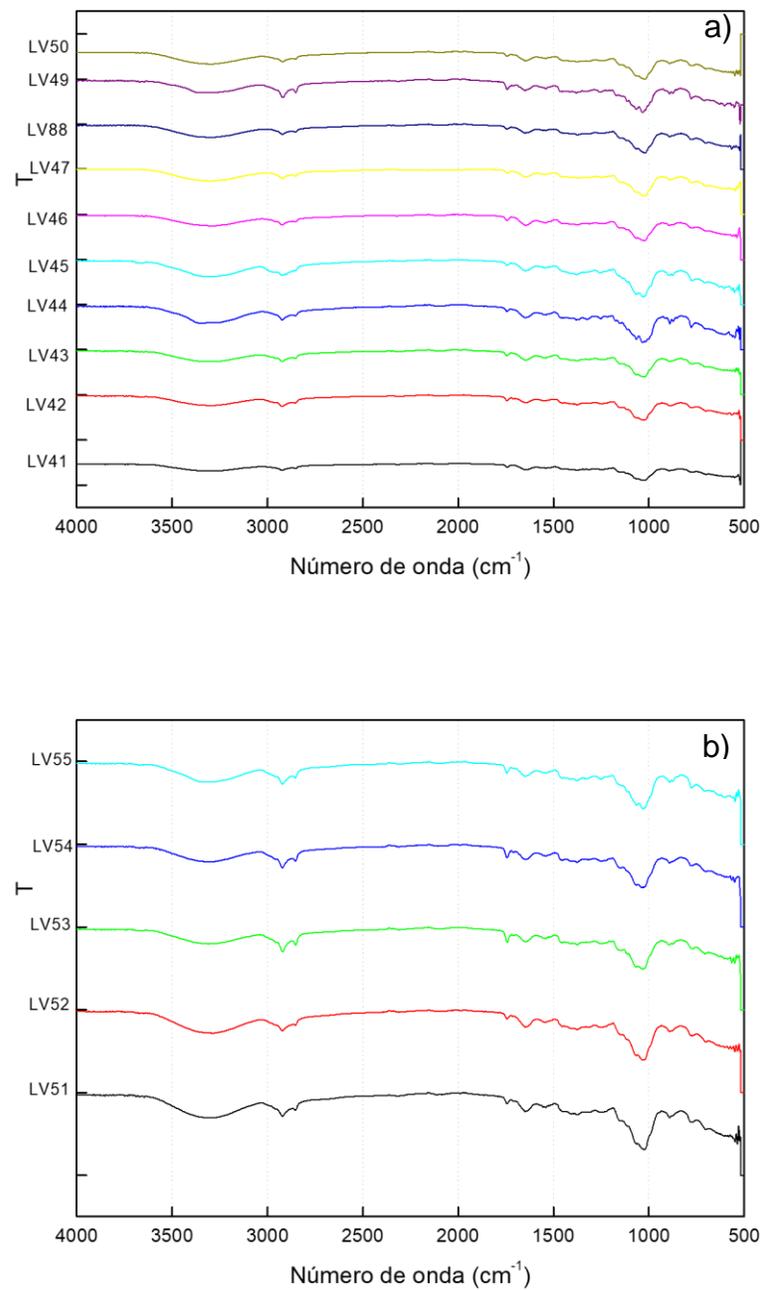


Figura 5 FTIR LV a) 41-50 y b) 51-55 del MVG

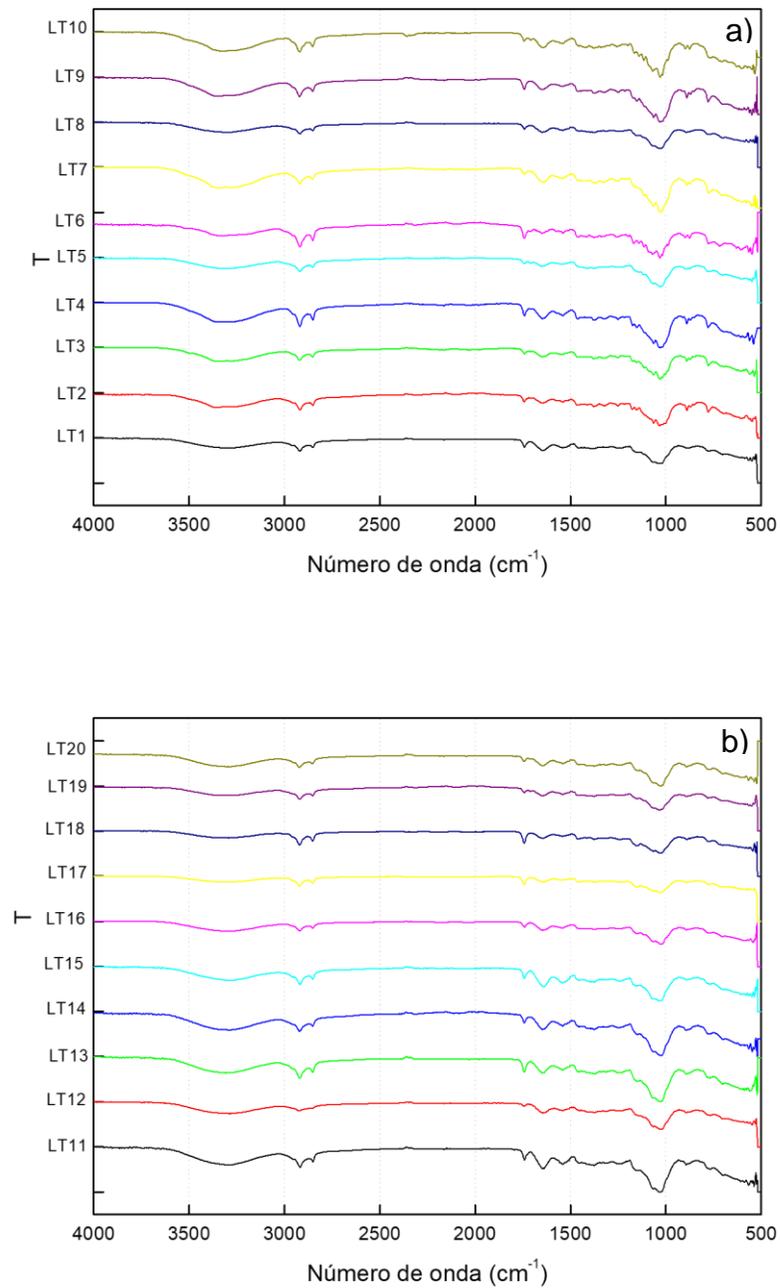


Figura 6 FTIR LT a) 1-10 y b) 11-20 de la ZMVT

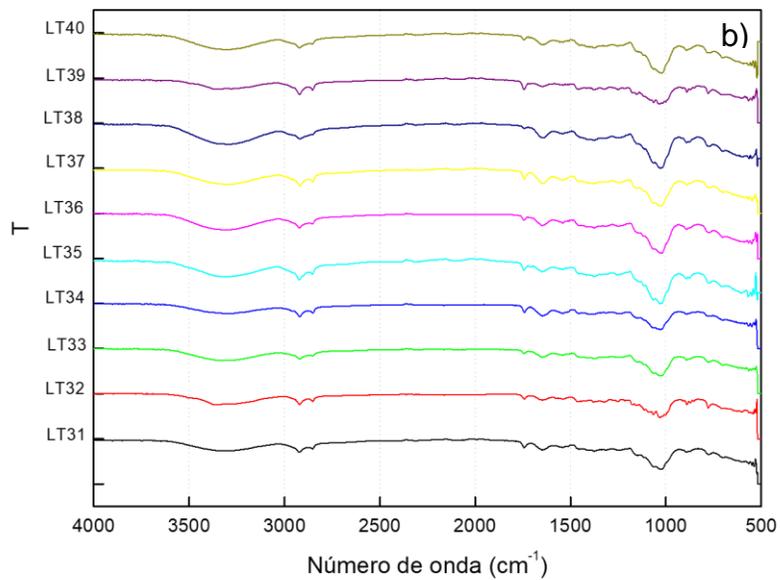
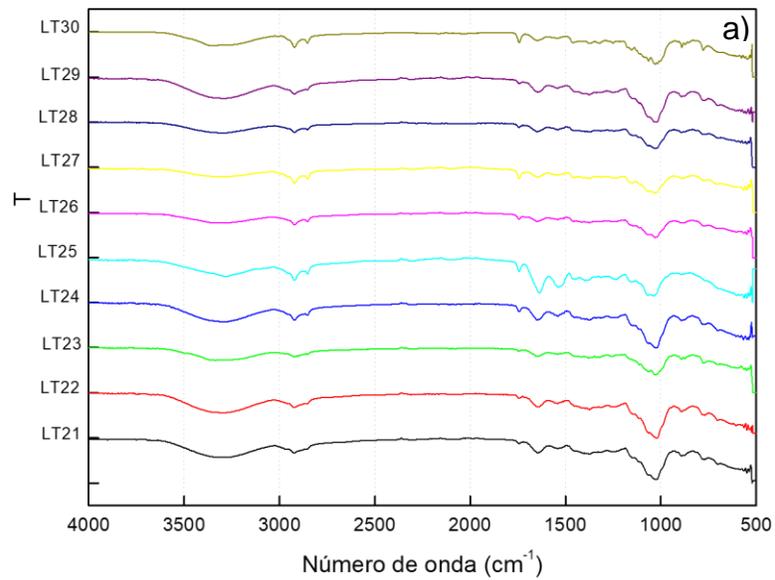


Figura 7 FTIR LT a) 21-30 y b) 31-40 de la ZMVT

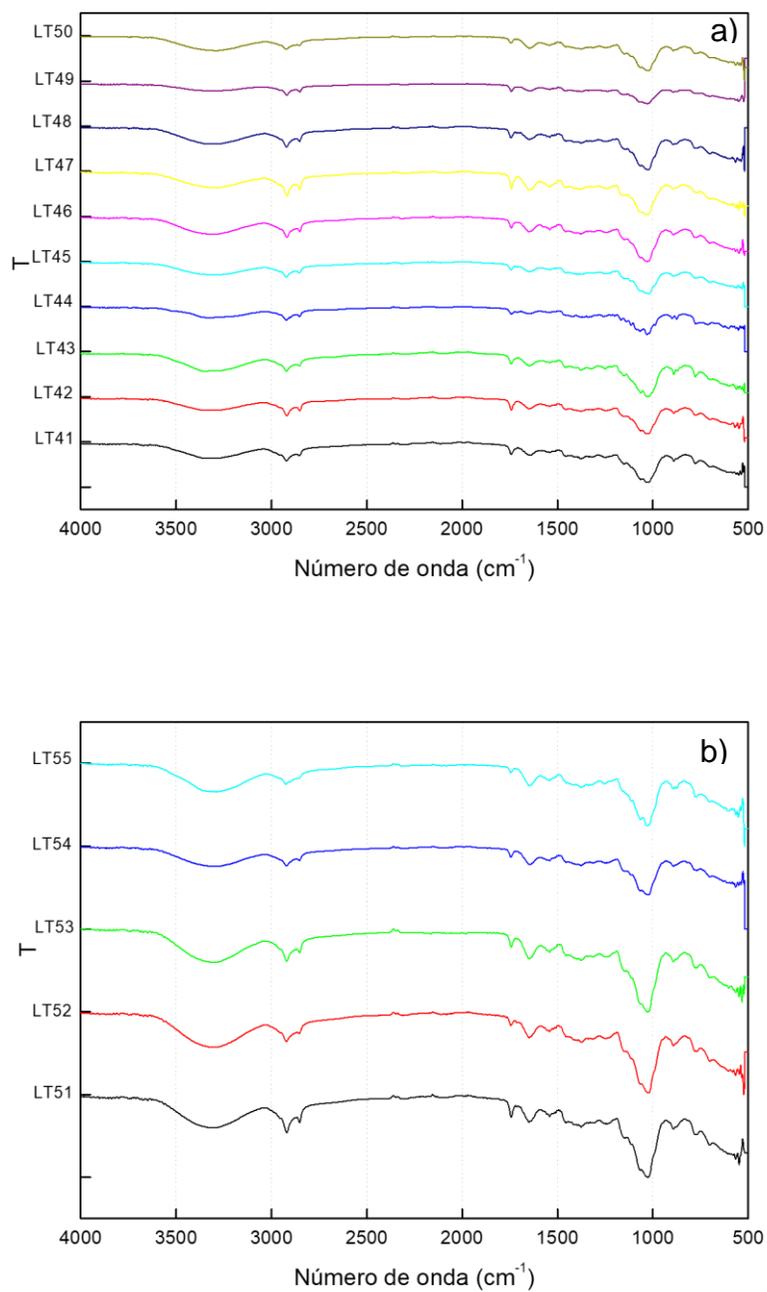


Figura 8 FTIR LT a) 41-50 y b) 51-55 de la ZMVT

6 BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ali, H., & Khan, E. (2019). Trophic transfer, bioaccumulation, and biomagnification of non-essential hazardous heavy metals and metalloids in food chains/webs— Concepts and implications for wildlife and human health. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 25(6), 1353–1376. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1469398>.
- [2] Janssen, M. P. M., Ma, W. C., & Van Straalen, N. M. (1993). Biomagnification of metals in terrestrial ecosystems. *Science of the total environment*, 134, 511–524. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(05\)80053-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0048-9697(05)80053-1)
- [3] Shugart, L. R., McCarthy, J. F., & Halbrook, R. S. (1992). Biological Markers of Environmental and Ecological Contamination: An Overview. *Risk Analysis*, 12(3), 353–360. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1539-6924.1992.tb00687.x>
- [4] Paustenbach, D. J., Panko, J. M., Fredrick, M. M., Finley, B. L., & Proctor, D. M. (1997). Urinary Chromium as a Biological Marker of Environmental Exposure: What Are the Limitations? *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 26(1), S23–S34. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/rtp.1997.1135>
- [5] Bonvallot, N., David, A., Chalmel, F., Chevrier, C., Cordier, S., Cravedi, J.-P., & Zalko, D. (2018). Metabolomics as a powerful tool to decipher the biological effects of environmental contaminants in humans. *Current Opinion in Toxicology*, 8, 48–56. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.12.007>
- [6] Biological markers in environmental health research. Committee on Biological Markers of the National Research Council. (1987). *Environmental Health Perspectives*, 74, 3–9. <https://doi.org/10.1289/ehp.74-1474499>

-
- [7] Witkowska-Zimny, M., & Kaminska-EI-Hassan, E. (2017). Cells of human breast milk. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 22(1), 11. <https://doi.org/10.1186/s11658-017-0042-4>
- [8] Kirk, M. D., Angulo, F. J., Havelaar, A. H., & Black, R. E. (2017). Diarrhoeal disease in children due to contaminated food. *Bulletin of the World Health Organization*, 95(3), 233–234. <https://doi.org/10.2471/BLT.16.173229>
- [9] Eleni, P., Småstuen, H. L., Kaur, S. A., Sandra, A., Xavier, B., Lise, B. A., Leda, C. (2021). Diet as a Source of Exposure to Environmental Contaminants for Pregnant Women and Children from Six European Countries. *Environmental Health Perspectives*, 127(10), 107005. <https://doi.org/10.1289/EHP5324>
- [10] Choi, J., Knudsen, L. E., Mizrak, S., & Joas, A. (2017). Identification of exposure to environmental chemicals in children and older adults using human biomonitoring data sorted by age: Results from a literature review. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 220 (2, Part A), 282–298. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2016.12.006>
- [11] de Oca, R. M. G. F.-M., Ramos-Leal, J. A., Solache-Ríos, M. J., Martínez-Miranda, V., & Fuentes-Rivas, R. M. (2019). Modification of the Relative Abundance of Constituents Dissolved in Drinking Water Caused by Organic Pollution: a Case of the Toluca Valley, Mexico. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230(7), 171. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4210-1>
- [12] Garza, G. (1996). Uncontrolled air pollution in Mexico City. *Cities*, 13(5), 315–328. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0264-2751\(96\)00019-4](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0264-2751(96)00019-4)

-
- [13] J, E. M., & S, W. P. (2005). Managing and Controlling Environmental Performance: Evidence from Mexico. In M. J. Epstein & J. Y. Lee (Eds.), *Advances in Management Accounting*, 115–137. [https://doi.org/10.1016/S1474-7871\(05\)14005-2](https://doi.org/10.1016/S1474-7871(05)14005-2)
- [14] Silva-Quiroz, R., Rivera, A. L., Ordoñez, P., Gay-Garcia, C., & Frank, A. (2019). Atmospheric blockages as trigger of environmental contingencies in Mexico City. *Heliyon*, 5(7), 2099. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02099>
- [15] Ding, G., Xin, L., Guo, Q., Wei, Y., Li, M., & Liu, X. (2020). Environmental risk assessment approaches for industry park and their applications. *Resources, Conservation and Recycling*, 159, 104844. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.104844>
- [16] Muralikrishna, I. V., & Manickam, V. (2017). Chapter Eight - Environmental Risk Assessment. In I. V Muralikrishna & V. Manickam (Eds.), *Environmental Management* 135-152. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811989-1.00008-7>
- [17] Anguiano Miranda, J. Y. (2018). Analysis of the Concentrations of Particulate Material Less than 10 Microns (PM₁₀) from Data from the Automatic Atmospheric Monitoring Network of the Metropolitan Area of the Toluca Valley 2011-2017. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca de Lerdo, Estado de México
- [18] Meraz, M., Rodriguez, E., Femat, R., Echeverria, J. C., & Alvarez-Ramirez, J. (2015). Statistical persistence of air pollutants (O₃, SO₂, NO₂ and PM₁₀) in Mexico City. *Physica A: Statistical Mechanics and Its Applications*, 427, 202–217. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physa.2015.02.009>

-
- [19] Ubilla, C., & Yohannessen, K. (2017). Atmospheric pollution effects on respiratory health in children. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 28(1), 111–118. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2016.12.003>
- [20] Quintana-Belmares, R. O., Kraus, A. M., Esfahani, B. K., Rosas-Pérez, I., Mucs, D., López-Marure, R., Alfaro-Moreno, E. (2018). Phthalate esters on urban airborne particles: Levels in PM10 and PM2.5 from Mexico City and theoretical assessment of lung exposure. *Environmental Research*, 161, 439–445. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.11.039>
- [21] Amador-Muñoz, O., Bazán-Torija, S., Villa-Ferreira, S. A., Villalobos-Pietrini, R., Bravo-Cabrera, J. L., Munive-Colín, Z., Murillo-Tovar, M. A. (2013). Opposing seasonal trends for polycyclic aromatic hydrocarbons and PM10: Health risk and sources in southwest Mexico City. *Atmospheric Research*, 122, 199–212. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2012.10.003>
- [22] Vega, E., Reyes, E., Ruiz, H., García, J., Sánchez, G., Martínez-Villa, G., ... Watson, J. G. (2004). Analysis of PM2.5 and PM10 in the Atmosphere of Mexico City during 2000-2002. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 54(7), 786–798. <https://doi.org/10.1080/10473289.2004.10470952>
- [23] ICAMEX. (2020). Institute for Agricultural, Aquaculture and Forestry Research and Training. Retrieved from Investigation website: <http://icamex.edomex.gob.mx/investigacion>
- [24] Nava-Rogel, R. M., Cernas-Ortiz, D. A., & Becerril-Torres, O. U. (2017). Municipal competitiveness indicator in the State of Mexico to build a competitive environment. *Economía, Sociedad y Territorio*, 17, 241–278. <https://doi.org/https://doi.org/10.22136/est002017635>.

- [25] Hernández Téllez, M. (2015). Estimation of the change in land use in the municipality of Villa Guerrero, State of Mexico, and the influence of this change due to the expansion of greenhouses in the period 1989-2014, through remote sensing. (Universidad Autónoma del Estado de México). Retrieved from <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/49204>
- [26] Tecuapetla Vargas, M. G. (2014). Ecotoxicity produced by Agrochemicals used in the cultivation of *Gerbera Jamesonii* in Greenhouse, in Villa Guerrero, State of Mexico (Universidad Autónoma del Estado de México). Retrieved from <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/14895>
- [27] Dirección General de Protección Civil del Estado de México & Ayuntamiento de Villa Guerrero. (2015). ATLAS OF RISKS VILLA GUERRERO. Retrieved from https://www.ipomex.org.mx/recursos/ipo/files_ipo/2013/138/11/60a2b920c7d5d0af7ebc2a431251b46a.pdf
- [28] Velázquez, A., Sánchez, J. C., Adame Martínez, S., Paredes, J., & Mancino, M. (2017). Determination of vulnerability of aquifers using SINTACS method by application of pesticides in floricultural soils in Villa Guerrero, State of Mexico. *Revista Universitaria de Geografía*, 26(2), 111–129. Retrieved from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=383254667005>
- [29] Castillo Cadena, J., Montenegro Morales, L. P., & Lopez Arriaga, J. A. (2017). The use of highly dangerous pesticides in floriculture in the State of Mexico and the synergistic effect of mixtures. In *Highly Hazardous Pesticides in Mexico* (first edition, p. 364). Retrieved from <https://www.rapam.org/wp-content/uploads/2017/09/Libro-Plaguicidas-Final-14-agst-2017sin-portada.pdf#page=253>

-
- [30] García Hernández, J., Leyva Morales, J., Martínez Rodríguez, I., Hernández Ochoa, M., Aldana Madrid, M., Rojas García, A., Betancourt Lozano, M., Perez Herrera, N., & Perera Rios, J. (2018). Current status of research on pesticides in Mexico. *International Journal of Environmental Pollution*, 34, 29-60. doi:<http://dx.doi.org/10.20937/RICA.2018.34.esp01.03>
- [31] Gupta, D. K., Chatterjee, S., Datta, S., Veer, V., & Walther, C. (2014). Role of phosphate fertilizers in heavy metal uptake and detoxification of toxic metals. *Chemosphere*, 108, 134–144. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.030>
- [32] Zamudio-González, B., Tadeo-Robledo, M., Espinosa-Calderón, A., Martínez Rodríguez, J. N., Celis Euan, D. I., Valdivia Bernal, R., & Zaragoza Esparza, J. (2015). Agronomic efficiency of soil fertilization of macro nutrients in corn hybrids. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6, 1557–1569. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000700011
- [33] Stathopoulou, M. G., Kanoni, S., Papanikolaou, G., Antonopoulou, S., Nomikos, T., & Dedoussis, G. (2012). Mineral Intake. In C. Bouchard & J. M. Ordovas (Eds.), *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 108, 201-236. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398397-8.00009-5>
- [34] Londoño-franco, I. F., Londoño-Muñoz, p. T., & Muñoz-García, F. G. (2016). The risks of heavy metals to human and animal health. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 14, 145–153. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1692-35612016000200017&script=sci_abstract&tlng=es

- [35] Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68(1), 167–182. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>
- [36] Göhre, V., & Paszkowski, U. (2006). Contribution of the arbuscular mycorrhizal symbiosis to heavy metal phytoremediation. *Planta*, 223(6), 1115–1122. <https://doi.org/10.1007/s00425-006-0225-0>
- [37] Torres-Sánchez, L., Vázquez-Salas, R. A., Vite, A., Galván-Portillo, M., Cebrián, M. E., Macias-Jiménez, A. P., Montes, S. (2018). Blood cadmium determinants among males over forty living in Mexico City. *Science of The Total Environment*, 637–638, 686–694. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.371>
- [38] Alvarez-Solorza, I., Toxqui-Tlachino, M. J. G., Vega-García, A. E., Upegui-Arango, L. D., Bustamante-Montes, L. P., & Roman-Miranda, B. (2018). Association between exposure to heavy metals and chronic kidney disease of unknown etiology in Mexico. *Revue d'Épidémiologie et de Santé Publique*, 66, S364. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.respe.2018.05.348>
- [39] El-Kady, A. A., & Abdel-Wahhab, M. A. (2018). Occurrence of trace metals in foodstuffs and their health impact. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 36-45. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.001>
- [40] Wongsasuluk, P., Chotpantarat, S., Siriwong, W., & Robson, M. (2018). Using hair and fingernails in binary logistic regression for bio-monitoring of heavy metals/metalloid in groundwater in intensively agricultural areas, Thailand. *Environmental Research*, 162, 106–118. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.11.024>

-
- [41] Costa, C., & Teixeira, J. P. (2014). Biomonitoring. In P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology*. Third Edition, 483-484. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.01000-9>
- [42] Coelho, P. C. S., & Teixeira, J. P. (2014). Biomarkers, Human Health. In P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology*. Third Edition, 479-482. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00365-1>
- [43] Mejía C, R., García R, G., López R, C., Ávila P, P., & Longoria G, L. (2012). Analysis by neutron activation in moss samples for the determination of Cr, Se, As and Hg; Retrieved from <https://www.osti.gov/etdeweb/biblio/2210931>
- [44] Ávila-Pérez, P., Longoria-Gándara, L. C., García-Rosales, G., Zarazua, G., & López-Reyes, C. (2018). Monitoring of elements in mosses by instrumental neutron activation analysis and total X-ray fluorescence spectrometry. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 317(1), 367–380. <https://doi.org/10.1007/s10967-018-5896-z>
- [45] Amezcua López, J. A., Solís Pacheco, J. R., García Morales, E., Gutiérrez Padilla, J. A., Zepeda Morales, A. S. M., Angulo Castellanos, E., Aguilar Uscanga, B. R. (2019). Influence of the diet of Mexican women on the nutritional quality and the presence of beneficial microorganisms in human milk. *Nutrición hospitalaria*, 36(5), 1139–1149. <https://doi.org/10.20960/nh.02477>
- [46] Adenuga, A. A., Ayinuola, O., Adejuyigbe, E. A., & Ogunfowokan, A. O. (2020). Biomonitoring of phthalate esters in breast-milk and urine samples as biomarkers for neonates exposure, using modified quechers method with agricultural biochar as dispersive solid-phase extraction absorbent. *Microchemical Journal*, 152, 104277. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.104277>

-
- [47] D'Avila, F. B., Limberger, R. P., & Fröhlich, P. E. (2016). Cocaine and crack cocaine abuse by pregnant or lactating mothers and analysis of its biomarkers in meconium and breast milk by LC–MS—A review. *Clinical Biochemistry*, 49(13), 1096–1103. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2016.01.019>
- [48] Monaco, M. H., Kim, J., & Donovan, S. M. (2016). Human Milk: Composition and Nutritional Value. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F. Toldrá (Eds.), *Encyclopedia of Food and Health*, 357–362. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00413-X>.
- [49] Tan, S. S., Khor, G. L., Stoutjesdijk, E., Ng, K. W. T., Khouw, I., Bragt, M., Muskiet, F. A. J. (2020). Case study of temporal changes in maternal dietary intake and the association with breast milk mineral contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 89, 103468. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103468>
- [50] Léké, A., Grognet, S., Deforceville, M., Goudjil, S., Chazal, C., Kongolo, G., Biendo, M. (2019). Macronutrient composition in human milk from mothers of preterm and term neonates is highly variable during the lactation period. *Clinical Nutrition Experimental*, 26, 59-72. <https://doi.org/10.1016/j.yclnex.2019.03.004>
- [51] Andreas, N. J., Kampmann, B., & Mehring Le-Doare, K. (2015). Human breast milk: A review on its composition and bioactivity. *Early Human Development*, 91(11), 629-635. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.013>
- [52] Ballard, O., & Morrow, A. L. (2013). Human Milk Composition: Nutrients and Bioactive Factors. *Pediatric Clinics of North America*, 60(1), 49-74. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pcl.2012.10.002>

-
- [53] Radmacher, P. G., & Adamkin, D. H. (2017). Fortification of human milk for preterm infants. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 22(1), 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.siny.2016.08.004>
- [54] Zhang, L. (2014). 4 - Variations in the chemical composition of human milk. In M. Guo (Ed.), *Human Milk Biochemistry and Infant Formula Manufacturing Technology* (pp. 55–111). <https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9780857099150.1.55>
- [55] Chang, N., Jung, J. A., Kim, H., Jo, A., Kang, S., Lee, S.-W., Jung, B.-M. (2015). Macronutrient composition of human milk from Korean mothers of full-term infants born at 37-42 gestational weeks. *Nrp*, 9(4), 433-438. <https://doi.org/10.4162/nrp.2015.9.4.433>
- [56] Khatami, S.-F., Parvaresh, P., Parvaresh, P., Madani Kouchak, S. S., & Khorsandi, J. (2014). Breast milk concentration of rubidium in lactating mothers by instrumental neutron activation analysis method. *Iranian Journal of Pediatrics*, 24(6), 692–696. Retrieved from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26019773>
- [57] Taravati Javad, M., Vahidinia, A., Samiee, F., Elaridi, J., Leili, M., Faradmal, J., & Rahmani, A. (2018). Analysis of aluminum, minerals, and trace elements in the milk samples from lactating mothers in Hamadan, Iran. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 8–15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.05.016>
- [58] Bassil, M., Daou, F., Hassan, H., Yamani, O., Kharma, J. A., Attieh, Z., & Elaridi, J. (2018). Lead, cadmium and arsenic in human milk and their socio-demographic and lifestyle determinants in Lebanon. *Chemosphere*, 191, 911–921. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.111>

- [59] Ekinci, N., Ekinci, R., Polat, R., & Budak, G. (2005). The determination of calcium concentrations in human milk with energy dispersive X-ray fluorescence. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 91(2), 155-160. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2004.05.053>
- [60] McCarthy, W. P., Daly, K., Fenelon, A., O'Connor, C., McCarthy, N. A., Hogan, S. A., O'Callaghan, T. F. (2020). Energy-dispersive X-ray fluorescence spectrometry as a tool for the rapid determination of the five major minerals (Na, Mg, K, P and Ca) in skim milk powder. *International Journal of Dairy Technology*, 73(2), 459–467. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1471-0307.12677>
- [61] Briggs, D. (2003). Environmental pollution and the global burden of disease. *British Medical Bulletin*, 68(1), 1–24. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg019>
- [62] Tirado Amador, L. R., González Martínez, F. D., Martínez Hernández, L. J., Wilches Vergara, L. A., & Celedón Suárez, J. N. (2015). Heavy metal levels in biological samples and their importance in health. *National Journal of Dentistry*, 11 (21), 16. <https://doi.org/https://doi.org/10.16925/od.v11i21.895>
- [63] Brusseau, M. L. (2019). Chapter 15 - Subsurface Pollution. In Mark L Brusseau, I. L. Pepper, & C. P. Gerba (Eds.), *Environmental and Pollution Science (Third Edition)* (pp. 237–259). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814719-1.00015-X>.
- [64] Cao, J., Xu, X., Hylkema, MN, Zeng, EY, Sly, PD, Suk, WA, Huo, X. (2016). Early life exposure to widespread environmental toxins and health risk: a focus on the immune and respiratory systems. *Annals of Global Health*, 82 (1), 119-131. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.aogh.2016.01.023>

-
- [65] Heyer, D. B., & Meredith, R. M. (2017). Environmental toxicology: Sensitive periods of development and neurodevelopmental disorders. *NeuroToxicology*, 58, 23–41. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.10.017>
- [66] Chao, H.-H., Guo, C.-H., Huang, C.-B., Chen, P.-C., Li, H.-C., Hsiung, D.-Y., & Chou, Y.-K. (2014). Arsenic, Cadmium, Lead, and Aluminium Concentrations in Human Milk at Early Stages of Lactation. *Pediatrics & Neonatology*, 55(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.08.005>
- [67] Martínez, M. Á., Castro, I., Rovira, J., Ares, S., Rodríguez, J. M., Cunha, S. C., Nadal, M. (2019). Early-life intake of major trace elements, bisphenol A, tetrabromobisphenol A and fatty acids: Comparing human milk and commercial infant formulas. *Environmental Research*, 169, 246–255. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.11.017>
- [68] Solis Segura, L. M., & Amado Lopez Arriaga, J. (2003). Basic principles of environmental pollution. Toluca, Mexico, Autonomous University of the State of Mexico.
- [69] UNICEF, F. de las N. U. para la I. (2020). Breastfeeding. Retrieved April 20, 2020, from https://www.unicef.org/spanish/nutrition/index_24824.html
- [70] OMS, O. M. de la S. (2020). Infant and young child feeding. Retrieved June 20, 2020, from <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/infant-and-young-child-feeding>
- [71] PROFECO, P. F. del C. (2020). Breast milk today, health and well-being in the future. Retrieved from Gobierno de México website:

<https://www.gob.mx/profeco/documentos/leche-materna-hoy-salud-y-bienestar-en-el-futuro?state=published>

- [72] Ortega-Ramírez, M. E. (2015). Recommendations for successful breastfeeding. *Acta Pediátrica de México*, 36, 126–129. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-23912015000200011
- [73] Díaz-Argüelles Ramírez-Corría, V. (2005). Breastfeeding: nutritional assessment in the newborn. *Revista Cubana de Pediatría*, 77, 0. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312005000200005
- [74] Pozzi, C. M. C., Braga, C. P., Vieira, J. C. S., Cavecci, B., Vitor de Queiroz, J., de Souza Barbosa, H., Padilha, P. de M. (2015). Metal ions bound to the human milk immunoglobulin A: Metalloproteomic approach. *Food Chemistry*, 166, 492–497. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.040>
- [75] Grzunov LetiniĹ, J., Matek SariĹ, M., Piasek, M., JurasoviĹ, J., Varnai, V. M., Sulimanec Grgec, A., & Orct, T. (2016). Use of human milk in the assessment of toxic metal exposure and essential element status in breastfeeding women and their infants in coastal Croatia. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 38, 117–125. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.08.002>
- [76] Oliveira, M. M., Trevilato, T. M. B., Segura-Muñoz, S. I., Aragon, D. C., Alves, L. G., Nadal, M., Camelo, J. S. (2020). Essential and toxic elements in human milk concentrate with human milk lyophilizate: A preclinical study. *Environmental Research*, 188, 109733. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109733>

-
- [77] Ekeanyanwu, C. L., Alisi, C. S., & Ekeanyanwu, R. C. (2020). Levels of Aflatoxin M1 and selected heavy metals (Pb, Cd, Cr, Cu, Zn, Fe, As, and Hg) in the breast milk of lactating mothers in South Eastern, Nigeria. *Food Control*, 112, 107150. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107150>
- [78] Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Díaz-Lagos, M., & González-Jimenez, E. (2016). Heavy Metal Contamination: Implications for Health, Environment and Food Safety. *Ingeniería Investigación y Desarrollo*, 16(2). <https://doi.org/10.19053/1900771X.v16.n2.2016.5447>
- [79] Rodríguez Heredia, D. (2017). Occupational heavy metal poisoning. *MEDISAN*, 21, 3372–3385. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1029-30192017001200012&lng=es&nrm=iso&tlng=en.
- [80] Gadd, G. M. (2019). Heavy Metal Pollutants: Environmental and Biotechnological Aspects. In T. M. Schmidt (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology (Fourth Edition)* (pp. 504–517). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.13057-2>
- [81] Patra, K., Hamilton, M., Johnson, T. J., Greene, M., Dabrowski, E., Meier, P. P., & Patel, A. L. (2017). NICU Human Milk Dose and 20-Month Neurodevelopmental Outcome in Very Low Birth Weight Infants. *Neonatology*, 112(4), 330–336. <https://doi.org/10.1159/000475834>
- [82] Sammallahti, S., Kajantie, E., Matinolli, HM, Pyhälä, R., Lahti, J., Heinonen, K., Raikonen, K. (2017). Nutrición después del parto prematuro y resultados neurocognitivos en adultos. *PLoS ONE*, 12 (9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185632>
- [83] Angerer, J., Ewers, U., & Wilhelm, M. (2007). Human biomonitoring: State of the art. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(3), 201–228. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2007.01.024>

- [84] Arango V, S. S. (2012). Biomarkers for human health risk assessment. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 30, 75–82. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-386X2012000100009
- [85] Sánchez-Illana, Á., Parra-Llorca, A., Escuder-Vieco, D., Pallás-Alonso, C. R., Cernada, M., Gormaz, M., Kuligowski, J. (2018). Biomarkers of oxidative stress derived damage to proteins and DNA in human breast milk. *Analytica Chimica Acta*, 1016, 78–85. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.01.054>
- [86] Cano-Sancho, G., Alexandre-Gouabau, M.-C., Moyon, T., Royer, A.-L., Guitton, Y., Billard, H., Antignac, J.-P. (2020). Simultaneous exploration of nutrients and pollutants in human milk and their impact on preterm infant growth: An integrative cross-platform approach. *Environmental Research*, 182, 109018. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.109018>
- [87] Dualde, P., Pardo, O., Corpas-Burgos, F., Kuligowski, J., Gormaz, M., Vento, M., Yusà, V. (2020). Biomonitoring of parabens in human milk and estimated daily intake for breastfed infants. *Chemosphere*, 240, 124829. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124829>
- [88] Zhang, L., Wu, Y., Ma, Y., Xu, Z., Ma, Y., & Zhou, P. (2020). Macronutrients, total aerobic bacteria counts and serum proteome of human milk during refrigerated storage. *Food Bioscience*, 35, 100562. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100562>.
- [89] Vázquez-Román, S., Escuder-Vieco, D., Martín-Pelegrina, M. D., Muñoz-Amat, B., Fernández-Álvarez, L., Brañas-García, P., Pallás-Alonso, C. R. (2018). *Short communication:* Effect of refrigerated storage on the pH and

-
- bacterial content of pasteurized human donor milk. *Journal of Dairy Science*, 101(12), 10714–10719. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14984>.
- [90] Paredes, A. M. (2014). MICROSCOPY | Transmission Electron Microscopy. In C. A. Batt & M. Lou Tortorello (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology* (Second Edition) (pp. 711–720). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00216-0>.
- [91] Flores Cruz, D. O. (2012). Synthesis and characterization of carbon conditioned with iron nanoparticles for the elimination of arsenic in the aqueous phase (instituto Tecnológico de Toluca). Retrieved from https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/44/083/44083114.pdf
- [92] Yim, O., & Ramdeen, K. T. (2015). Hierarchical Cluster Analysis: Comparison of Three Linkage Measures and Application to Psychological Data. *The Quantitative Methods for Psychology*, 11 (1), 8-21. <https://www.tqmp.org/RegularArticles/vol11-1/p008/p008.pdf>.
- [93] da Silva Torres, E. A. F., Garbelotti, M. L., & Moita Neto, J. M. (2006). The application of hierarchical clusters analysis to the study of the composition of foods. *Food Chemistry*, 99(3), 622–629. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.032>.
- [94] Kene Ejeahalaka, K., & On, S. L. W. (2020). Effective detection and quantification of chemical adulterants in model fat-filled milk powders using NIRS and hierarchical modelling strategies. *Food Chemistry*, 309, 125785. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125785>
- [95] Barraza-Garza, G., de la Rosa, L. A., Martínez-Martínez, A., Castillo-Michel, H., Cotte, M., & Alvarez-Parrilla, E. (2013). Fourier transform infrared

-
- microspectroscopy (FTIRM) in the study of biological systems. *Revista Latinoamericana de Química*, 41, 125–148. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-59432013000300001.
- [96] INEGI (2019). Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Retrieved December 20, 2019, from <https://www.inegi.org.mx/app/buscador/default.html?q=municipio+de+villa+guerrero#tabMCcollapse-Indicadores>.
- [97] Aquino-Martínez, J. G., Vázquez-García, L. M., & Reyes-Reyes, B. G. (2008). In vitro and in vivo biocontrol of *Fusarium oxysporum* Schlecht. F. sp. dianthi (Prill. and Delacr.) Snyder and Hans. with Native Antagonist Fungi of the Villa Guerrero Floricultural Zone, State of Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 26, 127–137. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092008000200005&script=sci_abstract&tlng=pt.
- [98] Sánchez Alvirde, B. (2018). Study of the Effects of Climate Variability in the Southern Floriculture Corridor of the State of Mexico (Universidad Autónoma del Estado de México). Retrieved from <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/95213>.
- [99] Zepeda-Gómez, C., Ávila-Pérez, P., Díaz-García, U. S., Alanís-Martínez, Y., Zarazúa-Ortega, G., & Amaya-Chávez, A. (2014). Diversity of epiphytic mosses in the metropolitan area of the Toluca valley, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(1), 108–124. <https://doi.org/https://doi.org/10.7550/rmb.35456>.
- [100] Flores, A. V., & Cenecorta, A. I. (2015). Metropolitan governance as a strategy to plan and manage the development of the Metropolitan Area of the Toluca Valley.

-
- Revista de Estudios Regionales, (102), 91–118.
<https://www.redalyc.org/pdf/755/75539637003.pdf>.
- [101] Nielsen, S. S. (2010). Determination of Moisture Content. In S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis Laboratory Manual* (pp. 17–27). https://doi.org/10.1007/978-1-4419-1463-7_3.
- [102] Butts, C., Hedderley, D., Herath, T., Paturi, G., Glyn-Jones, S., Wiens, F., ... Gopal, P. (2018). Human Milk Composition and Dietary Intakes of Breastfeeding Women of Different Ethnicity from the Manawatu-Wanganui Region of New Zealand. *Nutrients*, 10(9), 1231. <https://doi.org/10.3390/nu10091231>.
- [103] Vaughan, L. A., Weber, C. W., & Kemberling, S. R. (1979). Longitudinal changes in the mineral content of human milk. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 32(11), 2301–2306. <https://doi.org/10.1093/ajcn/32.11.2301>
- [104] Canfield, L. M., Giuliano, A. R., Neilson, E. M., Yap, H. H., Graver, E. J., Cui, H. A., & Blashill, B. M. (1997). beta-Carotene in breast milk and serum is increased after a single beta-carotene dose. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 66(1), 52–61. <https://doi.org/10.1093/ajcn/66.1.52>
- [105] Lawton, M. E. (1985). Alcohol in Breast Milk. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 25(1), 71–73. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.1985.tb00609.x>.
- [106] Lucas, A., Ewing, G., Roberts, S. B., & Coward, W. A. (1987). How much energy does the breast fed infant consume and expend? *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, 295(6590), 75. <https://doi.org/10.1136/bmj.295.6590.75>.

-
- [107] García-López, R. (2011). Composición e inmunología de la leche humana. *Acta Pediátrica de México*, 32(4), 223–230. Retrieved from <https://www.medigraphic.com/pdfs/actpedmex/apm-2011/apm114f.pdf>
- [108] Gómez Gallego, C., Pérez Conesa, D., Bernal Cava, M. J., Periago Castón, M. J., & Ros Berruezo, G. (2009). Functional compounds of human milk. *Global Nursing*, 0. ISSN 1695-6141.
- [109] Koletzko, B., Bhutta, Z. A., Cai, W., Cruchet, S., Guindi, M. E., Fuchs, G. J., ... Walker, A. (2013). Compositional Requirements of Follow-Up Formula for Use in Infancy: Recommendations of an International Expert Group Coordinated by the Early Nutrition Academy. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 62(1), 44–54. <https://doi.org/10.1159/000345906>.
- [110] Arellano, M. P., Aguilera, J. M., & Bouchon, P. (2004). Development of a digital video-microscopy technique to study lactose crystallisation kinetics in situ. *Carbohydrate Research*, 339(16), 2721–2730. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.09.009>.
- [111] Zou, X., Huang, J., Jin, Q., Guo, Z., Liu, Y., Cheong, L., Wang, X. (2013). Lipid Composition Analysis of Milk Fats from Different Mammalian Species: Potential for Use as Human Milk Fat Substitutes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(29), 7070–7080. <https://doi.org/10.1021/jf401452y>.
- [112] Sánchez Tosca, D. (2021). Study of the presence of organochlorine compounds in breast milk in the Toluca Valley. Instituto Tecnológico de Toluca, Toluca de Lerdo, Estado de México.

-
- [113] Parat, S., Groh-Wargo, S., Merlino, S., Wijers, C., & Super, D. M. (2017). Validation of mid-infrared spectroscopy for macronutrient analysis of human milk. *Journal of Perinatology*, 37(7), 822–826. <https://doi.org/10.1038/jp.2017.52>.
- [114] Fusch, G., Rochow, N., Choi, A., Fusch, S., Poeschl, S., Ubah, A. O., Fusch, C. (2015). Rapid measurement of macronutrients in breast milk: How reliable are infrared milk analyzers? *Clinical Nutrition*, 34(3), 465–476. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2014.05.005>.