

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

*“Estudio de la Presencia de Aflatoxina B1 en Bocaditos a base de
Maíz Comercializados en las Escuelas Fiscomisionales de las
Zonas del Guasmos en la Ciudad de Guayaquil”*

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIEROS DE ALIMENTOS

Presentada por:

Evelyn Stefanie Rodríguez Montesdeoca

Marcelo Ivan Vizcarra Bazan

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2012

AGRADECIMIENTO

A nuestra directora de tesis,
MSc. María Fernanda
Morales Romo-Leroux, una
de las personas que más
admiramos por su
inteligencia y
conocimientos.

A la Ing. Priscila Castillo y
Ing. Ana María Costa por su
ayuda brindada durante el
desarrollo de la tesis.

A Neogen Corporation, por
haber suministrados el
equipo de Técnica
MicroElisa, el cual se utilizó
en este estudio.

Evelyn Stefanie Rodríguez Montesdeoca

AGRADECIMIENTO

A nuestra directora de tesis,
MSc. María Fernanda
Morales Romo-Leroux, una
de las personas que más
admiramos por su
inteligencia y
conocimientos.

A la Ing. Priscila Castillo y
Ing. Ana María Costa por su
ayuda brindada durante el
desarrollo de la tesis.

A Neogen Corporation, por
haber suministrados el
equipo de Técnica
MicroElisa, el cual se utilizó
en este estudio.

Marcelo Ivan Vizcarra Bazan

DEDICATORIA

A mí querida familia, en especial a mis padres que son mi guía continúa.

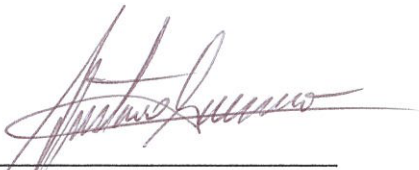
Evelyn Stefanie Rodríguez Montesdeoca

DEDICATORIA

A mis padres, hermanos y
amigos por su constante
apoyo en los buenos y malos
momentos durante esta
investigación.

Marcelo Ivan Vizcarra Bazan

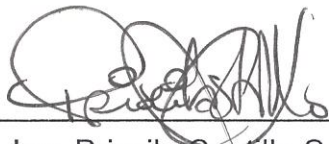
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Ing. Gustavo Guerrero M.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE



MSc. María Fernanda Morales R.
DIRECTORA

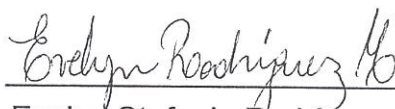


Ing. Priscila Castillo S.
VOCAL

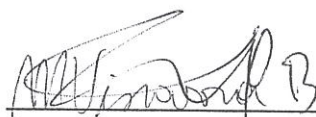
DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta
Tesis de Grado, nos corresponde
exclusivamente; y el patrimonio intelectual
de la misma a la ESCUELA SUPERIOR
POLITÉCNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).



Evelyn Stefanie Rodríguez Montesdeoca



Marcelo Ivan Vizcarra Bazan

RESUMEN

Este estudio se desarrolló con el fin de demostrar y cuantificar si existe o no la presencia de AFB1 en los bocaditos a base de maíz (snacks) comercializado en bares de escuelas fiscomisionales del sector del Guasmos.

Se solicitó la base de datos de las escuelas ubicadas en la parroquia Ximena, a la Muy Ilustre Municipalidad de Guayaquil. Para segmentar las escuelas fiscomisionales del sector de los Guasmos, se seleccionaron las escuelas con mayor número de alumnos y se visitó las escuelas para obtener información acerca de sus hábitos alimenticios durante el receso.

La información obtenida acerca de los bocaditos de maíz más consumidos, fue recolectada a través de encuestas dirigidas a los niños consumidores de snacks. Se tabularon y procesaron los datos para la elaboración del análisis los resultados y además se recolectaron 8 muestras en supermercados ubicados en el sector de los Guasmos. El método utilizado para la determinación y cuantificación de la AFB1, se lo realizó a través de la técnica de Elisa. La lectura de las absorbancias de las muestras fueron realizadas mediante el lector de micro pocillos STAT FAX READER A 650 nm.

La concentración máxima de la AFB1 reglamentada por la FAO es de 20 ppb. Los valores de la concentración que arrojo este estudio para cada una de las muestras analizadas de los bocaditos de maíz fueron <2ppb, estos resultados nos indicaron la ausencia de aflatoxinas, en las muestras recogidas.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ABREVIATURAS.....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
ÍNDICE DE TABLAS.....	IX
ÍNDICE DE ANEXOS.....	XII
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVOS.....	3

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO.....	4
1.1 Las Micotoxinas: Generalidades.....	4
1.2 Las Aflatoxinas: Definición.....	5
1.2.1 Tipos de Aflatoxinas.....	7
1.2.2 Aflatoxina B1.....	8
1.3 Principales hongos que la producen.....	9
1.3.1 Ruta Metabólica de producción de la toxina por el hongo productor.....	10
1.3.2 Condiciones favorables para la contaminación de aflatoxinas.....	12
1.4 Metabolismo: Transformación.....	13

1.4.1 Efecto de las aflatoxinas: Órgano Target.....	15
1.4.2 Efectos carcinógenos y mutagénicos.....	16
1.4.3 Dosis letales de aflatoxina.....	18
1.5 Legislación sobre los niveles de aflatoxinas en productos a base de maíz.....	19
1.6 Medidas de Prevención y Control.....	25
1.6.1 Procedimientos para reducir la presencia de aflatoxinas...	26
1.7 Maíz: generalidades y Tipos.....	27
1.7.1 Estabilidad y degradación de la aflatoxina B1 en el maíz....	29
1.7.2 Presencia de aflatoxinas en maíz y en bocaditos a base de maíz.....	31
1.7.3 Requisitos de calidad que debe cumplir el maíz en grano...	32

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA.....	34
2.1 Métodos de análisis de Aflatoxina B1 en bocaditos a base de Maíz.....	44
2.1.1 Técnica de elisa.....	44
2.2 Población de estudio y toma de muestra.....	46
2.3 Preparación de controles positivos.....	46
2.4 Elaboración de la curva patrón.....	47
2.5 Procesamiento de la muestra.....	48
2.6 Consideraciones generales.....	49

2.7 Implementación del ensayo.....	50
2.8 Validación de resultados.....	55

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS.....	56
3.1 Resultados de los controles positivos.....	65
3.2 Resultados para la curva de calibración.....	67
3.3 Resultado de cuantificación de Aflatoxina B1 para cada una de las muestras tomadas.....	70
3.4 Resultados de la validación.....	81

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	83
--	----

ANEXOS

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

AFB1:	Aflatoxina B1
ELISA:	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FAO:	Food and Agricultural Organization
Ppb:	Parte por billón
%:	Por ciento
nm:	nanómetro
ng:	nanogramos
Kg:	Kilogramos
Pm:	peso molecular
OMS:	Organización Mundial de la Salud
IARC:	International Agency for Research on Cancer
°C:	Grados Centígrados
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
AF:	aflatoxina
AFQ1:	aflatoxina Q1
AFP1:	aflatoxina P1
AFM1:	aflatoxina M1
NADHP:	Nicotinamida-Adenina-Dinucleótido-Fosfato
G:	guanina
T:	tianina
FAPY:	formamidopirimidina
MERCOSUR:	Mercado Común del Sur
FDA:	Food and Drug Administration
UE:	Unión Europea
CE:	Comunidad Europea
pH	Potencial del hidrógeno
mg/kg:	miligramos por kilogramos
INEN:	Instituto Ecuatoriano de Normalización
3ro:	tercero
7mo:	séptimo
Ec:	Ecuación
cm:	Centímetros
ng/g	nanogramo por gramo
HPLC:	High-performance liquid chromatography
µl:	micro litros

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1.1	Fase de Crecimiento Fúngico y Localización de la Síntesis de Micotoxinas.....	5
Figura 1.2	Estructura de Aflatoxina B1, B2, G1, Y G2.....	7
Figura 1.3	Estructuras de Aflatoxinas M1, M2, B2a, Y G2a.....	8
Figura 1.4	Estructura Química de la Aflatoxina B1.....	9
Figura 1.5	Aspergillus flavus.....	10
Figura 1.6	Aspergillus parasiticus.....	10
Figura 1.7	Biosíntesis de La Aflatoxina B1.....	11
Figura 1.8	Metabolismo de La Aflatoxina B1.....	14
Figura 1.9	Órgano Target de La Aflatoxina B1.....	15
Figura 1.10	Micotoxinas en los Alimentos en América Latina.....	20
Figura 1.11	Micotoxinas Reglamentados en América del Norte.....	21
Figura 1.12	Micotoxinas en los Alimentos Reglamentados en Europa....	23
Figura 1.13	Variedades Ecuatorianas de Maíces.....	28
Figura 2.1	Técnica ELISA Paso 1.....	50
Figura 2.2	Técnica ELISA Paso 2.....	51
Figura 2.3	Técnica ELISA Paso 3.....	51
Figura 2.4	Técnica ELISA Paso 4.....	52
Figura 2.5	Técnica ELISA Paso 5.....	52
Figura 2.6	Técnica ELISA Paso 6.....	53
Figura 2.7	Técnica ELISA Paso 7.....	54
Figura 2.8	Técnica ELISA Paso 8.....	54
Figura 3.1	Porcentaje de las Golosinas Más Consumidas por los Niños Durante El Recreo.....	57
Figura 3.2	Porcentaje de las Marcas Más Consumidas por Los Niños Durante El Recreo.....	59
Figura 3.3	Bocaditos a Base de Maíz de Mayor Preferencia por los Niños Edades comprendidas entre Niños de 5 a 12 años O más.....	60
Figura 3.4	Preferencia de Consumo de Bocaditos a Base de Maíz.....	62
Figura 3.5	Refrigerios más Vendidos en los Bares de las Escuelas Visitadas.....	63
Figura 3.6	Curva de calibración del kit de Elisa Veratox® para Aflatoxina, para las concentraciones 0, 5, 15, y 50 ppb....	69
Figura 3.4	Certificado de Análisis	82

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1 Incidencia de Cáncer Primario a Través de la Ingesta Diaria De Aflatoxina B1.....	19
Tabla 2 Niveles de Acción establecidos por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA).....	22
Tabla 3 Niveles Máximos Permitidos para Alimentos elaborados a Base de Cereales y Alimentos Infantiles para Lactantes y Niños de Corta Edad Reglamentados por Unión Europea.....	23
Tabla 4 Niveles Máximos de Aflatoxinas en Productos Alimenticios Fijados por la Unión Europea.....	24
Tabla 5 Requisitos del Maíz al Momento de la Recepción.....	33
Tabla 6 Requisitos del Maíz en Grano para consumo Humano y Uso Industrial.....	33
Tabla 7 Valores de Z.....	38
Tabla 8 Escuelas Visitadas en Septiembre del 2011.....	40
Tabla 9 Golosinas más consumidas durante el Recreo en Bares de Las Escuelas.....	57
Tabla 10 Bocaditos de Maíz consumidos por los Niños en el Recreo.....	58
Tabla 11 Rango de Edades de los Niños consumidores de Bocaditos A Base de Maíz.....	60
Tabla 12 Frecuencia de Consumo de los Bocaditos a Base de Maíz (Snacks).....	61
Tabla 13 Refrigerios más Vendidos en los Bares de las Escuelas.....	63
Tabla 14 Porcentaje de Bares que Venden comida Chatarra.....	64
Tabla 15 Resultados de Absorbancia de las Muestras Fortificadas del Kit de Veratox® Para Aflatoxina, Alta Sensibilidad, Lectura En Stat® Fax Reader 650 nm.....	65
Tabla 16 Resultados de Absorbancia Promedio Entre Réplica y Muestra, Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Fortificadas.....	66
Tabla 17 Resultados del Porcentaje de Absorbancia de las Concentraciones Estándar del Kit de Veratox® para Aflatoxina, Lectura en Stat® Fax Reader A 650 nm.....	68
Tabla 18 Resultados de Absorbancia Promedio entre Réplica Y Muestra, Coeficiente De Variación, % De Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Concentraciones Estándar Provistas por el Kit de ELISA Veratox para Aflatoxina.....	69
Tabla 19 Resultados de Absorbancia para Las Muestras de Bocaditos de Maíz Marca 1, Lectura En Stat® Fax Reader A 650 Nm.....	71
Tabla 20 Resultados de Absorbancia Promedio Entre Réplica y Muestra,	

	Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Analizadas para la Marca 1.....	71
Tabla 21	Resultados de Absorbancia para las Muestras de Bocaditos De Maíz Tomadas a la Marca 2, Lectura en Stat® Fax Reader a 650 nm.....	72
Tabla 22	Resultados de Absorbancia Promedio Entre Réplica y Muestra, Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Analizadas Para la Marca 2.....	73
Tabla 23	Resultados de Absorbancia para las Muestras de Bocaditos De Maíz tomadas a la Marca 3, Lectura en Stat® Fax Reader a 650 Nm.....	74
Tabla 24	Resultados de Absorbancia Promedio entre Réplica y Muestra, Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Analizadas Para la Marca 3.....	74
Tabla 25	Resultados de Absorbancia para los Bocaditos de Maíz Tomadas de la Marca 4, Lectura en Stat® Fax Reader A 650 Nm.....	75
Tabla 26	Resultados de Absorbancia Promedio entre Réplica y Muestra, Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Analizadas Para la Marca 4.....	76
Tabla 27	Resultados de Absorbancia para Muestras de Bocaditos de Maíz tomadas a la Marca 5, lectura en Stat® Fax Reader A 650 Nm.....	77
Tabla 28	Resultados de Absorbancia Promedio entre Réplica y Muestra, Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Analizadas para la Marca 5.....	77
Tabla 29	Resultados de Absorbancia para Las Muestras de Bocaditos De Maíz Tomadas A La Marca 6, Lectura Stat® Fax Reader a 650 Nm.....	78
Tabla 30	Resultados de Absorbancia Promedio entre Réplica y Muestra, Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Analizadas para la Marca 6.....	79
Tabla 31	Resultados de Absorbancia para las Muestra de Bocaditos De Maíz tomadas a la Marca 7, Lectura Stat® Fax Reader a 650 Nm.....	80
Tabla 32	Resultados de Absorbancia Promedio entre Réplica y Muestra, Coeficiente de Variación, % de Absorbancia y Concentración De Micotoxina en Ppb, de las Muestras Analizadas para la	

Marca 7..... 80

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Niveles de acción establecidos por la administración de alimentos y medicamentos (FDA)
Anexo 2	Niveles máximos permitidos para alimentos elaborados a base de cereales y alimentos infantiles para lactantes y niños de corta edad reglamentados por la unión europea.
Anexo 3	Lista de las escuelas del sector del Guasmo
Anexo 4	Formulario de preguntas encuesta-producto dirigida a niños
Anexo 5	Formulario de preguntas encuesta-producto dirigida a dueños de bar
Anexo 6	Técnica ELISA
Anexo 7	Tríptico
Anexo 8	Curva de Calibración del equipo

INTRODUCCIÓN

El estudio de las aflatoxinas comenzó en Inglaterra en los años 60 debido a que se reportó una intoxicación masiva de pavos y animales de corral matando a más de 100.000 animales por el consumo de harina de cacahuete proveniente desde Brasil, dejando cuantiosas pérdidas Económicas.

Dentro de las micotoxinas, las aflatoxinas (especialmente la AFB1) es la que tiene mayor incidencia en el cáncer hepático. En el hombre, las aflatoxinas han sido responsables de casos como: hepatitis aguda, síndrome de Reye y cirrosis. La mayoría de estas enfermedades afectan principalmente a los niños, ya que son mucho más susceptibles que los adultos a los efectos de las aflatoxinas, debido a su menor peso, menor capacidad para la detoxificación, al no tener suficientes mecanismos bioquímicos para llevarla a cabo, metabolismo más acelerado y un desarrollo incompleto de diversos tejidos y órganos. El consumo en altas concentraciones de aflatoxina B1 puede llegar a causar hasta la muerte.

La contaminación por aflatoxinas se plantea como un serio problema en áreas tropicales. En el Ecuador, no existen evaluaciones básicas de la ingesta de aflatoxinas, ni el rendimiento de toda la evaluación del riesgo para los ecuatorianos. Esta situación es explicada por un lado, por la falta de

control de límites sobre la contaminación de micotoxinas en la comida y alimentos en Ecuador, por otro lado por la falta de recursos para establecer un sistema de control eficiente.

Un estudio realizado por Marc Mühlemann, Jürg Lüthy y Philipp Hübner de la Universidad de Berna en el año de 1997 acerca de la contaminación por micotoxinas de los alimentos en el Ecuador, mostró resultados preocupantes en términos de Salud Pública, demostrando la presencia de aflatoxina B1 en alimentos básicos, como lo son el arroz, leche, maíz, fréjol y maní. El valor promedio resultante de la ingesta total de aflatoxinas por los ecuatorianos es de 46 ng de aflatoxinas/kg de peso corporal/día, valor que está muy por encima del promedio de ingesta europeo (0.1 ng de aflatoxinas/kg de peso corporal/día) y también sobrepasa el rango de ingesta máximo permitido por la FAO de 0.04-0.14 aflatoxinas/kg de peso corporal/día. Además se compara la incidencia de cáncer hepático de la población ecuatoriana con la europea, siendo la nacional de 49 casos por cada 100.000 habitantes, mientras que los europeos presentan 1 caso por cada 100.000 habitantes.

OBJETIVOS

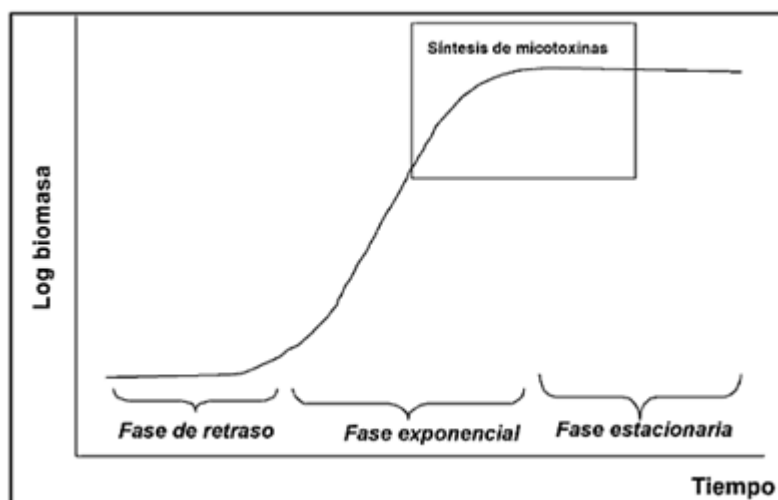
1. Identificar las marcas de bocaditos a base de maíz (snacks) más consumidos y la frecuencia de su consumo por los niños durante el recreo.
2. Analizar y verificar si existe o no la presencia de AFB1 en snacks a base de maíz que se distribuyen y comercializan en Guayaquil, mediante el uso de la técnica ELISA.
3. Aportar con más información de la existente sobre la contaminación por aflatoxinas en alimentos. En función de reconocer los problemas existentes, que permite una evaluación básica de riesgos y proveer información acerca de las causas por contaminación de AFB1.

CAPÍTULO 1

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Las Micotoxinas: Generalidades.

Las micotoxinas, se derivan de la palabra griega mikes y toxina, que significa hongo y veneno respectivamente, son compuestos que se suelen formar al final de fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho (véase figura 1), siendo a menudo asociado con la diferenciación y la esporulación. Son moléculas relativamente pequeñas ($P_m < 700$). La mayor parte de estos metabolitos secundarios se origina en la ruta policetónica. La cadena general policetónica, del tipo $[R-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CH_2-CO-CoA]$, es del cual se derivan la mayoría de las micotoxinas. Existen otras rutas biosintéticas pero son más complejas, esa complejidad se relaciona con un menor número de especies fúngicas capaces de elaborar las micotoxinas (Micotoxinas en Alimentos 2007).



Fuente: Micotoxinas en Alimentos, 2007.

FIGURA 1.1 FASE DE CRECIMIENTO FÚNGICO Y LOCALIZACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MICOTOXINAS.

Las micotoxinas pueden contaminar los alimentos, los piensos, las materias primas utilizadas para su elaboración, originando un grupo de enfermedades y trastornos denominado micotoxicosis, y que resulta tóxico para el hombre o los animales. Además, hay que tener en cuenta que la presencia de estas micotoxinas en los alimentos puede ser individual o simultánea en otros, lo que puede provocar efectos sinérgicos en su acción sobre el organismo aumentando así su toxicidad.

1.2 Las Aflatoxinas: Definición

Las aflatoxinas son potentes tóxicos, carcinógenos, agentes mutagénicos, inmunosupresores, que son metabolitos secundarios

producidos por el hongo *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* en la variedad de productos alimenticios. Las aflatoxinas son solubles en metanol, cloroformo, acetona, acetonitrilo.

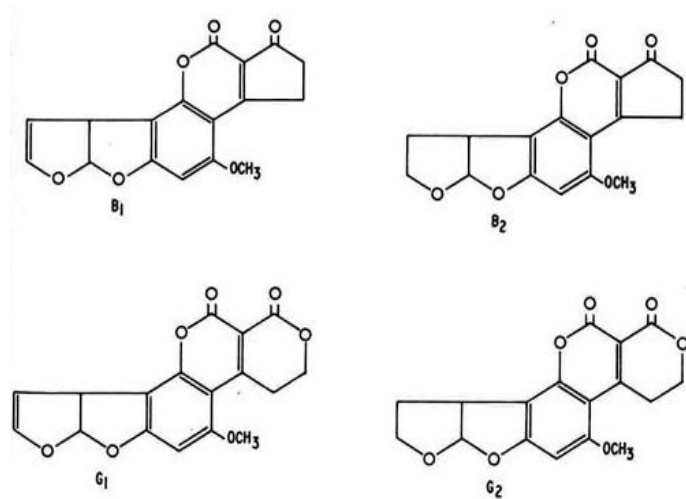
Las vacas que se alimentan con piensos contaminados por aflatoxinas de tipo B son capaces de metabolizar las aflatoxinas, hidroxilándolas en una posición determinada. Así, a partir de la aflatoxina B1 se forma la aflatoxina M1, y a partir de la aflatoxina B2 se forma la aflatoxina M2.

En la especie humana, las aflatoxinas son probablemente responsables de múltiples episodios de intoxicaciones masivas, con producción de hepatitis aguda, en distintas zonas de la India, Sudeste Asiático y África tropical y ecuatorial, y un factor de agravamiento de enfermedades producidas por la malnutrición, como el kwashiorkor (malnutrición proteica en niños). También son responsables muy probablemente, combinadas con otros factores, de la elevada tasa de cáncer hepático observado en algunas de esas zonas. Desde 1988, la OMS considera a la aflatoxina B1 como un carcinógeno para el hombre.

La contaminación con aflatoxina puede, entonces, producirse durante el cultivo, la recolección, el almacenaje, en la elaboración, o en la casa del consumidor, si los alimentos no son conservados adecuadamente (Pobland, A. E., 1993.).

1.2.1 Tipos de Aflatoxina

Entre 18 diferentes tipos de aflatoxinas identificados, los miembros más importantes son la aflatoxina B₁, B₂, G₁ y G₂. Se puede observar su estructura química (véase figura 1.2). *Aspergillus flavus* produce típicamente B₁ y B₂, donde como *Aspergillus parasiticus* producen G₁ y G₂, así como la B₁ y B₂.

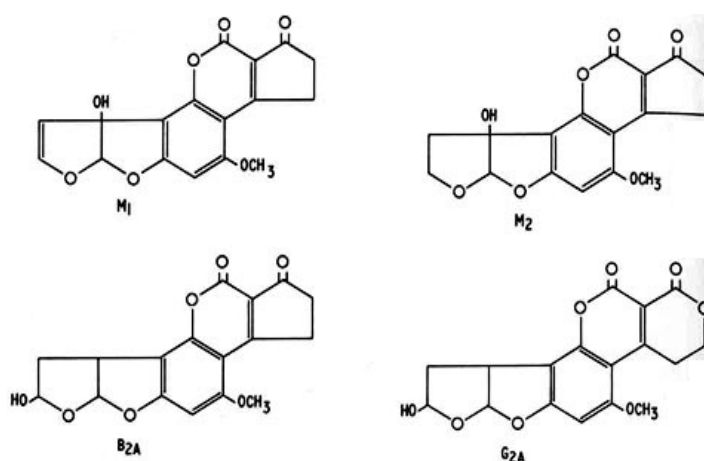


Fuente: Valladares, L., 1988

FIGURA 1.2 ESTRUCTURA DE AFLATOXINA B₁, B₂, G₁, Y G₂.

Otros cuatro aflatoxinas M₁, M₂, B₂A, G₂A que se pueden producir en cantidades menores fueron aislados posteriormente a partir de cultivos de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, (véase figura 1.3). Una serie de compuestos estrechamente relacionados es decir, la

aflatoxina GM1, parasiticol y aflatoxicol también son producidas por *Aspergillus flavus*. Aflatoxina M2 y M1 son los principales metabolitos de la aflatoxina B1 y B2, respectivamente, que se encuentra en la leche de animales que hayan consumido alimentos contaminados con aflatoxinas (Introducción al tema de Micotoxinas y Micotoxicosis, 1988).



Fuente: Valladares, L., 1988

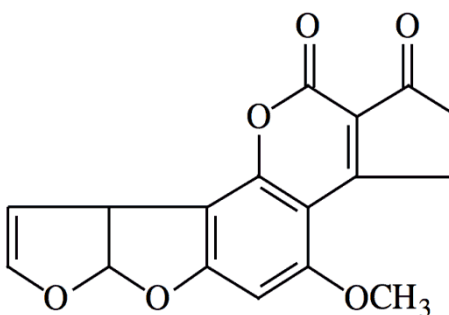
FIGURA 1.3 ESTRUCTURAS DE AFLATOXINAS M1, M2, B2A, Y G2A.

1.2.2 Aflatoxina B1

La aflatoxina B1 es el grupo con mayor toxicidad; es cancerígeno para el hombre (IARC, 1987) y uno de los agentes causantes de cáncer de hígado más potente que se conocen, (véase figura 1.4).

La aflatoxina B1 es producida tanto por *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*.

La aflatoxina B1 normalmente predomina en cantidad en los cultivos, así como en los productos alimenticios. La aflatoxina B1 pura es de color blanco a amarillo sólido cristalino, sin olor.

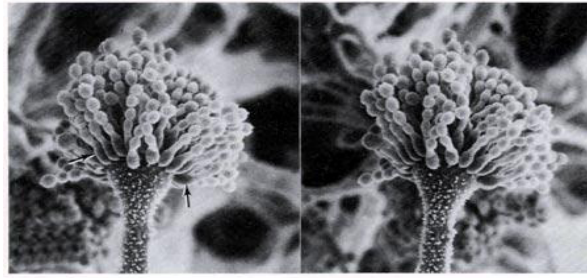


Fuente: Payne, GA, 1998

FIGURA 1.4 ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA AFLATOXINA B1.

1.3 Principales Hongos que la Producen

Los dos hongos *Aspergillus flavus* (véase figura 1.5) y *Aspergillus parasiticus* (véase figura 1.6) están estrechamente relacionados y crecen como saprófito en los residuos vegetales de muchas plantas de cultivo y en el suelo. Se distribuyen en todo el mundo, con una tendencia a ser más común en países con climas tropicales que tienen rangos extremos de precipitación, temperatura y humedad (Almudena, A., 2001.).



Fuente: Almudena, A., 2001

FIGURA 1.5 *ASPERGILLUS FLAVUS*



Fuente: Almudena, A., 2001

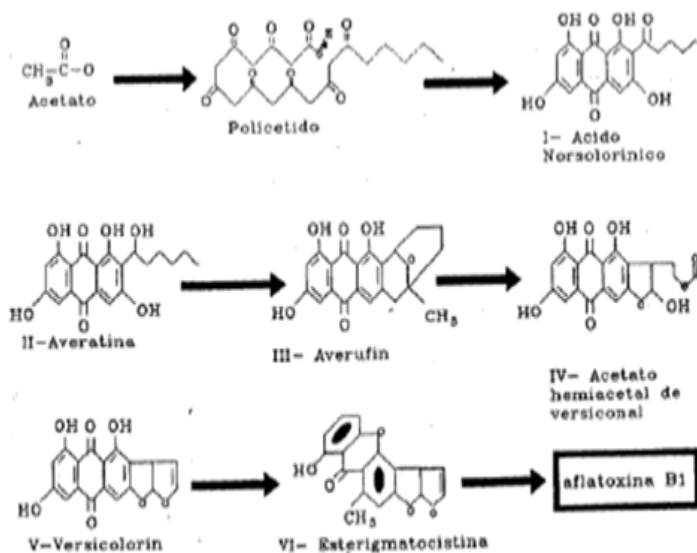
FIGURA1.6 *ASPERGILLUS PARASITICUS*

1.3.1 Ruta Metabólica de Producción de la Toxina por el Hongo Productor

Esta micotoxina se sintetiza por la ruta metabólica de los policétidos y las reacciones involucradas incluyen condensación, oxidación, reducción, alquilación y halogenación, llevando a la formación de una molécula que consiste en un anillo cumarín unido a una unidad bisdihidrofurano y a una ciclopentanona. Estos metabolitos se forman por la condensación del acetil-coenzima A y

malonil coenzima A, dando lugar al acetil-S Coenzima A, la cual será la molécula iniciadora de la aflatoxina B1. Dentro de la vía biosintética, la formación de la versicolorina A es particularmente relevante, ya que es la primera molécula en la vía de la aflatoxina B1 que contiene un doble enlace en la posición 8,9 de la molécula del bisfurano. Este doble enlace es el blanco para la activación de una molécula altamente reactiva (Trenholm, citado por G. Davegowda et al, 1998).

Durante la síntesis ocurren al menos 23 reacciones enzimáticas y se han identificado 15 intermediarios, bien definidos estructuralmente (véase figura 1.7).



Fuente: Wang, J. 1993

FIGURA 1.7 BIOSÍNTESIS DE LA AFLATOXINA B1

1.3.2 Condiciones Favorables para la Contaminación de Aflatoxinas.

Las condiciones ecológicas que influyen en el desarrollo de *Aspergillus flavus* y la producción de las aflatoxinas son el contenido de humedad del grano, la temperatura y el tiempo de incubación. El contenido de humedad mínimo para el desarrollo de *Aspergillus flavus* debe estar en equilibrio con humedades relativas cercanas al 85%. Esto varía de acuerdo con el tipo de grano; en cereales como maíz, el sorgo, el trigo, la avena, la cebada, y el arroz, el contenido de humedad es de 18.0-18.5 % peso seco básico, en maní y semilla de girasol el contenido de humedad es de 9 y 10%. La temperatura mínima óptima y máxima para la producción de la toxina es de 12°C, 27°C y 42°C (Dienes & Davis, 1969; Mirocha y Christensen, 1979).

Los efectos de actividad de agua y la temperatura sobre el comportamiento de *Aspergillus parasiticus* son similares a los antes descritos para *Aspergillus flavus*. Pitt y Mischamble (1995) han notificado un valor mínimo de 0.83 aproximadamente para el crecimiento y de 0.87 para la producción de aflatoxinas. Se han notificado

valores óptimos para el crecimiento y para la producción de toxinas de aproximadamente 30 y 28°C, respectivamente.

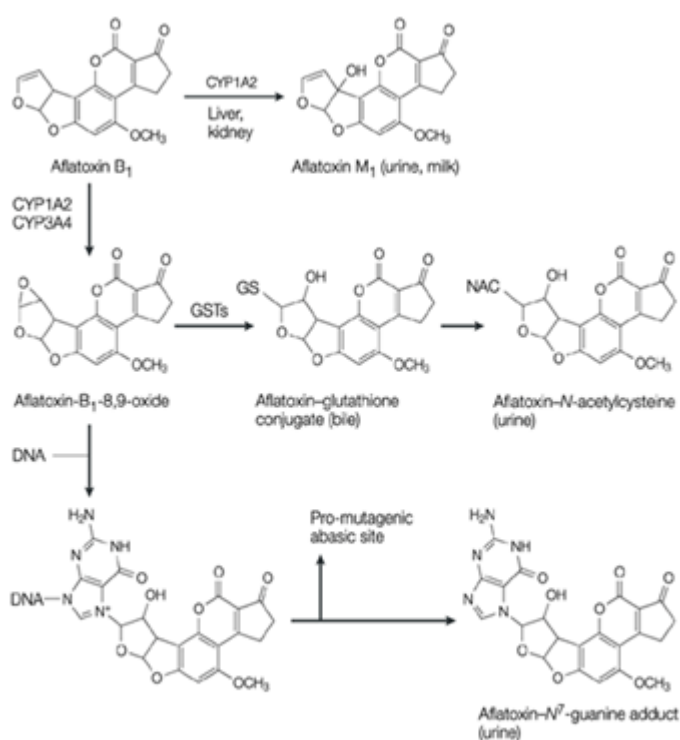
1.4 Metabolismo: Transformación.

Cuando las personas ingieren aflatoxina b1, esta es absorbida en el intestino y llevada vía porta hasta el hígado, allí es metabolizada por el citocromo p450 de los hepatocitos resultando el AFB1 exo-8-9-epóxido, el cual al ser altamente inestable se une con el nitrógeno de la guanina, produce un aducto con el ADN y transversiones de guanina a timina. Este aducto abre su anillo imidazol y forma una molécula más estable química y biológicamente, la aflatoxina b1 formamidopirimidina (AFB1-FAPY), quien es la causante de errores posteriores en la transcripción del ADN.

Adicionalmente se puede configurar de forma similar un aducto con la albumina o con la lisina, razón por la cual estos dos compuestos sirven a nivel clínico para determinar el consumo de aflatoxina b1.

En la siguiente fase se busca estabilizar e inactivar al epóxido, hidrolizándolo y conjugándolo con glutatión para formar aflatoxina glutatión conjugado (véase figura 1.8) que será excretado por orina.

En esta etapa metabólica también se originan tres metabolitos importantes hidroxilados: la AFQ1, la AFP1 y la AFM1, quienes comienzan a distribuirse sistemáticamente, pudiéndose encontrar en la leche. Otro derivado importante del metabolismo de la AFB1 es el aflatoxicol, que prolonga la presencia de la AFB1 en el organismo; proviene de reducción de la AFB1 y puede reoxidarse nuevamente a AFB1 por acción coenzimática de NADPH. (Perusia OR, Rodriguez R. Micotoxicosis. 2001).

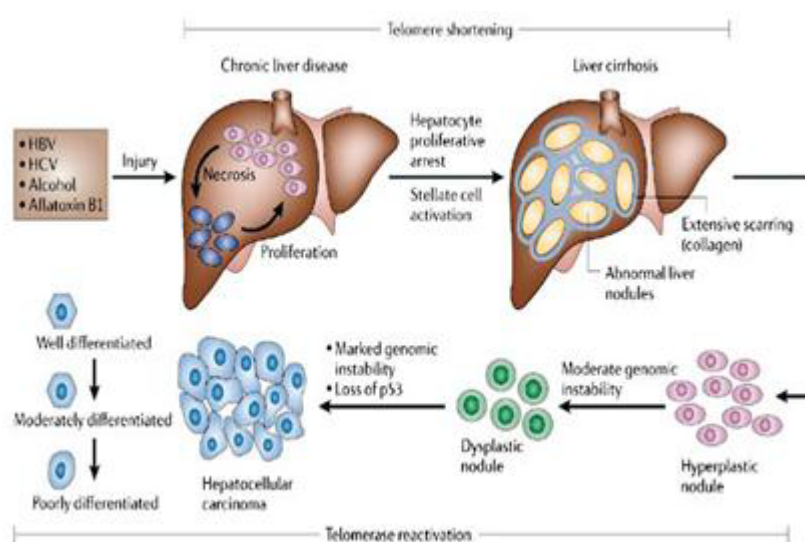


Fuente: Perusia OR, Rodriguez R. Micotoxicosis. 2001.

FIGURA 1.8 METABOLISMO DE LA AFLATOXINA

1.4.1 Efecto de las aflatoxinas: Órgano target

Aunque la B1 causa principalmente carcinoma hepatocelular (véase figura 1.9) y colangiocarcinoma. Otros tejidos afectados por la toxina incluyen la tráquea y la piel. Se ha reportado que la aflatoxina B1 se absorbe lentamente por piel, aunque esta absorción se ve afectada por la concentración, el solvente, la solubilidad y la diferencia de especie. No se conoce la implicación biológica que pueda tener esta acumulación, pero una unión preferencial de la B1 a la melanina podría indicar un potencial de este compuesto para la inducción de melanomas.



Fuente: Devendra S., 2007.

FIGURA 1.9 ÓRGANO TARGET DE LA AFLATOXINAB1

1.4.2 Efectos carcinógenos y mutagénicos

Efecto carcinogénico

La molécula AFB1-8,9 epóxido es la responsable de la actividad carcinogénica y mutagénica de la aflatoxina B1. Debido a su unión con el N7-de la Guanina del ADN y la inducción de una carga positiva en el imidazol, lo cual da lugar a un derivado de anillo abierto: la formamidopirimidina (AFB1-FAPY). Este compuesto puede estar presente por más de una ronda de replicación del ADN, y se sugiere que es muy importante durante la iniciación del tumor, ya que da lugar a una mutación de G → T en la tercera base del codón 249 del gen p53. La persistencia del aducto AFB1-FAPY en tejido hepático y la formación de tumores se han demostrado en varios modelos experimentales. La unión de estas moléculas in vivo es una función lineal de la dosis a un tiempo dado, después del tratamiento con B1. El nivel de ADN modificado depende de la especie.

En general un nivel alto de aducto de AFB1-ADN se correlaciona con alta susceptibilidad de especie a la B1 (Dichter, CR., 1997).

Efecto mutagénico

Las mutaciones son importantes por dos razones: porque son heredables a la siguiente generación e involucra alteración en los genes y generan cáncer. La mutagenicidad de la aflatoxina B1 se ha demostrado utilizando bacterias, levaduras, y células de mamíferos (incluyendo humanas), concluyéndose que esta sustancia es uno de los mutágenos más potentes, ya que en *Salmonella typhimurium* se inducen 8 527 mutantes por cada μg de B1. B1 induce mutaciones puntuales de $\text{GC} \rightarrow \text{TA}$ o $\text{GC} \rightarrow \text{AT}$, los puntos más sensibles (hot spots) para la mutagénesis de la B1, en los ensayos basados en plásmidos lacZ, fueron encontrados en las regiones del ADN más ricas en GC, las cuales también son las zonas más sensibles para la formación del aducto AFB-N7-Guanina.

Estudios in vitro de la activación de los protooncogenes humanos Ha-ras han demostrado la presencia de una transversión $\text{G} \rightarrow \text{T}$ al principio o a la mitad del codón 12, en tumores resultados de la transfección con un plásmido modificado con B1. Los autores sugieren que la B1 metabólicamente activada es capaz de mutar estos oncogenes a su forma oncogénica; sin embargo, debe hacerse notar que esta mutación en los genes Ha-ras no se

ha reportado en los hepatocarcinomas que se presentan en las poblaciones expuestas al consumo de alimentos contaminados con B1. En cambio en ratas, dos mutaciones en el codón 12 del gen Ki-ras fueron identificadas en el ADN aislado de carcinoma hepático inducido con B1. Los carcinomas aparecieron 56 semanas después de la aplicación de la dosis y el ADN de los carcinomas hepáticos mostró mutaciones GGT→GAT, indicando que la mutación en el gen Ki-ras es un evento dominante en la carcinogénesis inducida por B1 (Ditcher, CR.,1979).

1.4.3 Dosis de aflatoxina

La aflatoxina B1 es uno de los hepatocarcinógenos más potentes conocido, solo basta ingerir 10 ng/kg diariamente para ocasionar cáncer. En ciertos países se ha detectado casos de cáncer al hígado el cual es asociado directamente con la ingesta de aflatoxinas, véase tabla 1.

TABLA 1
INCIDENCIA DE CÁNCER PRIMARIO A TRAVÉS DE LA
INGESTA DIARIA DE AFLATOXINA B1.

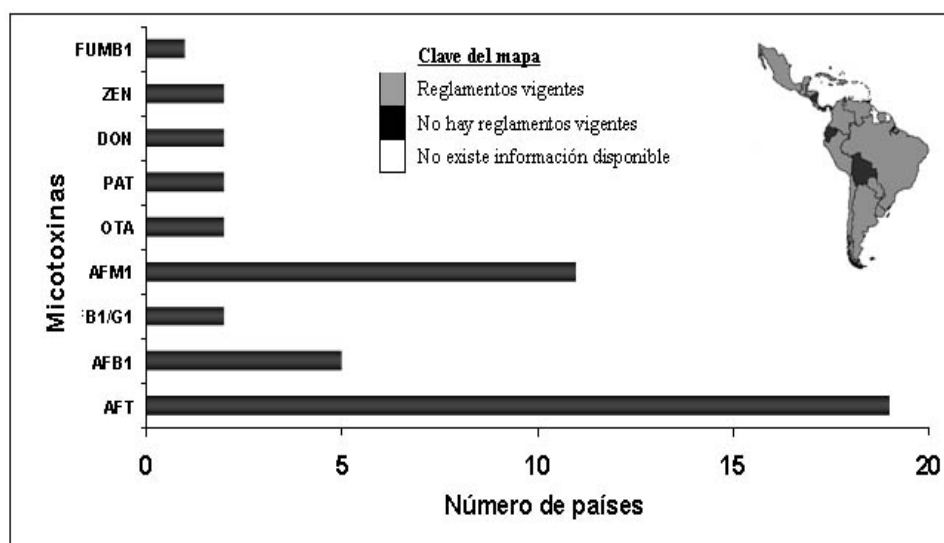
PAIS	INGESTA ESTIMADA DE AFLATOXINA EN ADULTOS ng/kg/día	INCIDENCIA DE CANCER POR MILLÓN DE HABITANTES
Kenia	10,0	40
Tailandia	45,0	60
Swazilandia	43,1	92

Fuente:Valle, P., Lucas, P., 2000.

1.5 Legislación sobre los Niveles de Aflatoxinas en Productos a Base de Maíz

Los principales cultivos agrícolas de América Latina (maíz, trigo, café, algodón, soja, cebada, girasol, maníes y nueces de árbol, cocoa y lácteos) son muy susceptibles a la contaminación con hongos y proclives a producir micotoxinas. Los límites reglamentarios respectivos para diversas micotoxinas en América Latina en los alimentos. Se sabe que 19 países, que representan el 91 por ciento de la población de la región, (véase figura 1.10) cuentan con reglamentaciones específicas sobre micotoxinas. En el MERCOSUR, un bloque comercial integrado por Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay existen reglamentos armonizados para las aflatoxinas. Otros países indican que siguen también los reglamentos del MERCOSUR. Los reglamentos para aflatoxinas en

los alimentos son a menudo fijados para el total de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. El Uruguay cuenta con las reglamentaciones más detalladas, incluyendo límites para los alcaloides del ergot en las raciones, algo muy raro en el mundo de los reglamentos para las micotoxinas.

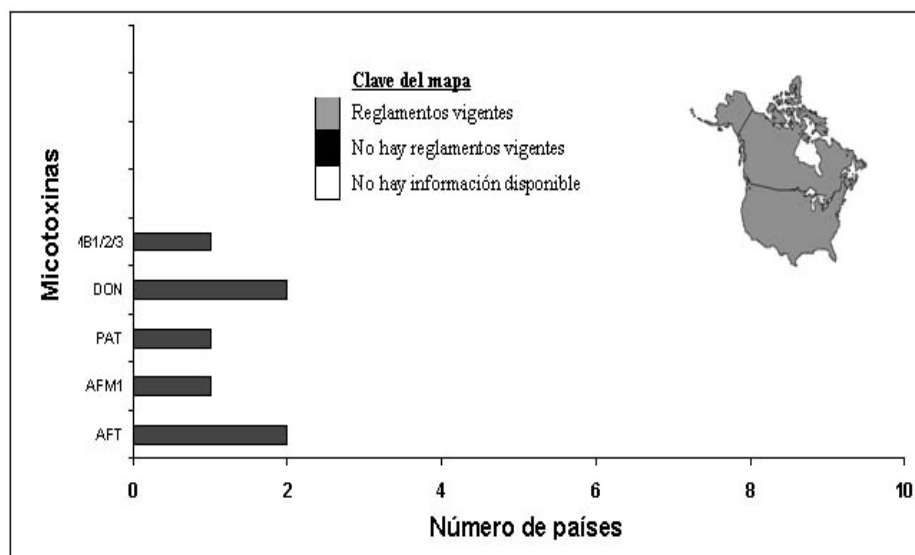


Fuente: Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones, 2003.

FIGURA 1.10 MICOTOXINAS EN LOS ALIMENTOS EN AMÉRICA LATINA

En América del Norte, Estados Unidos y Canadá, desde hace muchos años están vigentes los reglamentos para las micotoxinas. En ambos países, los límites para las aflatoxinas se han fijado para la suma de las aflatoxinas B1, B2, G1 y G2. (véase figura 1.11) para varias micotoxinas, los límites reglamentarios o los límites guía en América del Norte, respectivamente, en los alimentos. Los Estados

Unidos y el Canadá no tienen un valor límite único para la aflatoxina B1.



Fuente:Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones, 2003.

FIGURA 1.11 MICOTOXINAS REGLAMENTADOS EN AMÉRICA DEL NORTE

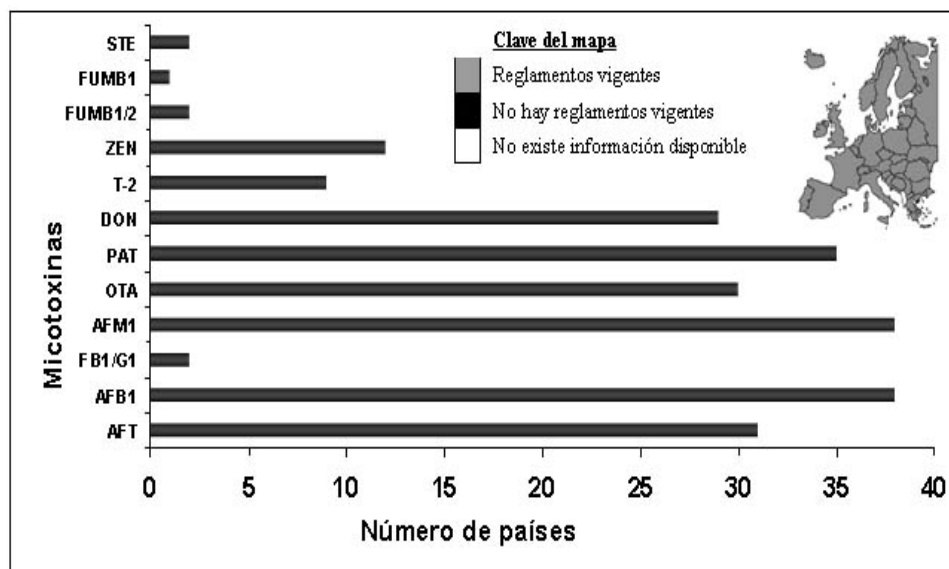
En la tabla 2se enumera los niveles de acción establecidos por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para las aflatoxinas en la alimentación humana y animal.

TABLA 2
NIVELES DE ACCIÓN ESTABLECIDOS POR LA
ADMINISTRACIÓN DE ALIMENTOS Y MEDICAMENTOS (FDA).

Para	Nivel	Materias Primas
Humanos	20 ppb	Todos los alimentos excepto la leche
Todas las especies de animales	20 ppb	Todos los alimento (excepciones abajo)
Cría de ganado, aves de cría, cerdos de cría.	100 ppb	Maíz
Cerdos de acabado (> 100 lbs.)	200 ppb	Maíz
Acabado el ganado vacuno	300 ppb	Maíz
Acabado el ganado vacuno, porcino, aves de corral	300 ppb	harina de semilla de algodón

Fuente: FDA Guía regulatoria para Aflatoxinas y Contaminantes 1992.

En Europa, 39 países, representando aproximadamente el 99 por ciento de la población del continente, contaban con reglamentos específicos para micotoxinas en el año 2003, para ilustrar la presencia de límites reglamentarios para diversas las micotoxinas en Europa en los alimentos (véase figura 1.12), además se agregó los niveles máximos para la alimentación infantil, véase tabla 3.



Fuente: Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en alimentos y en las raciones, 2003.

**FIGURA 1.12 MICOTOXINAS EN LOS ALIMENTOS
REGLAMENTADOS EN EUROPA**

**TABLA 3
NIVELES MÁXIMOS PERMITIDOS PARA ALIMENTOS
ELABORADOS A BASE DE CEREALES Y ALIMENTOS
INFANTILES PARA LACTANTES Y NIÑOS DE CORTA EDAD
REGLAMENTADOS POR LA UNIÓN EUROPEA.**

Productos	Contenido máximo (µg/kg o ppb)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁
• Alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad.	0,10	—	—
• Preparados para lactantes y preparados de continuación, incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación.	—	—	0,025
• Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes.	0,10	—	0,025

Fuente: REGLAMENTO (EU) No 1881/2006 DE LA COMISIÓN
De 5 de Diciembre del 2006

La Unión Europea (UE) fija los contenidos máximos las aflatoxinas en los productos alimenticios en su REGLAMENTO (CE) No 1881/2006 DE LA COMISIÓN de 19 de diciembre de 2006, véase tabla 4.

TABLA 4
NIVELES MÁXIMOS DE AFLATOXINAS EN PRODUCTOS
ALIMENTICIOS FIJADOS POR LA UNIÓN EUROPEA.

Productos alimenticios ⁽¹⁾	Contenidos máximos (µg/kg)		
	B ₁	Suma de B ₁ , B ₂ , G ₁ y G ₂	M ₁
Aflatoxinas			
Cacahuets destinados a ser sometidos a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su uso como ingredientes de productos alimenticios	8,0 ⁽²⁾	15,0 ⁽³⁾	—
Frutos de cáscara destinados a ser sometidos a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su uso como ingredientes de productos alimenticios	5,0 ⁽²⁾	10,0 ⁽³⁾	—
Cacahuets y frutos secos y productos derivados de su transformación, destinados al consumo humano directo o a ser usados como ingredientes en los productos alimenticios	2,0 ⁽²⁾	4,0 ⁽³⁾	—
Frutos secos destinados a ser sometidos a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo, o a ser usados como ingredientes en los productos alimenticios	5,0	10,0	—
Frutos secos y productos derivados de su transformación, destinados al consumo humano directo o a ser usados como ingredientes de los productos alimenticios	2,0	4,0	—
Todos los cereales y todos los productos a base de cereales, incluidos los productos derivados de la transformación de cereales, a excepción de los productos alimenticios enumerados en los puntos 2.1.7, 2.1.10 y 2.1.12	2,0	4,0	—
Maíz destinado a ser sometido a un proceso de selección, u otro tratamiento físico, antes del consumo humano directo o de su uso como ingrediente de productos alimenticios	5,0	10,0	—
Leche cruda ⁽⁴⁾ , leche tratada térmicamente y leche para la fabricación de productos lácteos	—	—	0,050

Fuente: REGLAMENTO (EU) No 1881/2006 DE LA COMISIÓN
Del 19 de Diciembre del 2006

1.6 Medidas de Prevención y Control

Las medidas de prevención, tales como el cultivo de variedades resistentes después de aplicar prácticas agronómicas apropiadas y la detoxificación del material contaminado, asegurarían que los alimentos destinados al consumo humano estuviesen libres de AFB1.

Durante la cosecha, es importante controlar, entre otras cosas, si el maíz se ha desarrollado en el plazo previsto y si está limpio y seco. Este control es esencial para prevenir la formación de AFB1 durante el almacenamiento. Algunos estudios han indicado que los cultivos que se dejan en el campo durante más tiempo presentan niveles más altos de contaminación por AFB1. También es esencial que el producto esté suficientemente seco para evitar la proliferación de *A. flavus* y *A. parasiticus* durante el almacenamiento.

Los procedimientos de control después de la cosecha y de descontaminación, son separar físicamente las aflatoxinas o desactivarlas químicamente sin dejar residuos tóxicos en los alimentos, controlar la humedad y temperatura durante el almacenamiento (Espin, S., 1991).

1.6.1 Procedimientos para Reducir la Presencia de Aflatoxinas.

El método de reducción ideal debe ser fácil de usar, económico, no tiene que formar compuestos tóxicos y no debe alterar la propiedades organolépticas del alimento. Existen diferentes métodos físicos y químicos, aunque es bastante habitual usar las combinaciones de ellos.

El tostado o fritura a 150-200°C durante 30 minutos puede reducir la AFB1 en maíz en un 40 a 80%.

La limpieza de granos por selección o una mesa de gravedad puede reducir las concentraciones de aflatoxinas mediante la eliminación de las partículas de las más contaminadas. Sin embargo, esto puede ser costoso y no es posible predecir en qué medida las aflatoxinas se reducirá. Los descartes del proceso de limpieza no deben ser utilizado como alimento.

La irradiación es una de las últimas técnicas físicas empleadas, sin embargo no consigue destruir las aflatoxinas y su mutagenicidad.

Amoníaco anhidro reacciona con aflatoxinas y reduce la concentración. Sin embargo, esta práctica no está aprobada

para el comercio interestatal, grano para amoniaco puede ser utilizado sólo en la granja. El amoniaco puede ser aplicado como un gas o líquido, pero en cualquiera de sus formas es un procedimiento difícil y peligroso (Cornejo, J., Villarroel, O., 2009). Esto se debe hacer sólo por un operador capacitado y con experiencia.

1.7 Maíz: Generalidades y Tipos.

El maíz (*Zea Mays*) es una gramínea caracterizada por tener tallos en forma de caña, aunque macizos en su interior a diferencia del resto de miembros de su familia que los tienen huecos. Destaca fundamentalmente por su inflorescencia femenina llamada mazorca, en donde se encuentran las semillas (granos de maíz) agrupadas a lo largo de un eje. La mazorca está cubierta por brácteas de color verde y textura papirácea y termina en una especie de penacho de color amarillo oscuro, formado por estilos, (véase figura 1.13).



Fuente: Aleira Lara 2009.

FIGURA 1.13 VARIEDADES ECUATORIANAS DE MAÍCES.

El grano de maíz utilizado en la dieta ecuatoriana deriva de cultivos de variedades que pertenecen a los siguientes grupos varietales descritos por E. Lewis Sturtevant :

Zea mays *severta* canguiles (popcorn)

Zea mays *amylosaccharata* maíz dulce, chullpi

Zea mays *indurata* maíz morocho

Zea mays *amylacea* maíz suave

1.7.1 Estabilidad y Degradación de la AFB1 en el Maíz.

Las aflatoxinas son resistentes al calor y no se destruyen con el cocimiento de los alimentos, solamente el tostado de los frutos secos las destruye en una pequeña parte. Sin embargo, son relativamente inestables cuando se exponen a la luz y particularmente a la radiación ultravioleta. Para eliminarlas son necesarios tratamientos muy drásticos, con amoníaco o hipoclorito, no utilizables con alimentos para uso humano, e incluso ni con materiales para piensos.

Los tratamientos basados en altas temperaturas y presiones, como el caso de la extrusión, han demostrado resultados prometedores. Una nueva investigación, realizada por expertos de la Universidad de Ghana y basada en este sistema de extrusión, ha demostrado una reducción de más del 97% de la aflatoxina B1 en maíz con la mezcla de la extrusión e hidróxido de calcio. Según el nuevo estudio, la extrusión del maíz humedecido con un pH 7.5 reduce en un 60% la cantidad de aflatoxina B1. Si se aumenta este pH a 9.5, la reducción es mucho más significativa. El descenso se sitúa desde 412,72 microgramos por kilo a 66,87 microgramos por gramo.

La descontaminación de granos enteros de maíz con una humedad del 16% mediante amoníaco durante una hora a 55 atmósferas de presión y 40-45°C destruye hasta el 93% de las toxinas (Martínez et. Al. 1994). El tratamiento de un sustrato contaminado con hipoclorito de sodio al 0.5-1% a pH 4 degrada las aflatoxinas B1 y G1 a toda temperatura. El tratamiento con bisulfito de sodio al 1% tiene poco efecto sobre aflatoxina B1 a 20°C pero solamente persiste el 10% a 100°C. Igual cantidad residual se observa luego.

Del tratamiento a 20°C. con persulfato de amonio al 0.1, y a 60°C. con agua oxigenada al 0.1%. La molienda húmeda reduce la concentración de toxinas en el almidón de maíz a 1% del valor que tenía en los granos (Tabata et al. 1994) y la seca a 10%.

La degradación biológica, basada en la utilización de bacterias, levaduras y mohos para favorecer la degradación de AB1 se está realizando de manera experimental.

1.7.2 Presencia de Aflatoxinas en Maíz y Productos a Base de Maíz.

Por estudios realizados en el maíz proveniente de los Estados Unidos de América, China, India y México, se ha reportado la presencia de *Aspergillus flavus* y de sus toxinas (aflatoxinas) en el maíz. En la India, por ejemplo, se han encontrado valores que oscilan entre los 6.25 y 15.6 mg/kg. de maíz, cantidades que provocan hepatitis aguda (Lindner, 1995). En 1974, en la India, se documentaron 108 casos de pacientes que habían consumido maíz contaminado con aflatoxinas en niveles que oscilaban entre 0.25 y 15 mg/kg. de dieta. En todos estos casos se detectó cirrosis en niños. El síndrome de Reye, con encefalitis y degeneración grasa de vísceras en niños, se asoció con la ingestión de aflatoxinas. En Tailandia, la presencia de aflatoxinas se presentó como un mal endémico. La presencia de aflatoxinas es inevitable en algunos lotes de maíz, cuando se dan las condiciones en que las micotoxinas se producen, tanto en la planta, como durante estadios posteriores, como la cadena cosecha, transporte, almacenamiento y utilización (García y Col, 2001).

(Lubulwa y Davis 1994) han estudiado las pérdidas económicas atribuibles únicamente a la presencia de

aflatoxinas, en maíz, en países de Asia sudoriental (Tailandia, Indonesia y Filipinas), llegando a la conclusión de que alrededor del 66% de las pérdidas totales se debían al maíz contaminado, y las pérdidas atribuibles al deterioro y a los efectos dañinos sobre la salud de las personas y de los animales representaban, respectivamente, el 24, el 60 y el 16% del total. No obstante, el estudio tuvo en cuenta únicamente las pérdidas relacionadas con la morbilidad y las muertes prematuras ocasionadas por el cáncer. En consecuencia, es probable que las pérdidas relacionadas con las aflatoxinas sean mucho mayores si se incluyen las otras consecuencias para la salud humana del efecto inmunotóxico de las aflatoxinas (y otras micotoxinas).

1.7.3 Requisitos de Calidad que debe Cumplir el Maíz en Grano

Las características organolépticas del grano de maíz para consumo humano, usos industriales y/o balanceados, al momento de la recepción y al despacho, se sujetarán a la norma INEN NTE 0187:1995, véase tabla 5 y 6.

TABLA 5
REQUISITOS DEL MAÍZ AL MOMENTO DE LA RECEPCIÓN.

Requisitos	% Mín.	% Máx.	Método de ensayo
Humedad	13	30	NTE INEN 1 513
Impurezas	0	10	NTE INEN 1 236
Quebrados	0	5	NTE INEN 1 236
Dañados:	NTE INEN 1 236		
Por calor		2	
Por hongos		2	
Por insectos		2	
Otras causas		1,5	

Fuente: Norma INEN NTE 0187:1995

TABLA 6
REQUISITOS DEL MAÍZ EN GRANO PARA CONSUMO
HUMANO Y USO INDUSTRIAL

Grado	Granos quebrados % máx.	Granos cristalizados % máx.		
1	Hasta 2	menor que 5		
2	> 2 a 5	5		
3	> 5 a 7	6		
4	> 7 a 10	7		
Granos dañados por:				
Grado	Calor % máx.	Hongos % máx.	Insectos % máx.	Total
1	0,5	0,5	0,5	1,5
2	1	1	1	3
3	2	2	1,5	5,5
4	3	3	2	8

Fuente: Norma INEN NTE 0187:1995

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA



El objetivo de esta investigación fue identificar cuáles son los snack a base de maíz mas consumidos por los niños en el lunch, para luego verificar su ausencia o presencia de AFB1.

Esta investigación pretende entregar un marco teórico para la comprensión de la Encuesta que será aplicada a los niños, de las escuela ubicadas en los Guasmos de la ciudad de Guayaquil.

► **Diseño y Técnica de recolección de información**

El diseño de la investigación se hizo con el propósito de llegar a conocer las costumbres y hábitos alimenticios de los niños durante la hora del lunch. La técnica de recolección de los datos es el método de la encuesta, lo cual representó una serie de entrevistas con niños de escuelas a partir del 3ero. de básica hasta 7mo. de básica.

Se encuestó a los centros educativos de carácter fiscomisional, debido a que en las escuelas públicas el Gobierno efectúa su plan de “Desayuno Escolar”.

El tiempo en el cual se realizó la investigación es el periodo comprendido entre septiembre y diciembre del 2011. Se solicitó la base de datos de los alumnos inscritos en las escuelas fiscomisionales a cargo del Cabildo de Guayaquil.

■ Sectorización de la Base de Datos.

Se precedió a clasificar la lista por parroquias, y se obtuvo las parroquias Ximena, Febres Cordero, Letamendi, Urdaneta, Ayacucho, 9 de Octubre, Rocafuerte, Chongon, Pedro Carbo, Olmedo, Tarqui, García Moreno, Posorja. Se dividió la parroquia Ximena por los sectores de Los Guasmos, Isla trinitaria, sur oeste. La población a estudiar fue el sector marginal del Guasmo. Se elaboró una lista de todas las instituciones fiscomisionales en el sector de Los Guasmos, la cual detalla el Nombre de la escuela, Número de teléfono, Dirección del local, Nombre de la directora y la cantidad de estudiantes cursando cada año lectivo. Los datos se pueden verificar en el Anexo 4.

• Muestreo y diseño de la encuesta

El objetivo de la encuesta fue obtener información sobre la preferencia del consumidor (niños) en relación a su preferencia de bocaditos de maíz. Para obtener dicha información se utilizó la técnica de encuesta directa encuestador→consumidor (véase la encuesta en el anexo 5). El tipo de muestreo que se empleo en la recopilación de datos a través de la encuesta hacia los niños, de los diferentes institutos fue el Muestreo Probabilístico por conglomerado se debió recurrir a este tipo de muestreo debido a que la información requerida no está disponible en fuentes secundarias y el tamaño de la población es muy elevada.

Para el cálculo del tamaño de la muestra (n) se tomarán en cuenta los siguientes criterios:

Población:	$N = 18079$
Error establecido:	$E = 4\%$
Nivel de confianza:	$C = 97\%$
Varianza:	$S^2 = 50\%$
Valor Z:	$Z = 2,17$

De una población de 18079 niños del sector de los Guasmos, se desea conocer la frecuencia de consumo de Snacks a base de maíz durante el recreo y para ello se desea tomar una muestra por lo que se necesita saber la cantidad de niños que deben entrevistar para tener una información adecuada, con un margen de error del 4% y al 97 % de nivel de confianza.

Donde:

n = el tamaño de la muestra.

N = tamaño de la población.

σ =Desviación estándar de la población que, generalmente cuando no se tiene su valor, suele utilizarse un valor constante de 0,5.

Z = Valor obtenido mediante niveles de confianza. Es un valor constante que, si no se tiene su valor, se lo toma en relación al 95% de confianza equivale a 1,96 (como más usual) o en relación al 97% de confianza equivale 2,17, valor que queda a criterio del investigador véase tabla 7.

TABLA 7
VALORES DE Z

Los valores Z más utilizados y sus niveles de confianza son:							
Z	1,15	1,28	1,44	1,65	1,96	2,17	2,58
Nivel de confianza	75%	80%	85%	90%	95%	97%	99%

Fuente: PROBABILIDAD Y ESTADÍSTICA, 2005.

Solución:

Primeramente, se estima la varianza poblacional (σ^2) y con este valor se evalúa en la ecuación (1), sustituyendo (σ^2) por su estimación (s^2) la cual es del 50%.

Luego el valor Z se lo obtiene de la tabla según el nivel de confianza, el cual con el 97% nos arroja un valor Z de 2,17.

Una vez conociendo todos los valores en la ecuación (1), se procede a reemplazarlos por los valores.

$$n = \frac{\frac{Z_{\alpha/2}^2 S^2}{E^2}}{1 + \frac{Z_{\alpha/2}^2 S^2}{NE^2}}$$

Ec. 1

$$n = \frac{\frac{2,17^2}{0,04^2} / \frac{0,5^2}{0,04^2}}{1 + \frac{2,17^2}{((18079)(0,04))^2}}$$

$n = 707$ (número de niños a encuestar)

Así, tomando en cuenta estos criterios y reemplazando estos valores en la fórmula tiene como resultado que se deben realizar 707 encuestas, con un error establecido del 4%, y un nivel de confianza del 97%.

→ **Trabajo de campo**

Se visitó un total de 7 escuelas, una escuela por día. Las escuelas visitadas se observan en la tabla 8. Se encuestó a niños desde el tercer año hasta el séptimo año de educación básica debido a que saben leer y escribir. Estas encuestas se diseñaron con el objetivo de conocer qué tipo de lunch tienen en el recreo, las marcas de bocaditos de maíz preferidos por los niños y frecuencia de consumo véase la encuesta dirigida para los niños en el anexo 6. En total se encuestó 707 niños durante el mes de septiembre del 2011.

TABLA 8
ESCUELAS VISITADAS EN SEPTIEMBRE DEL 2011.

Escuelas	3ero	4to	5to	6to	7mo	TOTAL
DIOS VIVIENTE	31	33	30	36	26	156
INSTITUTO SUIZO # 1	36	29	24	25	27	141
JESUS DEL GRAN PODER	40	47	43	33	41	204
MADRE DE DIOS # 1	31	40	25	33	54	183
MONSEÑOR JUAN MARIA RIERA # 1	37	28	37	30	34	166
MONSEÑOR ROBERTO MARIA DEL POZO # 1	69	73	59	65	61	327
RAYITO DE SOL	34	42	47	26	26	175
Total de niños						1.352

Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

Por otra parte, se entrevistó a los dueños de bares para conocer qué tipo de refrigerios son más consumidos, con qué frecuencia lo compran y el rango de edad el cual se encontraba para ayudar a determinar mejor los resultados (ver encuesta a los dueños de bares en el anexo 6).

♦ Procesamiento y Tabulación de Datos

Se tabuló y se procesó los datos obtenidos, se utilizó un cuadro haciendo un análisis individual por cada pregunta y una representación gráfica en Excel de los mismos, su cuantificación se realizó con el estadístico porcentaje cuya fórmula se la presenta en la ecuación 2:

$$\text{Ec. 2} \quad \% = \frac{F * 100}{N}$$

%: Tanto por ciento que se encuentra en el total del estudio.

F: Número de veces que se repite el dato.

100: Constante de la muestra

N: Total de Datos.

Los resultados de las encuestas y las tabulaciones se muestran en el capítulo número tres.

○ Toma de Muestra en Bocaditos a Base de Maíz

La toma de muestra se describe detalladamente en el literal 2.2.

El procesamiento de la muestra para su posterior análisis se detalla en el literal 2.5.

- **Análisis de Bocaditos a Base de Maíz**

El pre tratamiento de las muestras de bocaditos a base de maíz se molieron utilizando un mortero hasta un tamaño que se obtuvo un polvillo, se refrigeró a 6 °C hasta su posterior análisis.

La extracción se realizó siguiendo acorde a las instrucciones del productor (Neogen Corp.), 5 gramos de bocaditos de maíz pre tratado se mezcló con 25 ml. de una solución metanol-agua al 70%. El tiempo de contacto entre la muestra y el solvente de extracción fue de 45 min. El filtrado se utilizó para el análisis de Microelisa sin ninguna purificación.

Todo los reactivos fueron comprado de Neogen Corp., densidades ópticas de los colores desarrollados se midieron en comparación a conocer las concentraciones de cuatro patrones de referencia por un sistema de Dynatech Microelisa con 650 filtro nm y la concentración AFB1 en ppb las muestras de ensayo se reportaron.

Se analizaron las muestras en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos en la Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, en la Escuela Superior Politécnica del Litoral a través del ensayo de ELISA DIRECTO en kits de determinación rápida. El

fundamento de Elisa, la calibración del equipo, las consideraciones generales y la implementación del ensayo se explica en los literales 2.1.1, 2.3, 2.4, 2.6, 2.7 respectivamente.

↗ **Validación de Resultados**

Se describe detalladamente en el literal 2.8.

↔ **Difusión de Resultados**

La difusión de los resultados de esta tesis se realizó por medio del diseño de un tríptico (ver anexo 7) dirigido a los estudiantes de las escuelas fiscomisionales, docentes, y la directora de la escuela. El objetivo de esta publicación era dar a conocer la AFB1, el riesgo potencial para los niños, en que parte de la cadena productiva ocurre su contaminación, a que cultivo ataca principalmente, el hongo productor, los resultados obtenidos en la presente investigación, y aconsejarles sobre la alimentación que deberían de llevar durante el recreo.

Se presentó un informe técnico, el cual quedó en la biblioteca de la Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción.

2.1 Métodos de Análisis de Aflatoxina B1 en Bocaditos a Base de Maíz.

Varios métodos son comúnmente usados para la cuantificación de AFB1.

Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)

Cromatografía en capa fina

Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA)

El mayor problema asociado con la mayoría de los métodos utilizados para la determinación de Aflatoxina b1 es la presencia de sustancia co-extraídas que interfieren en la muestras, las cuales requieren de múltiples extracciones y paso de limpieza antes de la cuantificación.

Independientemente del método de análisis empleado, la determinación específica del nivel de aflatoxinas en un alimento implica generalmente: molienda del material a tamaño particulado, la separación de una cantidad más pequeña a partir de la muestra original, extracción de las aflatoxinas con mezcla de solventes adecuada.

2.1.1 Técnica de ELISA.

En esta investigación se utiliza la técnica Elisa para la determinación de aflatoxina B1 a base de maíz.

La técnica ELISA (Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssay) se basa en la detección de un antígeno inmovilizado sobre una fase sólida mediante anticuerpos que directa o indirectamente producen una reacción cuyo producto, por ejemplo un colorante, puede ser medido espectrofotométricamente. Este principio tiene muchas de las propiedades de un inmunoensayo ideal: es versátil, robusto, simple en su realización, emplea reactivos económicos y consigue, mediante el uso de la fase sólida, de una separación fácil entre la fracción retenida y la fracción libre.

Las 4 fases de un ensayo ELISA son las siguientes:

- Conjugación del anticuerpo o del antígeno con un enzima.
- Unión del antígeno (o del anticuerpo) a los pocillos.
- Formación de una o más capas de inmunocomplejos.
- Revelado de la reacción enzimática.

El método ELISA Veratox Neogen esta validado por la AOAC en su publicación 989.06 Aflatoxin B1 in Cottonseed Products and Mixed Feed Enzyme.

2.2 Población de Estudio y Toma de Muestra.

La población de estudio fueron niños, estudiantes de escuelas fiscomisionales de tercer año de básica hasta séptimo año de básica.

Se realizó la toma de muestras basadas en aquellas que se evidenció en las encuestas y observaciones como las de preferencia y por ende las más consumidas por los niños. Para facilidad de identificación de las muestras y de la información de los bocaditos de maíz se nombró cada muestra tomada como MARCA y se le asignó un número. Se recolectó 8 muestras (50 gramos), fueron elegidas aleatoriamente de un supermercado ubicado en el sector del Guasmo. Las muestras fueron tomadas durante el mes de Septiembre.

2.3 Preparación de Controles Positivos.

Para la experimentación se utilizó el kit de análisis cuantitativo de aflatoxina Veratox® así como también la calibración del lector de pocillos Stat® Fax.

Para determinar el límite de detección para la prueba de Elisa se emplearon dos controles, el primero con una concentración de 2ppb que es el límite inferior de detección del kit, el cual fue provisto adicionalmente del kit Veratox® y un segundo control de 5 ppb, incluido en el kit, correspondiente a la concentración máxima permitida de aflatoxina B1 en maíz por la Unión Europea en su Reglamento (CE) N° 1881/2006 para contaminantes de los productos alimenticios.

2.4 Elaboración de la Curva Patrón.

Para la elaboración de la curva patrón correspondiente a este estudio se emplearon 4 estándares con anticuerpos anti-aflatoxina cada una de 100µl la concentraciones de 0 ppb (estándar 1), 5 ppb (estándar 2), 15ppb (estándar 3), 50 ppb (estándar 4), por duplicado. Se utilizó 8 pocillos para montar la curva patrón; se agregó 100 µl de las soluciones estándar en pozos separados por duplicado, seguido se mezcló la placa suavemente por un movimiento circular y se incubó por 2 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en oscuridad, luego se agitó los pocillos de anticuerpos para eliminar su contenido, se llenó cada pocillo con agua destilada y nuevamente se eliminó el líquido (se repitió el paso de lavado 4 veces más). A continuación se agregó 100 ul del

conjugado enzimático diluido, posteriormente se mezcló la placa suavemente por rotación y se incubó por 3 minutos a temperatura ambiente (20-25°C). Finalmente, se agregó 100 µl de sustrato/cromógeno a cada pozo, se mezcló la placa y en seguida se incubó por 15 minutos a temperatura ambiente (20-25°C) en oscuridad, se agregó 100 µl de la solución stop a cada pozo, se mezcló suavemente por rotación y se leyó a una absorbencia de 650 nm. dentro de los 15 minutos posteriores a la adición de la solución. Se analizaron los resultados por el lector Stat® Fax Reader.

El trazado de la curva de los estándares se mostró en el certificado de Aseguramiento de la calidad que estaba incluido en el manual de equipo de lectura, (ver anexo 8). El estándar cero será por lo tanto igual a 100% y los valores de absorbencia se representan como porcentajes.

Opciones de curva de calibración según el rango de medición, %CV y DS que se requiera.

2.5 Procesamiento de la Muestra.

Para obtener una muestra representativa, se procedió a triturar en una licuadora industrial cada muestra de manera que se obtenga un

polvillo el cual pase al menos en un 75% a través de un cedazo. Cada muestra triturada se la recolectó en una funda plástica con cierre hermético y su respectiva etiqueta de identificación para su posterior almacenamiento a 6°C. en un refrigerador hasta su análisis.

2.6 Consideraciones Generales.

Todos los reactivos del kit deben llevarse a temperatura ambiente (18 a 30°C) antes de utilizarlos.

El pH de los productos por analizar debe estar entre 6 y 8. Al analizar las muestras se obtuvo un pH de 5 por lo que se añade una gota de hidróxido de sodio con una concentración 1M, obteniendo un pH final de 7.

Se procede a preparar la solución de extracción utilizada como solvente una mezcla de metanol/agua (destilada), al 70% de metanol y el restante 30% de agua, de acuerdo al siguiente procedimiento:

- a. Use una probeta graduada y mida 700 ml. de metanol, luego coloque en un garrafón contenedor.
- b. Añada 300 ml. de agua destilada al metanol y agite vigorosamente hasta que se mezclen completamente.

- c. Identifique la solución preparada etiquetándola con sus respectivos datos (Metanol al 70%, Fecha y nombre de los analistas).
- d. Almacene la solución a temperatura ambiente en un recipiente cerrado hasta que se la necesite.

2.7 Implementación del Ensayo.

Para analizar las muestras de los bocaditos de maíz por medio del kit ELISA se realizaron los siguientes pasos:

1. Con una micropipeta de 100 μ l de punta desechable, se colocó 100 μ l de conjugado (frasco con etiqueta azul) en cada pocillo marcado de rojo.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.1 TÉCNICA ELISA PASO 1.

2. Añada 100 μ l de los controles positivos (frasco con etiqueta amarilla) y las muestras a los pocillos marcados de rojo.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.2 TÉCNICA ELISA PASO 2.

3. Mezcle y transfiera 100 μ l a los pocillos de anticuerpo. Incube durante dos minutos.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.3 TÉCNICA ELISA PASO 3.

4. Remueva el líquido de los pocillos de anticuerpo.
5. Lave los pocillos de anticuerpo por 5 veces con agua destilada.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.4 TÉCNICA ELISA PASO 4.

6. Invierta los pocillos de anticuerpo sobre un papel toalla absorbente
Repita esta operación hasta que no quedará líquido en los pocillos.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.5 TECNICA ELISA PASO 5.

7. Trasfiera 100 μ l del sustrato procedente del frasco con etiqueta verde en cada pocillo, mezcle el líquido de los pocillos (5min, 25°C), deslizando los pocillos hacia delante y hacia atrás, teniendo cuidado en no salpicar la solución fuera de los pocillos.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.6 TÉCNICA ELISA PASO 6.

8. Trasfiera 100 μ l del reactivo Red Stop a cada pocillo de anticuerpo.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.7 TÉCNICA ELISA PASO 7.

9. Utilice un lector de pocillo a 650 nm. para saber los resultados de AFB1 presente en las muestras.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 2.8 TÉCNICA ELISA PASO 8.

2.8 Validación de Resultados

Para la reconfirmación de los resultados obtenidos en los análisis de la muestras seleccionadas, se envió un duplicado de cada muestra analizada a un Laboratorio externo acreditado ubicado en la ciudad de Guayaquil, para así contar con un respaldo de estos datos, y que estos aseguren los resultados obtenidos durante la investigación.

Existe o no la presencia de aflatoxina B1 en snack a base de maíz que se distribuyen y comercializan en los sectores de los Guasmos, y poder contestar a las interrogantes ya planteada.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS.

Con los resultados obtenidos durante el estudio sobre los bocaditos de maíz más consumidos por los niños se realizó la tabulación de datos, con el fin de conocer la preferencias de los bocaditos de maíz, de toda la encuesta se contaron todas las preguntas y se construyeron cuadros para representar la información y con su respectivo gráfico para observar la tendencia de las respuestas obtenida para después dar una conclusión de los resultados.

Pregunta 1

¿Cuáles son las golosinas que usted consume con frecuencia durante el recreo?

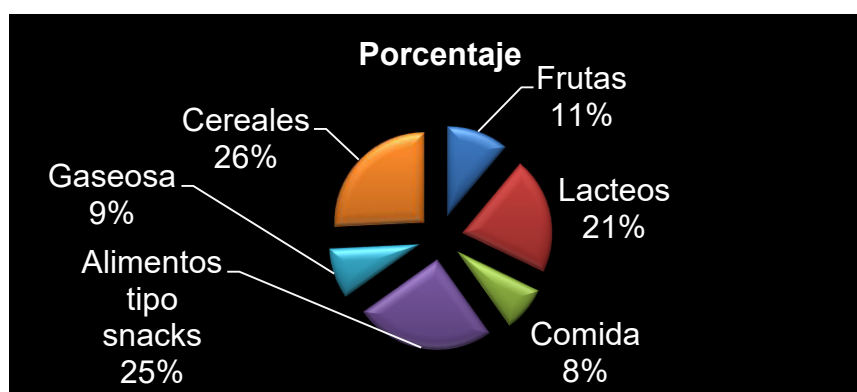
Objetivo

Conocer qué tipo de lunch tienen en el recreo.

TABLA 9
GOLOSINAS MÁS CONSUMIDAS DURANTE EL RECREO EN
LOS BARES DE LAS ESCUELAS.

Respuesta	Número de encuestados	Porcentaje (%) de encuestados
Frutas	78	11.03
Lácteos	149	21.07
Comida	57	8.06
Alimentos tipo snacks	177	25.03
Cola	64	9.05
Cereales	182	25.76
Total	707	100%

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 3.1 PORCENTAJES DE LAS GOLOSINAS MÁS CONSUMIDAS POR LOS NIÑOS DURANTE EL RECREO.

Interpretación: Los niños han expresado que el 26% consumen cereales durante el recreo, 25% manifiestan que consumen bocaditos de maíz, el 21% afirma que consume lácteos, el 11% consume frutas, el 9% toma colas, y el 8% lleva comida preparada desde su casa.

Análisis: Más de 50 % de los niños encuestados consumen cereales y bocaditos de maíz durante el recreo.

Pregunta 2

¿De ser snacks su comida favorita en el recreo, cual es el que más prefieres?

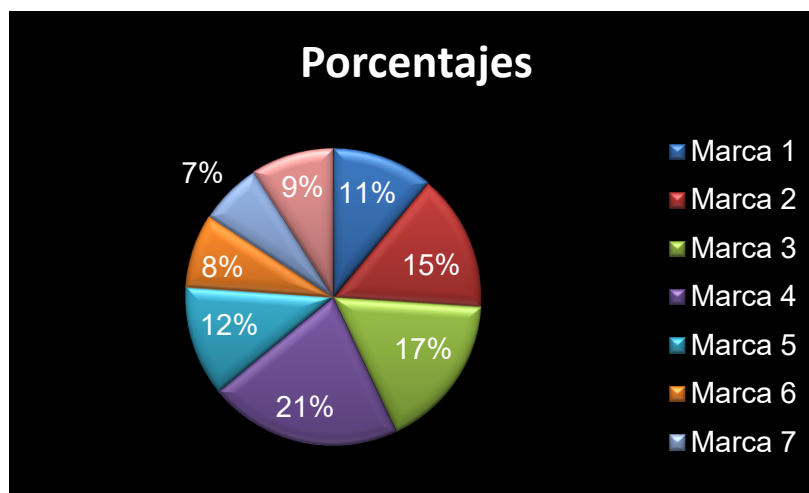
Objetivo

Conocer las marcas bocaditos de maíz habitualmente consumidos.

TABLA 10
BOCADITOS DE MAÍZ CONSUMIDOS POR LOS NIÑOS EN
EL RECESO

Respuesta	Número de encuestados	Porcentaje (%) de encuestados
Marca 1	78	11.03
Marca 2	106	15
Marca 3	120	16.97
Marca 4	149	21.07
Marca 5	85	12.02
Marca 6	57	8.06
Marca 7	48	6.8
Marco 8	64	9.05
Total	707	100%

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA3.2 PORCENTAJES DE LAS MARCAS MÁS CONSUMIDAS POR LOS NIÑOS DURANTE EL RECREO.

Interpretación: Se observa en gráfico que el 21% consumen Marca 4 durante el receso, el 17% consumen Marca 3, el 15% consumen Marca 2, el 11% consumen Marca 1, el 9% manifiestan que consumen Marca 8, el 8% afirman que consumen Marca 6, y el 7% dicen que consumen la marca 7.

Análisis: La mayoría de los niños consumen bocaditos a base de maíz durante el receso, esto puede ser debido a su bajo precio y su consumo es práctico.

Pregunta 3

¿Entre que rangos de edad se encuentra el niño encuestado?

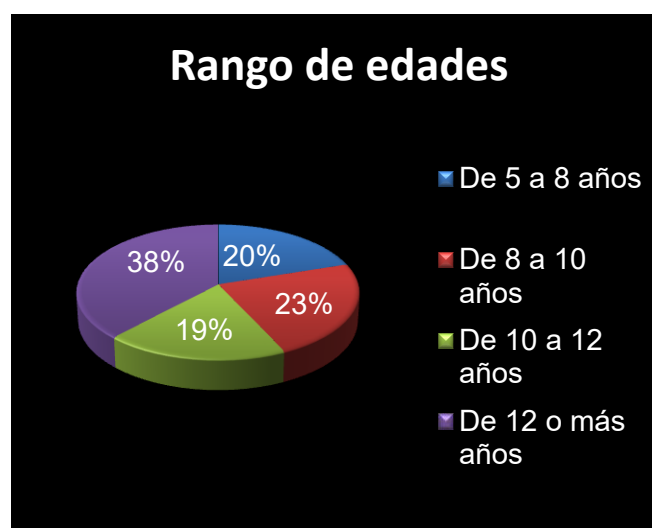
Objetivo

Conocer el rango de edad que más consumen los bocaditos a base de maíz.

TABLA 11
RANGO DE EDADES DE LOS NIÑOS
CONSUMIDORES DE BOCADITOS A BASE DE MAÍZ
(SNACKS).

Respuesta	Número de encuestados	Porcentaje (%) de encuestados
De 5 a 8 años	141	19.94
De 8 a 10 años	163	23.05
De 10 a 12 años	134	18.95
De 12 o más años	269	38.06
Total	707	100%

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA3.3 BOCADITOS A BASE DE MAÍZ DE MAYOR
PREFERENCIA POR LOS NIÑOS EDADES COMPRENDIDAS
ENTRE NIÑOS DE 5 A 12 AÑOS O MÁS

Interpretación: La gráfica refleja que el 20% de los niños encuestados están entre 5 a 8 años que consumen mayormente los bocaditos de maíz, el 23% está entre 8 a 10 años, el 20% está entre 10 a 12 años, y el 38% esta de 12 o más años.

Análisis: los niños entre 12 o más años mayormente prefieren los bocaditos a base de maíz.

Pregunta 4

¿Con que frecuencia compran este tipo de golosinas?

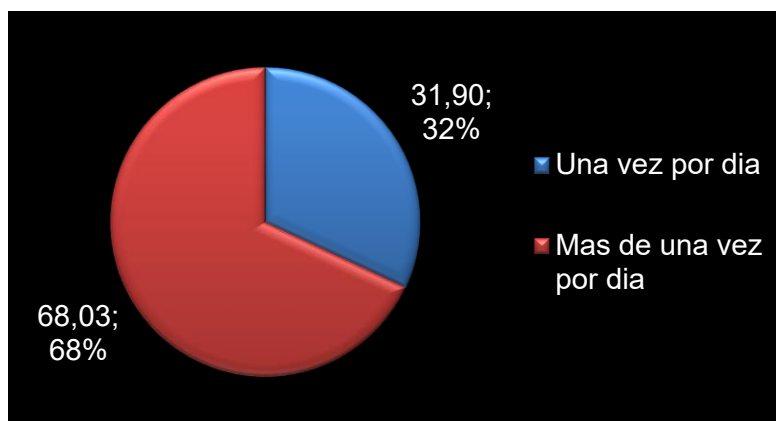
Objetivo

Observar los hábitos de consumo de los niños durante un tiempo determinado en las escuelas.

TABLA 12
FRECUENCIA DE CONSUMO DE LOS BOCADITOS A BASE
DE MAÍZ (SNACKS).

Respuesta	Número de encuestados	Porcentaje (%) de encuestados
Una vez por día	226	31,97
Más de una vez por día	481	68,03
Total	707	100%

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 3.4 FRECUENCIA DE CONSUMO DE BOCADITOS A BASE DE MAÍZ.

Interpretación: de los niños encuestados el 68% consumen bocaditos de maíz más de una vez por día, el 32% consumen una vez por día.

Análisis: Más de 50% de los niños encuestados consumen los bocaditos de maíz más de una vez por día.

Resultados de las encuestas dirigidas hacia los dueños de bares

Pregunta 1

¿Qué tipo de alimentos venden en el bar del plantel donde usted labora?

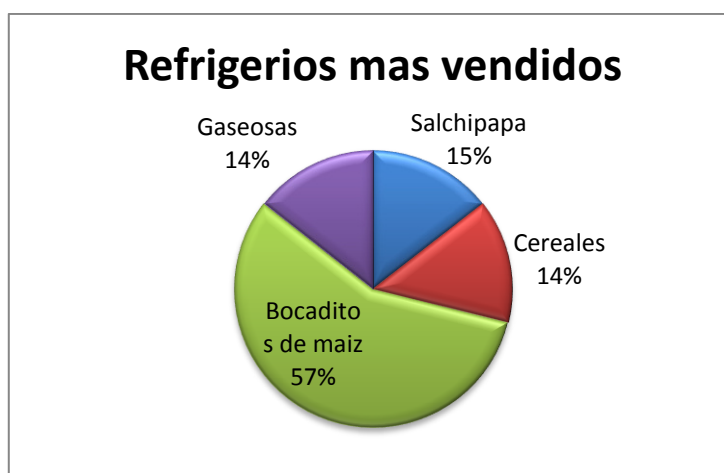
Objetivo

Conocer qué tipo de refrigerios se expenden en los bares durante el recreo.

Tabla 13
Refrigerios más vendidos en los bares de las Escuelas

Respuesta	Número de bares encuestados	Porcentaje (%) de encuestados
Salchipapa	1	14.28
Cereales	1	14.28
Bocaditos de Maíz Gaseosas	4	57.24
Total de bares encuestados	7	100%

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 3.5 REFRIGERIOS MÁS VENDIDOS EN LOS BARES DE LAS ESCUELAS VISITADAS

Interpretación: De los dueños de bares encuestados el 50% venden bocaditos de maíz, el 25% expende salchipapas, el 13% vende bebidas gaseosas, y el 12% vende cereales.

Análisis: La mayoría de los dueños de bares encuestados venden bocaditos a base de maíz.

Pregunta 2

¿En su bar se permite comer todo tipo de comida chatarra?

Objetivo

Conocer si existe o no prohibición de venta de comida chatarras en los bares durante el recreo.

TABLA 14
PORCENTAJE DE BARES QUE VENDEN COMIDA
CHATARRA

Respuesta	Número de bares encuestados	Porcentaje (%) de encuestados
Si	5	71.42
No	2	28.58
Total	7	100

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

Interpretación: El 71.42% de los bares encuestados permite la venta de toda clase de comida chatarra, mientras que el 28.58% no permite.

Análisis: La mayoría de los bares encuestados permiten la venta de las comidas chatarras, mientras que un pequeño porcentaje no.

3.1 Resultados de los Controles Positivos.

Para una mayor confiabilidad y comparación de los resultados reportados se analizaron controles positivos “muestras fortificadas” con sus respectivas replicas (tabla 15), se tomaron dos concentraciones una de 2.0 ppb que corresponde al límite mínimo de cuantificación del kit de Elisa y una de 5 ppb que corresponde al máximo nivel tolerable de AFB1 para los países europeos según la OFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN UNION.

TABLA 15

RESULTADOS DE ABSORBANCIA DE LAS MUESTRAS FORTIFICADAS DEL KIT DE VERATOX® PARA AFLATOXINA ALTA SENSIBILIDAD, LECTURA EN STAT® FAX 650 NM.

Regression 12

Filters 650nm

Log/Logit

R=0.999

Pendiente= -2,07915

Carrier	Abs(muestra)	Abs(replica)
1	1,682	1,696
2	1,592	1,601

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

La lectura de las absorbancias de las muestras fortificadas (tabla 15) revelaron una diferencia no significativa con las absorbancias y las concentraciones reportadas por la curva de calibración del certificado de calidad del manual del equipo (anexo 8) como también con los datos de la curva elaborada para este estudio (tabla 17), es debido a que el snack a base de maíz que se utilizó para los controles, proveniente de la Marca 1, no contenía concentraciones de aflatoxina B1 que en unión con la adición del fortificado aumentó la concentración de la aflatoxina. Con respecto al coeficiente de variación (tabla 16) este no sobrepasó el 10%, el cual es el valor estipulado por la casa comercial que elaboró el equipo de lectura, confirmando así la veracidad de los resultados.

TABLA 16
RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE
REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE
ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN
PPB, DE LAS MUESTRAS FORTIFICADAS.

Absorbancia Promedio	Coeficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,689	0,586	98,31	2
1,597	0,399	92,93	5

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

Para este estudio se tomó como referencia la norma internacional europea (5 ppb) la cual es estricta en cuanto a los niveles tolerables de aflatoxina B1, los datos fueron analizados bajo este

criterio ya que si se considera que los factores como la cantidad de micotoxina ingerida diariamente en función de la concentración de micotoxina, la cantidad de alimento ingerido, la continuidad o intermitencia de ingestión del alimento contaminado, el peso corporal, el estado fisiológico y de salud del individuo conllevan a la influencia y disponibilidad de la toxicidad de las micotoxinas en los humanos, es posible establecer que al ser mayor el valor de la concentración de aflatoxina reglamentada por la FAO (20 ppb) los consumidores tendrían una probabilidad más alta de adquirir las enfermedades producidas por esta toxina.

3.2 Resultados para la Curva de Calibración

En el modo de regresión, las curvas con un valor $r < 0.98$ van a ser marcados como inválidos. El Stat® Fax fue calibrado durante la prueba, usando estándares de lectura de absorbancias. La curva de calibración para este estudio fue construida a partir de concentraciones de 0, 5, 15, 50 ppb de AFB1 con sus respectivas replicas (tabla 18 y figura 3.6).

El resultado de la curva de calibración es una serie de líneas sementadas conectando los puntos del calibrador.

El volumen es proporcional al paso de luz y por ende a la absorción. Stat® Fax 3003 Plus usa la ley de beer para calcular la concentración de muestras desconocidas.

TABLA 17
RESULTADOS DEL PORCENTAJE DE ABSORBANCIA DE LAS
CONCENTRACIONES ESTÁNDAR DEL KIT DE VERATOX®
PARA AFLATOXINA, LECTURA EN STAT® FAX 650 NM.

Regression 12

Filters 650nm

Log/Logit

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,695	1,723
2	1,587	1,597
3	1,218	1,199
4	0,436	0,452

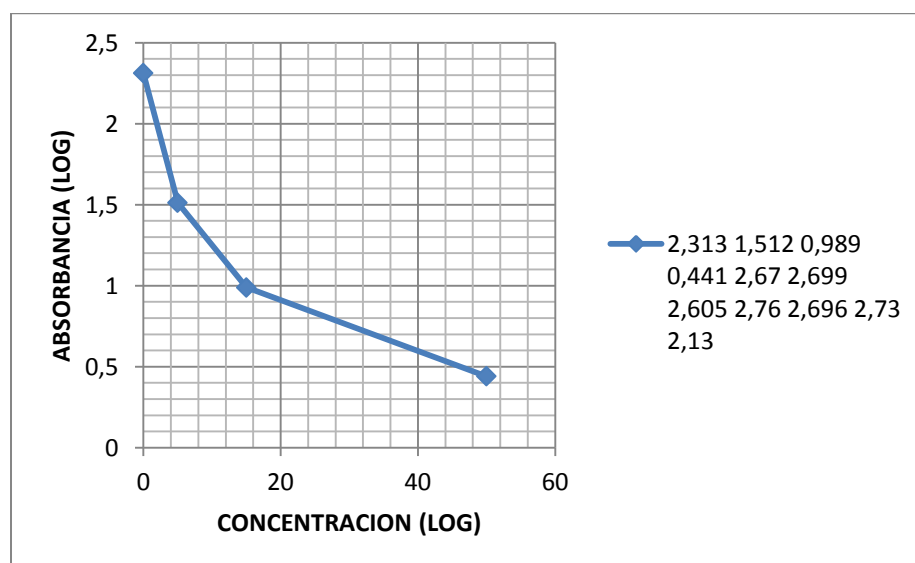
Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

Al realizar la curva de calibración estándar para la técnica de Elisa, los resultados arrojados de absorbancia promedio y concentración (tabla 18) dieron valores similares en comparación con los datos de referencia incluidos en el manual del equipo de lectura (anexo 8).

TABLA 18
RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE
REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE
ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN
PPB, DE LAS CONCENTRACIONES ESTÁNDAR PROVISTAS
POR EL KIT DE ELISA VERATOX PARA AFLATOXINA.

Absorbancia Promedio	Coefficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,709	1,159	99,48	0
1,592	0,444	92,67	5
1,209	1,112	70,34	15
0,444	2,548	25,84	50

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.



Elaborado por: Rodríguez Evelyn y Vizcarra Marcelo, 2012.

FIGURA 3.6 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL KIT DE ELISA
VERATOX® PARA AFLATOXINA PARA LAS
CONCENTRACIONES 0, 5, 15, Y 50 PPB

Para los datos del estándar 1 que equivalen a la concentración de 0 ppb, la absorbancia promedio fue de 1,709 al ser comparada con la absorbancia del certificado de calidad del kit (véase anexo 8), la cual fue de 1,728 se puede observar que hay una aproximación entre los datos, de manera que si se analiza la tabla 18 (resultado de absorbancia promedio de las concentraciones estándar) y el anexo 8 (certificado de calidad del kit de Veratox® para aflatoxina), se detalla que para todos los datos el comportamiento fue similar. Para el caso del coeficiente de variación ninguno de los datos superó el 10%, demostrando así que los datos son verídicos.

3.3 Resultado de cuantificación de AflatoxinaB1 para cada una de las muestras tomadas.

En la tabla 19 se muestran las absorbancias de las muestras analizadas proveniente de la marca 1.

TABLA 19

**RESULTADOS DE ABSORBANCIA PARA LAS MUESTRAS DE
BOCADITOS DE MAÍZ MARCA 1, LECTURA EN STAT® FAX
READER A 650 NM.**

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,701	1,726
2	1,724	1,705
3	1,679	1,721
4	1,746	1,689
5	1,743	1,726

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

Se analizaron en total 5 muestras provenientes de la Marca 1, realizándose dos análisis por cada muestra, sin encontrar diferencia significativa entre ambas absorbancias por muestras.

TABLA 20

**RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE REPLICA Y
MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE ABSORBANCIA Y
CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN PPB, DE LAS MUESTRAS
ANALIZADAS PARA LA MARCA 1.**

Absorbancia Promedio	Coefficiente de variación	% de absorbancia	Concentracion (ppb)
1,714	1,032	99,74	< 2
1,715	0,784	99,80	< 2
1,700	1,747	98,95	< 2
1,718	2,347	99,97	< 2
1,735	0,693	100,96	< 2

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

El coeficiente de variación de los resultados no sobrepasaron el 10 % (tabla 20) según lo estipulado por el manual del equipo, esto quiere decir que los resultados no tienen una variación representativa entre la réplica y la muestra. Si las absorbancias son comparadas con los datos arrojados por la curva patrón del estudio, se puede observar que estas tienen una similitud y es correspondiente a las concentraciones, este es el caso de la muestra número 4 (carrier 4) el cual tiene un absorbancia de 1,746 con una concentración de 0 ppb (tabla 19), si se compara con el dato de la concentración de 0 ppb de la curva patrón para la cual da una absorbancia promedio de 1,709 (tabla 18) se puede ver que los valores son similares. En la tabla 21 se muestran las absorbancias obtenidas para los bocaditos de maíz provenientes de la MARCA 2.

TABLA 21

RESULTADOS DE ABSORBANCIA PARA LAS MUESTRAS DE BOCADITOS DE MAIZ TOMADAS A LA MARCA 2, LECTURA EN STAT® FAX READER A 650 NM.

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,757	1,697
2	1,72	1,719
3	1,719	1,746
4	1,732	1,691
5	1,749	1,723

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

Se analizaron en total 5 muestras provenientes de la Marca 2, sin encontrar diferencia significativa entre ambas absorbancias por muestras.

TABLA 22

RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN PPB, DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS PARA LA MARCA 2.

Absorbancia Promedio	Coeficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,705	2,457	99,24	< 2
1,704	0,041	99,20	< 2
1,704	1,102	99,18	< 2
1,703	1,694	99,12	< 2
1,703	1,059	99,11	< 2

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

Los datos reportados mostraron que las concentraciones para la MARCA 2 (tabla 22) no superaron los parámetros dictados por la unión europea y la FDA, los coeficientes de variación no supero el 10%, esto quiere decir que no hay diferencia significativa entre las absorbancias.

TABLA 23

RESULTADOS DE ABSORBANCIA PARA LAS MUESTRAS DE

BOCADITOS DE MAIZ TOMADAS A LA MARCA 3, LECTURA

EN STAT® FAX READER A 650 NM.

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,685	1,709
2	1,681	1,693
3	1,701	1,721
4	1,716	1,708
5	1,743	1,658

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

En la tabla 23 se reportan los resultados de las absorbancias para la MARCA 3. Se analizaron 5 muestras, realizando un análisis por duplicado por cada muestra.

TABLA 24

RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE

REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE

ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN

PPT, DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS PARA LA MARCA 3.

Absorbancia Promedio	Coefficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,697	1,000	98,78	< 2
1,687	0,503	98,20	< 2
1,711	0,827	99,59	< 2
1,712	0,330	99,65	< 2
1,701	3,534	98,98	< 2

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

No se encontró contaminación por AFB1 para la MARCA 3, siendo así un producto apto para el consumo y sin riesgo para la salud pública. El coeficiente de variación no sobrepasó el 10%, lo que no indica que no hay diferencia significativa entre las absorbancias leídas por el equipo Stat® Fax.

TABLA 25
RESULTADOS DE ABSORBANCIA PARA LOS BOCADITOS DE
MAÍZ TOMADAS DE LA MARCA NÚMERO 4, LECTURA EN
STAT®FAX READER A 650 NM.

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,689	1,697
2	1,723	1,693
3	1,691	1,694
4	1,682	1,704
5	1,729	1,705

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

En la tabla 25 se muestran los resultados obtenidos para las MARCA 4, se analizaron un total de 5 muestras, cada una por duplicado.

TABLA 26
RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE
REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE
ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN
PPB, DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS PARA LA MARCA 4.

Absorbancia Promedio	Coefficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,693	0,334	98,54	< 2
1,708	1,242	99,42	< 2
1,693	0,125	98,52	< 2
1,693	0,919	98,54	< 2
1,717	0,988	99,94	< 2

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

No se presencio diferencia significativa entre las absorbancias para las muestras analizadas proveniente de marca 4. El coeficiente de variación no sobre paso el 10% lo cual lo estipula la casa comercial del Stat® Fax Reader. No se encuentra niveles de AFB1 para la MARCA 4 por lo tanto se considera esta marca de bocaditos de maíz apto para el consumo humano.

TABLA 27
RESULTADOS DE ABSORBANCIA PARA LAS MUESTRAS DE
BOCADITOS DE MAÍZ TOMADAS A LA MARCA 5, LECTURA
EN STAT® FAX READER A 650 NM.

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,716	1,683
2	1,68	1,743
3	1,731	1,682
4	1,705	1,715
5	1,703	1,678

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

En la tabla 27 se muestran los resultados de las absorbancias obtenidas para la MARCA 5, en total se analizaron 5 muestras, cada una por duplicado.

TABLA 28
RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE
REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE
ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN
PPB, DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS PARA LA MARCA 5.

Absorbancia Promedio	Coefficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,700	1,373	98,92	< 2
1,712	2,603	99,62	< 2
1,707	2,030	99,33	< 2
1,710	0,414	99,53	< 2
1,691	1,046	98,40	< 2

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

La tabla 28 muestra el coeficiente de variación de las absorbancias promedio de las muestras analizadas, los coeficientes de variación no sobrepasaron el 10%, no se evidencio presencia de aflatoxina en las muestras analizadas provenientes de la marca 5.

TABLA 29
RESULTADOS DE ABSORBANCIA PARA LAS MUESTRAS DE
BOCADITOS DE MAÍZ TOMADAS A LA MARCA 6, LECTURA
EN STAT® FAX A 650 NM.

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,698	1,723
2	1,709	1,679
3	1,708	1,678
4	1,726	1,675
5	1,676	1,728

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

En la tabla 29 se muestra los resultados de las absorbancia para las muestras de bocaditos de maíz, en total se analizaron 5 muestras, cada muestras se analizó por duplicado.

TABLA 30

**RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE
REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE
ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN
PPB, DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS PARA LA MARCA 6.**

Absorbancia Promedio	Coeficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,711	1,033	99,56	< 2
1,694	1,252	98,60	< 2
1,693	1,253	98,54	< 2
1,701	2,121	98,98	< 2
1,702	2,160	99,07	< 2

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

La tabla 30 muestra el coeficiente de variación de las absorbancias de las muestras analizadas, los coeficientes de variación no sobrepasaron el 10%, no se evidenció presencia de aflatoxina en las muestras analizadas provenientes de la marca 6.

TABLA 31

RESULTADOS DE ABSORBANCIA PARA LAS MUESTRAS DE BOCADITOS DE MAÍZ TOMADAS A LA MARCA 7, LECTURA STAT® FAX READER A 650 NM.

Carrier	Absorbancia de la muestra	Absorbancia de la replica
1	1,716	1,683
2	1,68	1,743
3	1,731	1,682
4	1,705	1,715
5	1,703	1,678

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

TABLA 32

RESULTADOS DE ABSORBANCIA PROMEDIO ENTRE REPLICA Y MUESTRA, COEFICIENTE DE VARIACIÓN, % DE ABSORBANCIA Y CONCENTRACIÓN DE MICOTOXINA EN PPB, DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS PARA LA MARCA 7.

Absorbancia Promedio	Coeficiente de variación	% de absorbancia	Concentración (ppb)
1,700	1,373	98,92	< 2
1,712	2,603	99,62	< 2
1,707	2,030	99,33	< 2
1,710	0,414	99,53	< 2
1,691	1,046	98,40	< 2

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

Finalmente de las muestras tomadas y en total analizadas no se encontraron contaminación de aflatoxina B1.

Por otro lado se considera que el nivel de concentración de aflatoxina para estas marcas no es peligrosa para la salud de sus consumidores ya que se encuentra en los niveles mínimos y no próximos al nivel máximo permisible por la Unión Europea, por tanto es posible que esta marca no tenga problemas de contaminación con hongos como *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* o posiblemente le esté dando un buen almacenamiento al maíz.

3.4 Resultado de la Validación

Se solicitó al laboratorio AVVE el análisis de aflatoxina para los bocaditos de maíz, para corroborar los resultados obtenidos durante el estudio. En la Figura 3.4 podemos observar el certificado de análisis, de las 7 muestras que fueron analizadas el resultado fue de 0 ppb. A excepción de una muestra, que presentó una cantidad de 0.9 ppb de aflatoxinas, esto es debido a la sensibilidad del método que utilizó el laboratorio externo.



LABORATORIOS
ave
Garantizamos su confianza

INFORME DE ENSAYOS

Fecha de Informe:	04/jul/2012	N° de Informe:	3099-12	Página:	1/1
-------------------	-------------	----------------	---------	---------	-----

INFORMACION DEL CLIENTE:					
Nombre:	EVELYN RODRIGUEZ MONTESDEOCA				
Dirección:	SAUCES 3 MZ. 145 VILLA 5				
Teléfono:	2571208	Fax:	--	E. Mail:	--

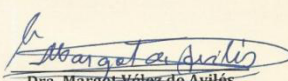
DATOS GENERALES DE LAS MUESTRAS:					
Tipo de Muestra:	Caereales y Derivados	Muestreo:	Realizado por Cliente		
Descripción:	Snack	Condición:	Normales, funda plástica		
Fecha de Ingreso:	28/jun/2012	Forma de conservación:	Ambiente		

Nombre de las Muestras:	Código de Laboratorio	Orden	Pág. R38-5.10	Fecha de Análisis
	CG-C-371-28-06-12	3679	8885	02-07-2012
	CG-C-372-28-06-12	3680	8885	02-07-2012
	CG-C-373-28-06-12	3681	8885	02-07-2012
	CG-C-374-28-06-12	3682	8885	02-07-2012
	CG-C-375-28-06-12	3683	8886	02-07-2012
	CG-C-376-28-06-12	3684	8886	02-07-2012
	CG-C-377-28-06-12	3685	8886	02-07-2012

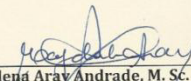
Condiciones Ambientales:	Temperatura:	18°C - 23°C
	Humedad relativa:	40% - 55 %

RESULTADOS	
Nombre de las Muestras:	AFLATOXINAS MMQ-173 ppb
	0,9
	0,0
	0,0
	0,0
	0,0
	0,0
	0,0

OBSERVACIONES
Se podrá solicitar modificaciones de documentos hasta 6 meses después de su emisión. Estos resultados corresponden exclusivamente a la muestra analizada. La contra muestra se almacena en el laboratorio por 1 Mes. Prohibida su reproducción total o parcial, sin previa autorización de LABORATORIOS AVVE S.A. Los registros generados por el análisis de la(s) muestra(s) son mantenidas en los archivos del laboratorio por 5 años Las observaciones y opiniones no se encuentran dentro del Alcance de Acreditación Válido sólo el Informe Original



Dra. Margot Velez de Aviles
Gerente General & Técnico

Q.F. Magdalena Aray Andrade, M. Sc.
Directora de Calidad

Datos de Contacto:
 Dirección Matriz del Laboratorio: Parque Industrial California 1, Calle Arq. Modesto Luque
 Rivasmena, Edificio Comercial N-3 Local 4 A Km.11 1/2 vía a Daxile
 PBX. Matriz: (5934) 2103206. Teléfonos Parque California: 21030177 / 2103026 ext. 235
 Dirección Sucursal Laboratorio de Microbiología: Parque Industrial California 2, Local D-44
 Km.11 1/2 vía a Daxile
 Teléfono Sucursal: (5934) 2 103365. Teléfonos Parque California II: 2 103199 ext. 443
 E-mail: labavve@gve.satnet.net
 cotizaciones.compras@laboratoriosavve.com
 paula.aviles@laboratoriosavve.com
 www.laboratoriosavve.com

REV 07/12-10

Elaborado por: Laboratorios AVVE, 2012.

FIGURA 3.4 CERTIFICADO DE ANALISIS.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Se determinó y cuantificó la concentración de la AFB1 en bocaditos a base de maíz (snacks) por medio de la técnica inmunoenzimática ELISA.

Se halló que el 100% de las muestras de bocaditos de maíz analizadas presentan una contaminación menor que 2 ppb. con AFB1, lo que indica que el maíz fue cosechado y almacenado en condiciones óptimas. Las muestras fueron leídas mediante el equipo de micro pocillos STAT FAX READER A 650 nm. Mientras que la validación de los resultados obtenidos por un laboratorio certificado fueron de 0 ppb. a excepción de una muestra, que presentó una cantidad de 0.9 ppb de aflatoxinas, esto es debido a la sensibilidad del método que utilizó el laboratorio externo. Ambos resultados indican que están dentro del límite permitido de la FDA y la Unión Europea.

Para conocer cuáles eran las marcas de bocaditos de maíz más preferidas por los niños, se realizó una encuesta a los niños. La población total de niños era de 18079, se tomó un nivel de confianza del

97% y un margen de error del 4%, lo cual dio un valor de 707 niños a encuestar.

Dentro de los requerimientos para la aceptación del maíz en grano, dados por la norma INEN, no se encuentra un análisis de determinación de aflatoxinas, siendo este uno carcinógenos más poderosos de la naturaleza, por lo tanto que debería ser incluido en la norma INEN para la aceptación del maíz en grano.

RECOMENDACIONES

Concienciar a los productores de snacks de incluir en sus análisis preliminares para la aceptación de un lote de maíz, el análisis con la técnica ELISA para indicar la presencia de aflatoxinas en su materia prima.

Brindar capacitaciones a los productores de maíz acerca del buen trato post-cosecha del maíz para así evitar la proliferación de hongos y por ende el desarrollo de aflatoxinas.

Conociendo que los cereales son susceptibles al ataque de hongos *Aspergillus flavus*, el cual es uno de los predecesores de las aflatoxinas, este análisis con la técnica ELISA se lo aconseja aplicar en los cereales y otros productos susceptibles tales como: maní, habas, leche que también son consumidos en gran cantidad por los ecuatorianos.

El gobierno de nuestro país debería adoptar leyes para el control de aflatoxinas tanto en materia prima como en producto elaborado, como se lo hace en la mayoría de países de Sudamérica, para de esta manera minimizar la presencia de cáncer al hígado y otras enfermedades como micotoxicosis en el país.

BIBLIOGRAFÍA

Aflatoxinas en maíz. 2003 Mexico D. F. - Mexico disponible en internet:
<http://www.fao.org/docrep/007/y5499s/y5499s07.htm#TopOfPage>

Aflatoxinas riesgos para la salud Universidad de Cornell Marzo 2009
 disponible en internet:
<http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/aflatoxin/aflatoxin.htm>

Aguilar, Francisco, Department of Carcinogenesis, Swiss Institute for
 Experimental Cancer Research, CH-1066 Epalinges/Lausanne, Switzerland,
 Communicated by Bruce N. Ames, May 26, 1993.

Almudema, Aitor, Lizaso, Jordi, 2001. "Hongos y Micotoxinas". Madrid –
 España. pp. 1 – 3.

Blalock, Henry, 1972. "Estadística social". 2nd. Edition. Original publicado por
 McGraw – Hill, N. York. pp. 211- 224.

Borrell, Gimeno, 2003. "Micotoxinas en los Alimentos": medidas de
 prevención y detoxificación. Barcelona. pp. 569 – 571.

Boutrif, Canet, 1998. Mycotoxin prevention and control: FAO programmes.
 Revue de MédecineVétérinaire. pp. 149, 681-694.

Calvo, Miguel, 2005 'Bioquímica de los Alimentos' disponible en:

<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/toxico/micotoxinas.html>

Cochran, Walter, 1952. "Técnicas de muestreo". 12ª. Reimpresión 1996.

Compañía Editora Continental, México. pp. 513 – 516.

Comisión del Codex Alimentarius. 1997. Código de práctica para reducir los niveles de la aflatoxina B1 en las materias primas y en los suplementos de alimentación en los animales productores de leche. CCA/RCP 45-1997. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.

Davegowda, Gerbu, 1998. "Efectos de las Micotoxinas" Bangalore – India. pp. 231 – 232.

Departamento de Agricultura. 2003. Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones. Roma – Italia. pp. 14 – 16.

Disponible en internet en:

<http://ftp.fao.org/docrep/fao/007/y5499s/y5499s00.pdf>.

Devendra, Verma, 2007. "Micotoxinas de Interés" disponible en internet;

<http://zeolitanatural.com/docs/animalavicultura.pdf>

Dichter, Craig, 1997. "Food ChemToxicol": Risk estimates of liver cancer due to aflatoxin exposure from peanuts and peanut products". Houston – USA. pp. 431- 437.

Espin, Santiago, 1991. "Informe del taller conjunto FAO/OPS sobre Prevención y Control de Micotoxinas en América Latina y el Caribe". Disponible en internet: https://docs.google.com/viewer?a=v&q=cache:oh6NMusvGhQJ:www.codexalimentarius.org/input/download/report/451/al91_36s.pdf+INFORME+DE+TALLER+CONJUNTO+FAO/OMS+SOBRE+PREVENCION+Y+CONTROL+DE+MICOTOXINAS+EN+AMERICA+LATINA+Y+EL+CARIBE&hl=es&gl=ec&pid=bl&srcid=ADGEEShKKUZdqDccCR1vgmynUweMkHU_I m05ZaH96Ry3r2qQNqD3KWGOap9tRyu43orJHZxwcJIHT3HzY-zGZaEiWy7FXWZA1hDq9R_FtFYY-E1SMSFTHoSIGn-s3OcFOmL554QpNzQj&s

FAO. 1993. "Planes de muestreo para análisis de aflatoxinas en maní y maíz". Estudio FAO: Alimentación y nutrición 55, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma, Italia.

FAO. 2003. Manual Sobre la Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Prevención y Control de las Micotoxinas.

FDA. 1992. Guía regulatoria para toxinas y contaminantes. Disponible en internet en: http://www.ngfa.org/files/misc/Guidance_for_Toxins.pdf

Gilbert, Anklam, 2002. "Validation of analytical methods for determining mycotoxins in foodstuffs". Trends in Analytical Chemistry 21. pp. 468-486.

Horwitz, William, 2000. "Official Methods of Analysis of AOAC International". Seventeenth Edition. AOAC International, Gaithersburg – USA. Chapter 49 Natural Toxins. pp. 161 – 166.

INEN. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION, 1995. NORMA TECNICA ECUATORIANA NTE 0187:1995. R DEBE CUMPLIR EL MAIZ EN GRANO AL MOMENTO DE LA RECEPCION Y PARA SER DESTINADO PARA CONSUMO HUMANO, ALIMENTOS ZOOTECNICO Y USO INDUSTRIAL.

International Agency for Research on Cancer, 1987. "Monograph on the evaluation of carcinogenic risk to humans", Lyon – Francia, pp. 82 – 87.

Katz, Heddiger, 1974. "Traditional maize processing techniques in the new world". Hamburg. pp. 765 – 773.

Meier, Patrick, 2000. "Statistical Methods in Analytical Chemistry". Segunda Edición. John Wiley and Sons Inc. New York – USA. pp. 163.

Mühlemann, Marc, Lüthy, Jürg, Hübner, Philipp, 1997. "Mycotoxin Contamination of food in Ecuador". pp. 474 – 479.

Payne, Gary, 1998. “Proceso de Contaminación por Hongos Productores de Aflatoxinas y sus Impactos en los Cultivos”. Nueva York – USA. pp. 132 – 141.

Perusia, Ostel, Rodriguez Rodrigo. Micotoxycosis. 2001. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v12n2/a13v12n2.pdf>

Pobland, Andrew, 1993, Mycotoxins in review. “Food additives and Contaminants”.Disponible en internet: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691506002432>.

REGLAMENTO (EU) N° 1881/2006DE LA COMISIÓN del 26 de febrero de 2010disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/calidad/aflatoxina.pdf>

Soriano Del Castillo, M., “Micotixinas en Alimentos”, 2007.Disponible en internet: http://books.google.com.ec/books?id=wgRVcFvk--IC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false.

Unión Europea. 2006., Reglamento (CE) N° 1881/2006 DE LA COMISION Diciembre de 2006 por el que se fija contenido máximo de determinados contaminantes en los productos alimenticios. Disponible en internet: <http://www.boe.es/doue/2006/364/L00005-00024.pdf>.

Valladares, Luis, 1988,“Introducción al tema de micotoxinas y micotoxycosis”. Editorial Barcelona, Santiago de Chile – Chile, pp. 1-26.

Valle, Lucas, 2000. "Toxicología de Alimentos: dosis de aflatoxinas". México D.F. – México. pp. 30 – 35.

Wang, Jen, 1993, "Protective Alterations in Phase 1 and 2 Metabolism of Aflatoxins B1", Editorial Oltipraz, 1ra Edición, Quindond – Republica de China, pp. 347 – 353.

ANEXOS

ANEXO 1

NIVELES DE ACCIÓN ESTABLECIDOS POR LA ADMINISTRACIÓN DE ALIMENTOS Y MEDICAMENTOS (FDA).

Para	Nivel	Materias Primas
Humanos	20 ppb	Todos los alimentos excepto la leche
Todas las especies de animales	20 ppb	Todos los alimento (excepciones abajo)
Cría de ganado, aves de cría, cerdos de cría.	100 ppb	Maíz
Cerdos de acabado (> 100 lbs.)	200 ppb	Maíz
Acabado el ganado vacuno	300 ppb	Maíz
Acabado el ganado vacuno, porcino, aves de corral	300 ppb	harina de semilla de algodón

Fuente: FDA Guía regulatoria para Aflatoxinas y Contaminantes 1992.

ANEXO 2

NIVELES MÁXIMOS PERMITIDOS PARA ALIMENTOS ELABORADOS A BASE DE CEREALES Y ALIMENTOS INFANTILES PARA LACTANTES Y NIÑOS DE CORTA EDAD REGLAMENTADOS POR LA UNIÓN EUROPEA.

Productos	Contenido máximo (µg/kg o ppb)		
	B ₁	B ₁ +B ₂ +G ₁ +G ₂	M ₁
• Alimentos infantiles y alimentos elaborados a base de cereales para lactantes y niños de corta edad.	0,10	—	—
• Preparados para lactantes y preparados de continuación, incluidas la leche para lactantes y la leche de continuación.	—	—	0,025
• Alimentos dietéticos destinados a usos médicos especiales dirigidos específicamente a los lactantes.	0,10	—	0,025

Fuente: REGLAMENTO (EU) No 1881/2006 DE LA COMISIÓN

De 5 de Diciembre del 2006.

ANEXO 3

LISTA DE LAS ESCUELAS DEL SECTOR DEL GUASMO

Número de alumnos por grados

ESCUELA PARTICULARES URBANAS	UBICACION :	DIRECTOR (A):	TELEF.	1ro.	2do.	3ro.	4to.	5to.	6to.	7mo.	totales
7 LAGOS	COOP. 7 LAGOS V. 8	ROSA JENI MERIZALDE	497939	31	31	34	27	22	25	12	182
ALBERTO BORGES Y NAJERA	GUASM.SUR: CALLES ATAHUALPA Y AVERROES BUCARAM MZ. 14 S. 51	SANCHEZ CACERES WILSON ROMULO	2483033 - 090288637	0	13	13	12	11	11	13	73
AMANECER FELIZ	FLORESTA 1 MZ. 92 V. 24	LCDA. GLORIA RAMIREZ	2426032	0	9	10	10	9	11	7	56
AMERICA UNIDA	CDLA.LAS TEJAS: MZ.15 VILLAS # 25-28	GUADALUPE VIZUETE MARIANA ESTHER	436483	82	97	83	94	89	89	75	609
AMIGUITOS DE MICKEY	GUASMO CENTRAL: COOP. CARLOS CASTRO # 1: MZ. 2 SOLAR # 2	MIRIAM OROZCO BECERRA	2488453 - 090224223	28	38	27	25	20	20	14	172
AMIGOS POR SIEMPRE	GUASMO CENTRAL: PRE-COOP. COMITÉ DE BASE PRIMERO DE AGOSTO MZ.1 V. 7A	KATHIA HIDALGO DELGADO	2480582 - 094410191	8	0	0	0	0	0	0	8
ANTARTIDA	GUASMO CENTRAL: COOP. FLOR DEL GUASMO: MZ.4 SOLAR # 6	CEDEÑO WITHER NARCISA DE JESUS	2496653 - 086429539	28	26	26	26	31	33	28	198
APRENDAMOS A LEER	GUASMO SUR: COOP. DER. DE LOS POBRES: MZ. 4 SOLAR # 39	ROSA MARLENE CONTRERAS LEON	2480246	0	21	21	9	10	8	10	79
APRENDIZAJE Y DESARROLLO	GUASMO SUR: PROLETARIOS CON TIERRA MZ. 49 S. 10	REYNA CORNEJO PRIMO	2494330 - 088198856	0	15	15	15	12	12	10	79
BELEN # 2	G.SUR:COOP.BANANEROS.BQ.1 MZ.2-A S.29	GLENDA GIOMARA SIERRA	458766 - 094441344	24	7	7	19	3	6	6	72
BENJAMIN MURILLO	GUASMO SUR: COOP.UNION DE BANANEROS, BLQ.# 1: MZ. 11 SOLAR # 19	BORBOR CORONEL MARTHA ALEXANDRA	2486232 - 097785442	9	13	13	5	8	9	6	63
CAMPO DE VIDA	COOP. UNION DE BANANEROS BQ. 3 MZ. 17 S. 4	PALMENIA LINETT MINA MERCADO	502509	28	40	35	33	26	23	29	214
CIENCIA Y PORVENIR	FLORESTA II MZA. 140 V 26	MAGDALENA VILLA DE ESTRADA	2427435 - 097289995	10	14	14	12	14	5	8	77
CIUDAD DE CUENCA	GUASMO SUR: COOP.UINON DE BANANERS, BLQ.# 7 MZ. 417 S. 17-21	ROMERO LLAPA NOE IDOBERTO	489353 - 489354	24	24	19	18	10	13	16	124

COMUNIDAD CRISTIANA CELEBRACION	GUSMO SUR: COOP. GUAYAS Y QUIL MZ. 10 SOLAR 11	ESTHER NOEMI NICOLA OLVERA	2457049	0	6	6	9	3	2	2	28
CRISTO LA LUZ DIVINA	GUASMO SUR: COOP. UNION DE BANANEROS, BLQ.# 1: MZ. 25 SOLAR # 7	FERNANDEZ ALVAREZ ANGELA MARIA	2450424 - 097912779	19	14	7	11	10	8	9	78
CRISTO REDENTOR	LOT. CIUDAD DE DIOS 2623, BL. 4 MZ. A S. 24-29	EVA LIDIA SUAREZ ALARCON	340875 - 085778693	0	18	18	19	14	14	12	95
DANIEL GUADAMUD # 1	GUASMO NORTE: COOP. JUAN X MARCOS: MZ.4 SOLAR # 20	LORENTY ZAMORA MARCIA NOEMI	431573 - 091090729	12	12	5	5	6	5	4	49
DELFINA ARMERO DE GOMEZ (VESP.)	AV. 25 DE JULIO Y NICOLAS MESTANZA	MEZA KUFFO ISABEL MARIANITA	342614	39	39	48	56	56	57	67	362
DELIA LAVAYEN ROGRIGUEZ	G.SUR: COOP. UNION DE BANANEROS, BLQ. 3-A, MZ. 8, S. 19-20	SANTIAGO VICENTE VALVERDE	481832 - 088174671	0	25	25	29	26	15	24	144
DIBUJOS Y LETRAS	GUASMO SUR: COOP. BATALLA DE TARQUI: MZ. 3 SOLAR # 1	IBARRA HUALPA MARIA DE LOURDES	502461 - 2334119	0	22	22	25	35	18	30	152
DIOS VIVIENTE	GUASMO SUR: CDLA. LAS BRISAS MZ. E S. 6	FANNY GUERRERO	483129 - 091919138	0	31	31	33	30	36	26	187
DOMINGO COMIN	DOMINGO COMIN # 205 Y CALLEJON DAULE	CRISTIAN GALLEGOS	2440004 - 091437562	78	94	115	119	125	131	134	796
DR. BENJAMIN CORDERO Y LEON	COOP. FLORESTA 3: MZ. K S. 1	DIANA FUENTES MONROY	2556242 - 2424604	0	9	9	8	5	9	3	43
ECOBVIDA	GUASMO SUR: COOP. MARTHA DE ROLDOS MZ. 2 S. 4	FABIOLA ESPINOZA	421295 - 099588949	0	14	14	14	13	10	8	73
EDUCACION Y FE	PRADERA 2 MZ. D9 V. 13	FELIX SORIA DICAIO	2899664 - 089572840	30	31	27	31	22	22	22	185
EL ARBOL DE LA ESPERANZA	I. TRINITARIA: COOP. VALLA DOLY: MZ. A SOLAR # 19 Y AV. LOS ANGELES 944	PEÑA ANZULES IVONNE ARACELLY	602574 - 090836343	0	10	10	4	4	5	0	33
EL CASTILLO DE HALVAR	FLORESTA 2 MZA 169 VILLA 4	VICTOR DELGADO CH.	2495610 - 2830050	24	14	14	7	18	9	14	100
EL PEDREGAL # 1	GUASMO CENTRAL: COOP. U. DE BAN. MZ.13 SOLAR # 11	LETTY ARACELY ZAMBRANO	2555900 - 089744173	0	21	21	20	23	17	13	115
EL RINCON DE LA TIA BACHITA # 1	GUASMO CENTRAL: COOP. CARLOS CASTRO # 2: MZ. 1 SOLAR # 15	CAJO CHASI BEATRIZ JOSEFINA	476860 - 091709213	33	33	12	19	7	7	12	123
EL SALVADOR	COOP. ESMERALDAS CHIQUITA: MZ. A-1 SOLARES # 6 AL 10	NUÑEZ TAPE GABRIELA DE JESUS	2580446 - 097895824	23	23	23	18	21	15	11	134

ENRIQUE SAYAGO SAMANIEGO # 1	COOP.EUGENIO ESPEJO, MZ.5, SL.3 (FINAL PRADERA # 3)	VILLAGOMEZ ARREAGA JOSE EFREN	437154 -099148016	12	12	5	5	13	15	4	66
ERNESTO CHE GUEVARA	GUASMO SUR: COOP. LAS PALMAS: MZ. 8 SOLAR # 25	TEOFILO MANUEL CEDEÑO CRUZ	844475 - 091010373	15	8	12	6	6	10	13	70
ESTRELLA DEL MAR	GUASMO SUR: COOP. SANDINO Y FCO. DE ORELLANA	PAREDES VELASCO NOE JOSE	480901 - 080082537	47	40	40	44	57	55	39	322
ESTRELLITA DEL SUR	COOP. LOS TULIPANES: MZ. 116 SOLAR # 6	COBOS URDIALES NORMA ISABEL	497516 - 099773817	21	30	30	26	31	21	25	184
FUENTE DEL SABER	GUASMO SUR: COOP.DERECHO DE L.POBRES: MZ.45 SOLAR # 18	STAY COELLO NIDIA SABRINA	485277 - 080097731	20	17	17	16	8	7	11	96
GABRIEL PAZMIÑO ARMIJOS # 1 (U.E.)	GUASMO CENTRAL: CDLA. LOS CIDROS: MZ. 43 V. 5-19	SALAZAR ALVAREZ JOSE MARIA	485140 - 093074937	11	11	9	14	14	17	11	87
GABRIEL OLMEDO ARROBA ESPINOZA	GUASMO SUR: COOP.18 DE OCTUBRE: MZ. 3355 SOLAR # 8	CHICA ROJAS VIOLETA CRISTINA	2502812 - 086274487	10	21	23	22	28	35	35	174
GENESIS # 2	G.SUR:COOP.MARIUXI FEBRES 2.ET MZ. 15 S. 25	JHONY MOREIRA ALCIVAR	2485067 - 097017398	15	9	9	11	8	10	7	69
GOTITAS DEL MAÑANA	COVITAP: MZ. 7 S. 18	MA. DOLORES MALDONADO	438417 - 088892011	13	0	0	0	0	0	0	13
GRAL. JOSE IGNACIO VEINTIMILLA	GUASMO OESTE: COOP.SNTGO/GQUIL.# 2: MZ.B SOLAR # 16	SANCHEZ ESTRELLA MARIA ARGENTINA	425624 - 088966165	11	13	13	11	9	7	7	71
HERMANOS DEL SABER # 1	G.NORTE:COP.25 DE ENE,CALLE DEL RIO MZ. 91 S. 17	BAJAÑA VERA FELIX EDUARDO	503040	0	10	10	11	9	11	10	61
HISPANO SUR	GUASMO SUR: COOP. STAND FRUIT: MZ. 9 SOLAR # 3	KARIN ARELLANO OTERO	2482953 - 086780022	0	25	25	25	25	25	25	150
HUIOS	GUASMO CENTRAL: COOP.NUEVA IDEAL: MZ. 1 SOLAR # 7	NUÑEZ NUÑEZ CATALINA ELIZABETH	2506095 - 094083268	10	10	5	10	5	12	6	58
ILUSIONES	GUASMO SUR,COOP.GUAYAS Y QUIL,MZ.67,S.2	LCDA. DAISY TERESA VILLEGAS COTO	651256	0	30	29	25	22	17	19	142
INSTITUTO SUIZO # 1	G.CNTRAL: COOP.7 SEPT.AV.LAS ESCLUSAS Y PASAJE 10 E	CRUZ ZUÑIGA GILBERTO RODRIGO	487827 - 369227	39	26	36	29	24	25	27	206
JESUS DEL GRAN PODER	GUASMO SUR: COOP. UNION DE BANANEROS, BLQ.# 2 MZ. 2327 S. 3	MORRILLO BARREIRO WINTER ELISIO	2486827 - 087639615	40	32	40	47	43	33	41	276

JOSE ANCHUNDIA QUIIJE	GUASMO SUR: BLQ. # 2; COOP. UNION DE BANANEROS: MZ. 3 SOLAR # 11	MAIRA ANCHUNDIA BARROSO	488023 - 091919294	30	26	28	19	21	13	11	148
JOSE PERALTA # 1	GUASMO SUR: COOP. U.BANANEROS, BQL.# 1 MZ. 24 SOLAR # 54	GONZALEZ LOOR LILIA MARIA	485101 - 088285147	13	13	5	9	10	6	8	64
JULIO PEÑA BERMEO # 1	GUASMO CENTRAL: AV. LAS ESCLUSAS Y CALDERON MZ. F S. 10	PEÑA ESCOBAR JESSICA GIANNINA	507456 - 098177927	0	34	34	28	21	15	10	142
JUVENTUD ECUATORIANA # 1	GUASMO CENTRAL.: COOP. LUCHA POPULAR: MZ.C SOLAR # 8	BURGOS MORALES CATALINA MONSERRATE	2481317 - 099500979	17	11	21	12	18	11	13	103
LA FE DE ABRAHAM	GUASMO OESTE, COOP.JACOBO BUCARAM MZ.C S.4	VILLARREAL MECIAS JOVA NORMA	2499274 - 089870800	29	19	29	32	31	17	14	171
LA SABIDURIA DE SALOMON	COOP. LOS CLAVELES: MZ. 2 SOLAR # 6 - SECTOR MALVINAS	PUERO CANDELA PAULA NASTACHA	334636 - 097441758	0	15	15	19	15	10	15	89
LA SANTIDAD	CDLA. FLORESTA 3 MZ.203 V23	JESSICA JANINA FREIRE	435377 - 081633261	16	13	24	16	24	19	23	135
LINAJE DEL REY	COOP. DERECHOS DE LOS POBRES: MZ. 3251 SOLAR # 17	VALENCIA VERA JULIA ANNABELLA	2488212	27	21	23	35	35	27	30	198
LIRIOS DE LUZ	GUASMO SUR-COOP. POBLADORES SIN TIERRA MZA.6 SOLARES 8 Y 9	JESSICA ISABEL VERA HUACON	521248 - 093096953	47	42	42	42	27	19	12	231
LOS AMIGOS DE JESUS # 1	GUASMO CENTRAL: COOP. 7 LAGOS, MZ. 45, V. 18	ALEXANDRA TOMALA PONGUILLO	426558 - 494583	15	15	15	16	3	6	5	75
LOS HEROES DE PAQUISHA # 1	GUASMO CENTRAL: COOP.ECUADOR	TERAN ORDOÑEZ MARCO VINICIO	2429727 - 080032187	0	9	9	17	6	9	13	63
MACHINAZA # 1 (U.E. PRINCIPE DE PAZ)	GUASMO NORTE: COOP. 1ro. DE MAYO: MZ. 14 SOLAR # 1	RODRIGUEZ CARDENAS CRISTINA ALEXANDRA	489458 - 082713029	35	31	31	44	43	46	38	268
MADRE DE DIOS # 1	GUASMO NORTE: CASITAS DEL GUASMO: MZ. 29 SOLAR # 27	VARGAS LARA JULIA NARCISA	494428 - 094878184	20	31	31	40	25	33	54	234
MANOS TRAVIESAS	GUASMO SUR: COOP. ESTRELLA DE OCTUBRE: MZ. A4 CALLE: LENIN	ROQUE APOLO MARJORIE ARACELLY	488041 - 093695313	20	15	12	19	15	17	18	116
MARTHA BUCARAM DE ROLDOS	GUASMO SUR: CDLA. BATALLA DE TARQUI: MZ. 4 SOLAR # 5	RIQUEROS MANZO ELIAS MOISES	344549 - 341367	0	5	5	7	8	12	11	48

MI JARDIN MARAVILLOSO	GUASMO SUR, COOP. ESTRELLA DE OCTUBRE, MZ. C, S. 12	NAVARRETE CASCO RONAK VICENTE	487231 - 091505423	24	24	12	8	8	4	0	80
MISAEAL ACOSTA SOLIS	G. SUR: COOP. MIAMI BEACH: MZ. C SOLAR 17	SARCO GARCIA NARCISA GERTRUDIS	082750172	0	15	15	15	16	15	18	94
MONSEÑOR JUAN MARIA RIERA # 1	GUASMO CENTRAL: PRE. COOP. 7 LAGOS: MZ. 1434 SOLAR # 1	JACQUELINE ESPAÑA URIÑA	2495870 - 097537686	41	40	37	28	37	30	34	247
MONSEÑOR ROBERTO MARIA DEL POZO # 1	GUASMO CENTRAL: AV. RAUL CLEMENTE HUERTA	VICENTA MARLENE MONTIEL MOSQUERA	480707 - 087870232	0	72	69	73	59	65	61	399
NIKOLAI IVANOVICH LOBACHEWYSKY	GUASMO CENTRAL: COOP. JUAN PENDOLA: MZ. 10	GONZALEZ ALDAZ OLMEDO RAUL	481408 - 601494	0	17	17	15	16	19	13	97
NUESTRA SEÑORA # 1	GUASMO CENTRAL: CDLA. J. PENDOLA A. MZ. 9-B	MENDEZ JIMBO BETHSABE MARIA MELANIA	481282 - 099093921	26	27	31	23	22	11	14	154
NUESTRA SEÑORA DEL QUINCHE	GUASMO SUR: COOP. NUESTRA SRA. DEL QUINCHE, LOTE # 2	HNA. ANTONIETA MONTALVAN CAMPOVERDE	486759 - 089746709	90	86	86	85	81	88	76	592
NUEVA JERUSALEN	GUASMO SUR: COOP. UNION DE BANANEROS, BLQ. # 1: MZ. 5 SOLAR # 55	SOLORZANO CEVALLOS MERLY ELIZABETH	896227 - 087451369	0	14	14	29	28	21	21	127
NUEVA LUZ # 1	GUASMO CTRAL: COOP. 7 DE SEPT.: RAUL CLEMENTE HUERTA MZ. 2 S. 2	CAJO MOYOTA LUZ HERMINIA	489283 - 093333638	68	42	42	43	42	43	28	308
NUEVO AMANECER # 1	GUASMO CENTRAL: COOP. JUAN PENDOLA: MZ. 6 SOLAR # 18	JIMENEZ CARLO SABINO OSWALDO	891224 - 502848	16	16	15	16	17	13	17	110
NUEVO FUTURO	GUASMO SUR: COOP. UNION DE BANAN. :BLQ. # 3: MZ. 17 SOLAR # 14	JUDITH DOLORES ALBAN CRESPIAN	2504582 - 097035767	7	7	10	9	11	8	6	58
NUEVO RUMBO	GUASMO NOROESTE: COOP. LUIS VARGAS MZ. 41-H SOLAR # 1	LEON DAVILA KARINA PAHOLA	584542 - 581127	20	20	17	20	33	25	13	148
PADRE ANTONIO CALDERON RESTREPO	GUASMO SUR: COOP. PROLETARIOS SIN TIERRA: MZ. 18 SOLAR # 8	MARITA MAQUILON	501451 - 099785330	14	14	16	13	8	6	3	74
PALABRAS DE VIDA # 1	FLORESTA 2: MZ. 200 V. 4	ABAD JUANAZO TERESITA DE JESUS	425107 - 420073	13	18	18	18	12	16	10	105

PARAISO DEL SABER # 1 (VESP)	GUASMO CENTRAL: COOP.VIRGEN DE MONSERRATE: Mz.B-1 SOLAR # 3	MONICA DEL ROSARIO CEPEDA	2486013 - 081386945	17	13	13	17	12	6	19	97
PARVULITOS DE JESUS	GUASMO SUR: COOP.UNION BANANEROS, BLQ.# 1 MZ. 2864 S. 7	RIVERA CEDEÑO ZENIA MARILU	892888 - 099554806	25	25	13	11	10	7	6	97
PATRIA NUEVA	G.SUR:COOP.PATRIA NVA:CALL.18 DE OCT.	ORDONEZ VALAREZO ARGENTINA E.	2898590	20	16	16	8	12	8	8	88
PEDRO LUCIO TRUJILLO	GUASMO SUR: COOP. U. BANERS. BQ.# 3: MZ. 6 SOLAR # 4	MARTILLO ALVARADO NARCISA DE JESUS	2502539 - 092267046	20	14	14	14	15	14	12	103
PELDAÑOS DE SUPERACION # 1	GUASMO CENTRAL: COOP. CARLOS CASTRO # 1: MZ. 1 SOLAR # 5	CHIRIGUAYO CAJAMARCA ANGELA IRENE	2506187 - 093964567	0	17	10	11	6	4	11	59
PERLA DEL GUASMO	G.SUR:COOP.GUAYAS Y QUIL MZ.28 S.2	CALERO BARRAGAN RAQUEL DEL R.	2489448	0	31	31	20	21	10	10	123
PITUSA # 1	CDLA.LOS TULIPANES:MZ.25 SOLAR 273	MEDRANO MUÑOZ PILAR AZUCENA	439130 - 555536	28	24	24	25	21	23	22	167
PROVINCIA DE ESMERALDAS	CDLA. CLAVELES MZA.18 V5 A LADO DE GUANGALA Y ESMERALDAD CHIQUITO	CLARA LORENA ANGULO DELGADO	2449418 - 088760771	0	12	13	13	17	13	13	81
RAQUEL CRESPO DE MINETTO	COOP. LUIS VARGAS TORRES: TULCAN Y JOSE DE LA CUADRA	ANA MENDOZA	2440252	0	13	13	10	9	6	1	52
RAYITO DE SOL	GUASMO SUR: COOP.UNION BANANEROS, BLQ.# 2 MZ. 29 SOLAR # 8 - 9	ELENA AMADA CORRAL MORA	501751 - 086511792	60	48	34	42	47	26	26	283
REDENCION DE JEHOVA	G.SUR COOP.U.DE BANANEROS BLQ.2 MZ. 2675 S.10	OLMEDO LUDIS	2318891 - 082876454	0	27	15	20	19	19	12	112
REY DE GLORIA	GUASMO SUR: COOP. MOLINA DE FRANK: MZ. 13 SOLAR # 5	IRENE AREVALO PAREDES	504046 - 091720217	19	26	26	25	20	15	20	151
RIQUEZAS DEL ECUADOR	GUASMO CENTRAL: COOP. FCO. DE ORELLANA: MZ.C SOLAR # 4	MORLAS RIZZO ESPERANZA CRISTINA	481160	0	16	16	31	7	13	7	90
ROSARIO GARCIA VDA.DE CEDEÑO	COOP. SANDINA # 3: MZ. 32 SOLAR # 2	CEDEÑO GARCIA MARIANA DEL CARMEN	500746 - 097295691	10	10	10	11	9	5	5	60
SAGRADAS ESCRITURAS	PARAISO DE LA FLOR, BLQ.6,MZ.314 S. 10	OSCAR COROZO	089064197	0	33	33	33	22	23	24	168

SAN FRANCISCO DE QUITO # 1	GUASMO SUR: COOP.U.BANANEROS, BLQ.# 1: MZ.33 SOLAR # 26	HUERTA JUSTILLO YOLANDA ADDELY	482951 - 097718482	35	30	24	26	29	25	29	198
SAN JUDAS TADEO	GUASMO SUR: COOP.BATALLA DE TARQUI: CALLE 27 DE FEBRERO MZ. 9 S. 1	CARMEN DEL PILAR AGUIRRE MENDOZA	861488	7	19	19	15	18	10	14	102
SAN PIO DE PIETRELCINA	GUASMO SUR: COOP.MARIUXI FEBRES CORDERO: 57 A-SUR E. Y GUSTAVO R. DE ICAZA	CABEZAS RODRIGUEZ WASHINGTON	2489152 - 089488103	33	33	38	14	24	22	18	182
SANTA JERUSALEN	GUASMO SUR: COOP. CESAR SANDINO # 4: MZ. 1 SOLAR # 11	VERA LAVAYEN PASTORA FELICITA	2480959	12	6	6	8	7	2	3	44
SANTA MARIA DE LOS ANGELES	AV. 25 DE JULIO, CDLA. SANTA MONICA	MELIDA CARLOTA VERA CABRERA	2493910 - 091614784	65	69	66	67	66	68	59	460
SANTO TOMAS DE AQUINO	GUASMO NORTE: COOP. CENTRO CIVICO: MZ. 2 SOLAR # 112	ALVARADO ALMEIDA VICTORIA ESPERANZA	2480348	30	30	27	23	32	33	27	202
SEGUIDORES DE JESUS	GUASMO SUR: COOP.DERECHOS DE LOS POBRES: MZ. 21 SOLAR # 10	BAILON LOPEZ CLARA INES	458849 - 091027431	0	22	22	22	22	23	22	133
SEGUNDO ESPEJO	G.SUR: FCO.DE ORELLANA: MZ.F, SOL.# 3	NIDIA ESPEJO ORTIZ	502680 - 089121926	28	25	25	25	16	15	15	149
SEMBRANDO EL FUTURO	PRE-COOP. ALAMEDA: MZ. G-2 SOLAR # 1	LANDI CRESPIEN JENNY AURORA	583074	14	14	14	11	21	6	10	90
SEÑOR DE LA JUSTICIA	GUASMO SUR: COOP. AMAZONAS # 2: MZ. 2 SOLAR # 27	PAREDES CORDERO MIRYAM PATRICIA	507658 - 097509937	30	30	35	13	19	15	24	166
SIMON COELLO FLORES	GUASMO CENTRAL COOP LOS ULTIMOS SEREMOS PRIMEROS MZ G VILLA 5	CELESTE COELLO ACUÑA	2449283 - 088989570	0	27	27	18	20	13	13	118
SINAI	G.SUR, COOP.UNION DE BANANEROS,BLQ. 3, MZ.26,S.19	GONZALEZ MOTATO LIGIA ZOILA	507478 - 093691833	0	13	13	8	10	10	11	65
SIXTA BOHORQUEZ DICAQ	GUASMO NORTE: COOP.CNTRQ. CIVICO: MZ. 118 SOLAR # 14	SANDRA MUÑOZ (E)	492455 - 090499703	0	32	32	32	22	17	0	135
TELMO MARQUINA	GUASMO SUR: COOP.BATALLA DE TARQUI AV. ABDON CALDERON BL. A MZ. 14 S. 7	JOSE URGILES	2488599 - 092436777	0	36	36	42	33	33	31	211

TIA ZOILITA	GUASMO NORTE: COOP.25 DE ENERO: MZ. 21 SOLAR # 39	JANET PATRICIA CEDEÑO ALVARADO	2491136	0	10	10	10	11	14	7	62
TIERRA DE ISRAEL (VESP)	G.SUR,COOP. JULIO POTES JIMENEZ MZ.27 S.5	NAVARRETE MORAN VICENTA DOMITILA	369046 - 080787511	0	20	20	19	19	25	18	121
TRES DE NOVIEMBRE	G.SUR:COOP.PROLET.C.TIERRA,CALLE 1RA.	REYES TOLEDO JOSE VICENTE	2485699	27	27	24	21	20	14	14	147
TRIUNFANTES EN CRISTO	FLORESTA 1 MZ. 82 V. 14-15	JOSE CUCALON	2497712	0	19	19	18	23	18	15	112
VICTOR SALOMON BARRERA CRUZ # 1	GUASMO CENTRAL: COOP. NUEVA GRANADA: MZ.12 SOLARES # 19, 20	BARRERA ARROYO VILMA RUTH	503039 - 080798293	15	22	13	16	31	13	16	126
VIRGEN DE GUADALUPE # 1	GUASMO CENTRAL:COOP. NUEVA GRANADA MZ.29 V.6	TOMALA PONGUILLO ARGENTINA EUGENIA	2498746 - 089165880	16	11	11	14	8	11	9	80
YANIRA MAITTE # 1 (VESP.)	G.CENTRL: COOP.CENTINELA D.GUASMO MZ.5 S.18	CAMPOVERDE TORRES YANIRA MAITTE	486982 - 092877983	0	41	35	25	29	34	20	184
YOLANDA TOBAR DE MORAN # 2	G.SUR:COOP.G.LIBRE BQ.1 MZ.2 S.11	MORAN TOBAR NARCISA DEL ROCIO	095324623	0	13	13	10	5	3	0	44
JARDIN MIS PRIMERA ILUSIONES	GUASMO SUR: CDLA. SAN FELIPE MZ. 3297 S. 11 A	CARMEN CORTEZ	089193359	15	0	0	0	0	0	0	15
NUEVA CIMIENTE	GUASMO SUR, UNION DE BANANEROS BLOQUE # 4 SOLAR 14	MARTHA AMARILIS NIEVES CEDEÑO	2507278	0	8	8	12	16	16	15	75
ESTUDIA POR TU ECUADOR	ABDON CALDERON 43 A DOS CUADRAS DE LA IGLESIA SANTA MARIANITA	MARIA LUISA GOMEZ BRONEZ	0	0	18	18	25	16	16	16	109
REY SALOMON	GUASMO CENTRAL: COOP. LOS ULTIMOS SEREMOS LOS PRIMEROS MZ. J S. 24-26	MIRVAN GRANADOS	086883731	20	20	20	20	20	20	15	135
24 DE DICIEMBRE	COOP. AUTORIDAD PORTUARIA MZ. 8 V. 2	LCDA. ANGELA JARAMILLO MARIDUEÑA	2333011	17	30	30	30	30	30	30	197
DOLORES SOPEÑA	CDLA. SOPEÑA, ZONA COMUNAL, FRENTE A LA IGLESIA	LCDA. BLANCA MARTÍNEZ DE CABRERA	2496945 2425281 - 082984136	0	40	40	40	40	40	40	240
SAGRADA FAMILIA	AV. 25 DE JULIO Y CALLEJÓN NICOLAS MESTANZA	LCDA. FATIMA KUFFO	2440070-2304099	84	92	83	91	89	87	78	604
MONSEÑOR NESTOR ASTUDILLO	SECTOR FERTISA: COOP. SANTIAGO ROLDOS AGUILERA MZ. 11 S. 1	TOMALA POZO CARLOS VICENTE	2483341 - 2503483	47	47	47	62	63	86	64	416

TOTAL	18.097
--------------	---------------

Elaborado por: Evelyn Rodriguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

ANEXO 4

FORMULARIO DE PREGUNTAS ENCUESTA-PRODUCTO DIRIGIDA A NIÑOS

Nombre:

Nombre de la escuela:

Fecha:

Hora:

Sexo: Hombre Mujer

Pregunta No. 1: ¿Cuáles son las golosinas que usted consume con frecuencia durante el recreo?

Frutas	
Lácteos	
Alimentos tipo Snacks	
Colas	
Cereales	
Comida	

Pregunta No. 2: ¿De ser snacks su comida favorita en el recreo, cual es el que más prefieres?

- | | |
|---------------|-------------|
| 1. Tostitos | 6. Doritos |
| 2. Nachos | 7. Cheetos |
| 3. Ryskos | 8. K-chitos |
| 4. Ronditos | |
| 5. Tornaditos | |

Pregunta No. 3: ¿En qué rango de edad te encuentras?

De 5 a 8 años	
De 8 a 10 años	
De 10 a 12 años	
De 12 o más años	

Pregunta No. 4: ¿Con que frecuencia compran este tipo de golosinas?

Una vez por día	
Más de una vez por día	

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

ANEXO 5

FORMULARIO DE PREGUNTAS ENCUESTA-PRODUCTO DIRIGIDA A DUEÑOS DE BAR

Nombre:

Nombre de la escuela:

Fecha:

Hora:

Pregunta No. 1: ¿Cuáles son las golosinas mayormente demandada por los niños?

Bocaditos de maíz
Gaseosa
Cereales
Embutidos
Salchipapas

Pregunta No. 2: ¿En su bar se permite vender todo tipo de comida chatarra?

Si

No

Pregunta No. 3: ¿Desearía usted que en su bar se expendan snacks que brinden beneficios nutricionales a los niños?

Si

No

ANEXO 6

Técnica ELISA

El procedimiento del análisis de la muestra se los describe en los siguientes pasos.

1. Se retiró un pocillo de mezclado marcado en rojo por cada muestra que se analizó más 4 pocillos marcados de color rojo para los controles y se colocó en el soporte de pocillo.
2. Se retiró la misma cantidad de pocillos con revestimiento de anticuerpo. Se Marcó un extremo de la tira reactiva con un '1' y se colocó en el soporte de pocillos con extremo marcado a la izquierda.
3. La cantidad de pocillos de anticuerpos que no se utilizó inmediatamente se guardó al paquete de papel metálico con desecante. Se selló el paquete de papel metálico y se colocó una cinta adhesiva para proteger el anticuerpo contra la luz y polvo.
4. Antes de proceder con el análisis, se mezcló cada reactivo agitándolo enérgicamente el frasco. Con una micropipeta de 100 ul de punta desechable, se colocó 100 µl de conjugado (frasco con etiqueta azul) en cada pocillo de mezclado. Se purgó la boquilla de la pipeta antes de transferir los 100 µl a los pocillos succionando el líquido en la boquilla y se regresó de nuevo al frasco una o dos veces. Después de haber colocado los 100 ul de conjugado en cada pocillo la punta se desechó.

5. Mediante una nueva punta de pipeta para cada uno, se transfirió 100 μ l de controles (frascos con etiqueta amarilla) y las muestras a los pocillos de mezclado marcados en rojo.
6. Con una pipeta de 12 canales, se mezcló el líquido de los pocillos piteándolo hacia arriba y hacia abajo tres veces. Se transfirió 100 μ l a los pocillos con revestimiento de anticuerpo. Se desechó los pocillos de mezclado marcados en rojo.
7. Se mezcló el líquido de los pocillos (5min, 25°C), se deslizó el soporte de pocillos hacia atrás y hacia adelante sobre una superficie plana, se tuvo cuidado en no salpicar la solución fuera de los pocillos.
8. Se invirtió los pocillos de anticuerpos para vaciar su contenido. Con una pipeta con agua destilada, se llenó cada uno de los tubos de anticuerpos y se invirtió el contenido. Se repitió este paso de lavado cinco veces. Se invirtió la gradilla con los pocillos sobre una toalla de papel hasta eliminar toda el agua de los pocillos.
9. Se utilizó la micropipeta para colocar 100 μ l de sustrato procedente del frasco con etiqueta verde en cada pocillo. Se mezcló el líquido de los pocillos (5min, 25°C) deslizando la gradilla con los pocillos hacia adelante y atrás sobre una superficie plana. Se tuvo cuidado en no salpicar la solución fuera de los pocillos.
10. Se transfirió 100 μ l del reactivo 'Red Stop' (frasco con etiqueta roja) en cada pocillo. Se mezcló deslizando la gradilla con los pocillos hacia adelante y atrás durante 15 segundos. Se tuvo precaución de no derramar solución de los pocillos.

11. Se pasó papel toalla por el fondo de los pocillos y se realizó la lectura con un lector de pocillo de 650 nm dentro de los 20 minutos siguientes a la adición de la solución de bloqueo roja. Se eliminó las burbujas de aire, porque podrían perjudicar los resultados analíticos. El lector lee los resultados de aflatoxina B1 en ppb.

Las extracciones fueron realizadas, acorde a las instrucciones del productor (Neogen Corp.) suministrada con los kits de prueba cuantitativo Veratox. 25 gr de la muestra de maíz pre tratado se mezclaron con 125 ml al 70% de una solución metanol-agua. Las muestras se agitaron en una licuadora industrial (5 min, 260 rpm) a temperatura ambiente y filtrada. El tiempo de contacto entre las muestras y el solvente fue de 45 minutos. El filtrado fue aplicado al análisis de ELISA.

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.

ANEXO 7

Tríptico (pág. 1)

RECOMENDACIONES

Los snacks, panes y los cereales se los debe guardar en orden y en envases secos y limpios.



No dejar las fundas de snacks abiertas por mucho tiempo y luego consumirlas o guardarlas.



Nunca permitir que este tipo de productos se llenen de humedad



Grupo conformado por:
Srta. Evelyn Rodríguez
Montesdeoca
Sr. Marcelo Vizcarra Bazán
Bajo la dirección de:
Msc Maria Fernanda Morales
Docente de la ESPOL Facultad
de la FIMCP.



*Escuela Superior Politécnica
del Ecuador*

**Hongos y
Micotoxinas en
bocaditos a base
de maíz**



Facultad de Ingeniería en
Mecánica y Ciencia de la
Producción

Elaborado por: Evelyn Rodríguez y Marcelo Vizcarra, 2012.



Consejos para pequeños consumidores

¿Es esta tu comida favorita en el recreo?



Los Snacks deben ser consumidos en buen estado.



DEBES EVITAR

Consumir un alimento que presente una estructura algodonosa de colores, ya que tienen **hongos**.



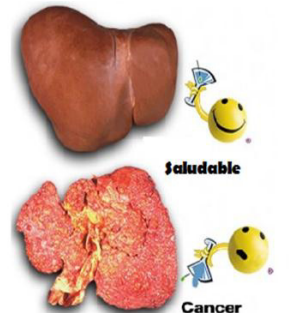
Los panes, los cereales, los snacks pueden poseer hongos, los cuales se presentan en varios colores.



A través de sustancias venenosas llamadas micotoxinas se puede producir deterioro en nuestro hígado.



Estas micotoxinas pueden producir enfermedades como el **cáncer** ohhhhhh noooo.



ANEXO 8

Curva de Calibración del equipo

Well	Abs	Conc	I
Strip: 1			
Carrier position 1			
A	C1 1.728	0.00	
	%A/Ao= 100.0		
B	C2 1.041	25.00	
	%A/Ao= 60.2		
C	C3 0.463	50.00	
	%A/Ao= 26.7		
D	C4 0.085	100.00	
	%A/Ao= 4.9		
E	1 0.947	29.07	
	%A/Ao= 54.7		
F	2 1.479	9.06	
	%A/Ao= 85.5		
G	3 0.231	80.74	
	%A/Ao= 13.3		
H	4 0.777	36.42	
	%A/Ao= 44.9		

