



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CON AFLATOXINAS EN
EL MAÍZ PELADO COCIDO (“MOTE PELADO”) Y EXPOSICIÓN
DIETARIA. CASO ESTUDIO: NABÓN -ECUADOR**

Tesis previa a la obtención del Título
de Bioquímico Farmacéutico

TESISTAS:

ANDREA ESTEFANIA HERNÁNDEZ AUCAPIÑA
FRANKLIN GEOVANNY LÓPEZ CABRERA

DIRECTORA:

DRA. SILVIA JOHANA ORTIZ ULLOA, Ph.D.

ASESORAS:

DRA. SILVANA DONOSO M., MSc.
BIOQ. FARM. GABRIELA ASTUDILLO R.

CUENCA- ECUADOR

2015



RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue evaluar el grado de contaminación con aflatoxinas en el maíz pelado cocido (mote pelado) y la exposición dietaria en la población del cantón rural Nabón, Ecuador. Se determinó el grado de contaminación con aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) en 40 muestras de mote pelado cocido que fueron provistas por productores del cantón Nabón. Ninguna de las muestras estuvo contaminada (sobre el límite de detección) y por lo tanto, no fue posible compararlo con los límites máximos permisibles de contaminación en las normas internacionales (ej. FDA) y las normas ecuatorianas. Adicionalmente se evaluó el riesgo de exposición dietaria mediante el método de estimación de punto, para lo cual se tomó como grado de contaminación referencial a la mitad del límite de detección de cada aflatoxina, y se lo relacionó con el consumo promedio de maíz de la población estudiada. El grado de exposición se evaluó mediante el concepto de margen de exposición (MOE). Todos los valores del MOE fueron mayores a 10.000 lo significa que el riesgo de la población estudiada puede considerarse insignificante desde el punto de vista de salud pública.

Palabras Calve: maíz, aflatoxina, dietaria



ABSTRACT

The aim of this thesis was to evaluate the degree of contamination with aflatoxin in cooked dehusked maize (“mote pelado”) and dietary exposure in a rural population from Nabón canton, Ecuador. The degree of contamination for aflatoxins B₁, B₂, G₁ and G₂ was determined by High Resolution Liquid Chromatography (HPLC) in 40 samples of cooked dehusked maize supplied by producers of the canton Nabón. None of the samples was contaminated (above the detection limit) and therefore could not be compared to the maximum permissible levels of contamination in international standards (eg. FDA) and the Ecuadorian regulations. In addition, the risk of dietary exposure was evaluated by the method of point estimation for which the reference value of contamination was the half of the detection limit of each aflatoxin, and it was related to the average consumption of maize of the studied population. The degree of exposure was assessed using the concept of margin of exposure (MOE). All MOE values were above 10,000 which means that the risk of the studied population can be considered negligible from the public health perspective.

Keywords: corn, aflatoxin, dietary



CONTENIDO

RESUMEN.....	2
ABSTRACT	3
LISTA DE TABLAS.....	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE ANEXOS	8
DEDICATORIA	13
AGRADECIMIENTOS.....	15
INTRODUCCIÓN.....	16
OBJETIVOS	17
1 MARCO TEÓRICO.....	18
1.1 El maíz.....	18
1.1.1 Características del maíz	18
1.1.2 Estructura y valor nutritivo del maíz	18
1.1.3 Inocuidad del maíz.....	19
1.2 Micotoxinas en el maíz	20
1.2.1 Aflatoxinas	20
1.4.1 Evaluación del riesgo de exposición dietaria.....	24
2 METODOLOGÍA	28
2.1 Tipo de estudio.....	28
2.2 Área de estudio	28
2.3 Muestreo y tamaño de la muestra.....	28
2.4 Evaluación del consumo del maíz.....	28
2.5 Análisis de aflatoxinas.....	29
2.5.1 Pre-tratamiento de las muestras	29
2.5.2 Equipos, materiales y reactivos.....	29
2.5.2.4 Preparación de la muestra	30
2.6 Evaluación de la exposición dietaria.....	33
2.7 Análisis de datos.....	34
3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
3.1 Características y descripción de la población estudiada	35
3.2 Preferencia de consumo de maíz.....	36



3.3 Análisis de micotoxinas39

3.4 Evaluación de la exposición dietaria.....40

4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES42

4.1 Conclusiones.....42

4.2 Recomendaciones.....43

REFERENCIAS44



LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Lugar de procedencia de las muestras de maíz.....	35
Tabla 2. Características de la Población.....	36
Tabla 3. Preferencia de consumo de maíz cocido	36
Tabla 4. Preparación del mote pelado cocido	37
Tabla 5. Resultados de la exposición dietaria a aflatoxinas según el método de estimación de punto.	41



LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Estructuras químicas de aflatoxinas: a) Aflatoxina B ₁ , b) Aflatoxina B ₂ , c) Aflatoxina G ₁ , d) Aflatoxina G ₂	21
Figura 2. Metabolismo de aflatoxinas.	23
Figura 3. Esquema de extracción de las aflatoxinas.....	33



LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Encuesta sobre preferencias de consumo de maíz	47
ANEXO 2. Contenido promedio de humedad y materia seca de las muestras de maíz pelado cocido, expresado en porcentaje y calculado a partir del análisis por triplicado.....	49
ANEXO 3. Consumo promedio de maíz pelado cocido, expresado en (kg)/PC (kg) / día, calculado del consumo diario y el peso	50



CLÁUSULAS DE DERECHO DE AUTOR



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Andrea Estefanía Hernández Aucapiña, autora de la tesis **“EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CON AFLATOXINAS EN EL MAÍZ PELADO COCIDO (“MOTE PELADO”) Y EXPOSICIÓN DIETARIA. CASO ESTUDIO: NABÓN -ECUADOR”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi Título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciera de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autora.

Cuenca, Septiembre de 2015

Andrea Estefanía Hernández Aucapiña
C. I.: 0105251540

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Franklin Geovanny López Cabrera, autor de la tesis **“EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CON AFLATOXINAS EN EL MAÍZ PELADO COCIDO (“MOTE PELADO”) Y EXPOSICIÓN DIETARIA. CASO ESTUDIO: NABÓN -ECUADOR”**, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi Título de Bioquímico Farmacéutico. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Cuenca, Septiembre de 2015

Franklin Geovanny López Cabrera
C. I.: 0104763040

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



CLÁUSULAS DE PROPIEDAD INTELECTUAL



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Andrea Estefanía Hernández Aucapiña, autora de la tesis **“EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CON AFLATOXINAS EN EL MAÍZ PELADO COCIDO (“MOTE PELADO”) Y EXPOSICIÓN DIETARIA. CASO ESTUDIO: NABÓN -ECUADOR”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, Septiembre de 2015

Andrea Estefanía Hernández Aucapiña
C. I.: 0105251540

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Franklin Geovanny López Cabrera, autor de la tesis “**EVALUACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN CON AFLATOXINAS EN EL MAÍZ PELADO COCIDO (“MOTE PELADO”) Y EXPOSICIÓN DIETARIA. CASO ESTUDIO: NABÓN -ECUADOR**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, Septiembre de 2015

Franklin Geovanny López Cabrera
C. I.: 0104763040

Cuenca Patrimonio Cultural de la Humanidad. Resolución de la UNESCO del 1 de diciembre de 1999

Av. 12 de Abril, Ciudadela Universitaria, Teléfono: 405 1000, Ext.: 1311, 1312, 1316

e-mail cdjbv@ucuenca.edu.ec casilla No. 1103

Cuenca - Ecuador



DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada a mis padres Iván y Narcisa:

Mi madre quien siempre estuvo a mi lado apoyándome en todo momento y con su esfuerzo y sacrificio cuantas noches ha velado junto a mí dándome ánimos para luchar hasta alcanzar mis metas.

Mi padre que con su ejemplo y consejos me ha enseñado que solo el esfuerzo y la constancia son el camino al triunfo.

A mi pequeño hijo Santiago que ha sido el motor que me ha impulsado a seguir adelante, con la esperanza de ser cada día mejor para que se sienta orgulloso de su madre.

A mis queridos abuelitos Inés y Florencio por el gran cariño que me han brindado y por tenerme siempre presente en sus oraciones.

A la memoria de mi abuelita Delia, porque siempre estuvo a mi lado brindándome su cariño y comprensión, que me enseñó a luchar por ser cada día mejor.

A mi hermano Fernando por mirarme como su ejemplo a seguir, y que comprenda que el esfuerzo y la constancia siempre tienen su recompensa.

Andrea



DEDICATORIA

A la memoria de mis abuelitos, quienes con su infinita amor y dulzura me enseñaron el camino del bien y la perseverancia.

A mí querida madre y mis hermanos por haberme apoyado a lo largo de toda mi carrera universitaria y siempre cuidarme cada uno a su manera.

A mi querida hermanita Samantha quien con sus pequeñas ocurrencias forma parte del motor que impulsa mi vida y llegar a donde he llegado.

A mi hermana Yesenia por haberme apoyado y estado junto a mí durante toda mi vida.

A mi compañera de tesis Andrea por haberme soportado y apoyado durante todo este tiempo de tesis más que una compañera una gran amiga.

Franklin



AGRADECIMIENTOS

“Si se siembra la semilla con fe y se cuida con perseverancia, sólo será cuestión de tiempo recoger sus frutos.”

Thomas Carlyle

Primero agradecemos a Dios por habernos dado la oportunidad de llegar hasta estas instancias de nuestras vidas y la fortaleza para seguir con ánimos el día a día durante toda la carrera.

Extendemos nuestros sinceros agradecimientos a:

A nuestras familias por su apoyo incondicional a lo largo de nuestra formación académica

Doctora Johana Ortiz Ulloa, PhD. por su compromiso, dedicación y orientación para el desarrollo de esta tesis.

Laboratorio de Alimentos y Nutrición del proyecto VLIR-IUC por permitirnos hacer uso de las instalaciones para los análisis correspondientes.

BQF. Gabriela Astudillo por su ayuda brindada para la realización de esta tesis

Nuestros maestros por habernos impartido sus conocimientos a lo largo de toda nuestra carrera universitaria.



INTRODUCCIÓN

El maíz es uno de los alimentos más consumidos en Ecuador, especialmente en provincias de la región Sierra. La manera más común de consumirla es en forma de maíz cocido, llamado también mote, ya sea con cáscara o pelado.

El maíz es un cereal propenso a la contaminación fúngica principalmente por cepas del género *Fusarium* y *Aspergillus* que son productores de micotoxinas que a más de ser un conflicto para el grano de maíz también existen repercusiones notables en la salud del consumidor.

Por lo tanto resulta importante evaluar el grado de exposición a micotoxinas mediante el consumo de maíz, específicamente en nuestra región, del consumo de mote pelado.

Para el estudio nos hemos planteado la siguiente hipótesis:

- El grado de contaminación promedio por aflatoxinas en el maíz pelado cocido en el cantón Nabón, Ecuador está por debajo de los límites máximos establecidos a nivel internacional para el maíz procesado destinado para el consumo humano.
- La exposición promedio a aflatoxinas a través del consumo de maíz cocido pelado de la población del cantón Nabón, Ecuador está por debajo de los límites tolerable de ingesta diaria.



OBJETIVOS

En esta tesis se formularon los siguientes objetivos:

Objetivo general:

Evaluar el grado de contaminación con aflatoxinas en el maíz pelado cocido (mote pelado) y la exposición dietaria en la población del cantón rural Nabón, Ecuador.

Objetivos específicos:

- Evaluar las preferencias en el consumo de maíz en la población del cantón Nabón mediante encuestas de consumo.
- Evaluar el nivel de consumo de mote pelado cocinado en la población del cantón Nabón mediante encuestas de consumo.
- Analizar el nivel de contaminación de aflatoxinas en el mote pelado cocido en el cantón Nabón.
- Evaluar, mediante el método determinístico, el riesgo de exposición de aflatoxinas a través del consumo de mote pelado cocido.

Este trabajo de tesis constituye un aporte al proyecto de investigación "Assessment of the traditional wood ash nixtamalization as detoxification strategy to reduce Fumonisin and Aflatoxin contamination of boiled maize ("mote pelado"), Nabon-Ecuador" financiado por la Fundación Internacional de Ciencia (IFS) desarrollado en el marco del proyecto VLIR-IUC "Alimentación, Nutrición y Salud" de la Universidad de Cuenca.



1 MARCO TEÓRICO

1.1 El maíz

1.1.1 Características del maíz

El maíz, al igual que el arroz y el trigo, es un cereal muy importante a nivel mundial por su utilidad en la alimentación humana y animal, y a nivel industrial. (Mendoza, 2014)

La producción de maíz en el Ecuador asciende a 1,36 millones de toneladas anuales, lo que conlleva a un promedio de aporte del 5,3% dentro del Producto Interno Bruto (PIB) agrícola. Del total de la producción nacional de maíz, el 57% está destinado a la avicultura, el 25% como exportación, el 6% al consumo animal y solo el 4 % va dirigido al consumo humano. Sin embargo, el maíz constituye uno de los principales alimentos de la Sierra y la Costa Ecuatoriana. El 73,4% de la producción nacional se concentra en las provincias del Guayas y Los Ríos; en la provincia de Loja con un total del 10,5%, seguida de las provincias de Bolívar y Cotopaxi con un 31,8% y 21,8% respectivamente. La provincia del Azuay también tiene importancia nacional pues su producción representa el 19,4% de la producción nacional. (Cutí, 2013) (Ministerio de Agricultura Ganadería Agua y Pesca, 2013)

1.1.2 Estructura y valor nutritivo del maíz

El grano del maíz está formado por tres partes fundamentales; germen (11%), endospermo (83%) y pericarpio (6%), cada una de ellas cumple funciones esenciales tanto para el desarrollo, conservación y aporte de nutrientes. (Cutí, 2013) El pericarpio, también llamado cáscara o salvado, es formado por hemicelulosa y celulosa lo cual forma la fibra cruda. El endospermo es rico en almidón (87%) y contiene un 8% de proteínas. El germen, también denominado embrión, se caracteriza por poseer un alto contenido de grasas (80%) y



proteínas (18,4%), a partir de este se desarrollará una nueva planta. (Benítez, 2006)

La parte fibrosa del maíz se encuentra en el salvado representado con un 82%, que incluye pentosa y celulosa, el grado de lignificación es muy bajo, por lo tanto el coeficiente de digestibilidad en comparación con los otros cereales es mayor. Además el maíz posee un buen contenido de grasa, particularmente ácidos grasos poliinsaturados de los cuales el ácido graso más representativo es el ácido linoleico (1,8%). (Fundacion Española para el Desarrollo de la Nutricion Animal, 2012)

El maíz presenta un déficit de la calidad de proteínas ya que existe una deficiencia en aminoácidos como lisina y triptófano. En cuanto en la parte nitrogenada del grano de maíz contiene una baja concentración de proteínas solubles (albuminas y globulinas 6%), y por lo contrario una alta concentración de proteínas de reserva (glutelina 40% y prolamina 54%). En cuanto a micronutrientes, el maíz posee una baja concentración en sodio, calcio y vitaminas hidrosolubles; así como también una considerable cantidad de fósforo con un 0,25%, que en su mayoría se encuentra como fitato, y una alta concentración de vitamina A y E, de xantofilas. (Mendoza, 2014)

1.1.3 Inocuidad del maíz

Los granos de maíz son susceptibles al ataque de microorganismos entre los que se destacan los hongos que aprovechan del alto contenido de carbohidratos del maíz. Factores como la humedad que posee el grano y la temperatura a la que se puede almacenar el grano, crean un ambiente propicio para que se dé el desarrollo de los hongos. (Fundacion Española para el Desarrollo de la Nutricion Animal, 2012)

El primer inóculo de hongos que atacan a los granos de maíz puede provenir de la planta, suelo de los cultivos, de máquinas cosechadoras, etc. Bajo determinadas condiciones de temperatura, humedad, y actividad acuosa, los mohos pueden desarrollarse en el grano y producir un deterioro visible en el



maíz. La contaminación fúngica no solo causa un daño físico al grano, sino también convertirse en un foco productor de toxinas (micotoxinas). (Latham, 2012)

1.2 Micotoxinas en el maíz

Las micotoxinas son metabolitos secundarios fúngicos producidos bajo ciertas condiciones climáticas, en diversos alimentos y desde la etapa pre-cosecha hasta el almacenamiento del producto. Las micotoxinas pueden llegar a ser tóxicas para el ser humano si la exposición (sea ésta a través de ingesta, inhalación o contacto) sobrepasa ciertas concentraciones que no soporta el organismo, produciendo un cuadro patológico llamada micotoxicosis. Este cuadro puede involucrar reacciones alérgicas, alteraciones reproductivas, alteraciones genéticas, carcinogénesis, cuadros nerviosos, deficiencias metabólicas, inmunosupresión y puede derivar en la muerte. (Ortiz D. S., 2014)

Se estima que alrededor del 25% de los cultivos de maíz en todo el mundo están contaminados con hongos generadores de micotoxinas. Los principales géneros que afectan al maíz son: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, y *Fusarium*. Dentro de estos géneros las especies más relevantes son: *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* que tiene la capacidad de producir aflatoxinas y fumonisinas, que constituyen las micotoxinas más relevantes en salud pública que pueden encontrarse en el maíz. (Villalobos, 2011)

1.2.1 Aflatoxinas

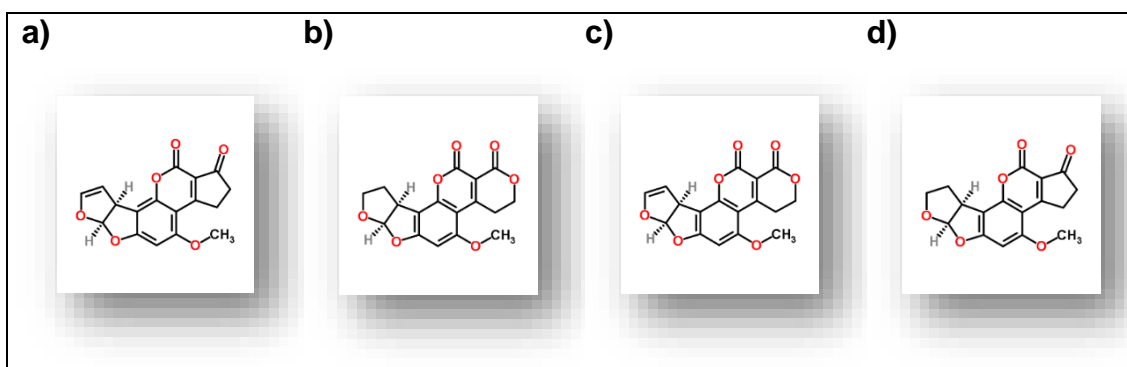
Las aflatoxinas son derivados difurano-cumarínicos que se originan a partir del metabolismo secundario de dos tipos de hongos, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Las aflatoxinas tiene la particularidad de ser inodoras, incoloras e insípidas, y una vez que estas se producen son

de difícil eliminación pues son resistentes a la degradación frente a la cocción. (Urrego Novoa, 2011)

Las principales aflatoxinas son las pertenecientes a los grupos B y G, las cuales se distinguen de acuerdo al color fluorescente que presentan frente a la luz ultravioleta. A su vez estas se subdividen en B₁ y B₂ que son producidas por las cepas de *Aspergillus flavus*, y *Aspergillus parasiticus*; y las G₁ y G₂ que son producidas solamente por las cepas de *Aspergillus parasiticus*. (Urrego Novoa, 2011) Las condiciones óptimas para una buena proliferación de las cepas productoras de aflatoxinas incluyen una actividad de agua elevada (0,82-0,99) a un amplio rango de temperatura (10 a 43°C). (Presello, 2009)

La AFB₁ es la más prevalente y más tóxica, en cambio las aflatoxinas B₂, G₁ y G₂ son menos frecuentes a tal punto que suelen ser nulas en ausencia de AFB₁. En general, las aflatoxinas del tipo 1 son más tóxicas que las de tipo 2. Las aflatoxinas se han relacionado con toxicidad aguda y crónica, siendo hepatotóxicas, teratogénicas y cancerígenas. La AFB₁ ha sido clasificada según la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) en el grupo 1 como cancerígeno humano. (Presello, 2009)

Figura 1 Estructuras químicas de aflatoxinas: **a)** Aflatoxina B1, **b)** Aflatoxina B2, **c)** Aflatoxina G1, **d)** Aflatoxina G2.



Fuente: (Royal Society of Chemistry, 2015)
(<http://www.chemspider.com/Search.aspx?q=aflatoxins>)



1.2.1.1 Toxicocinética de aflatoxinas

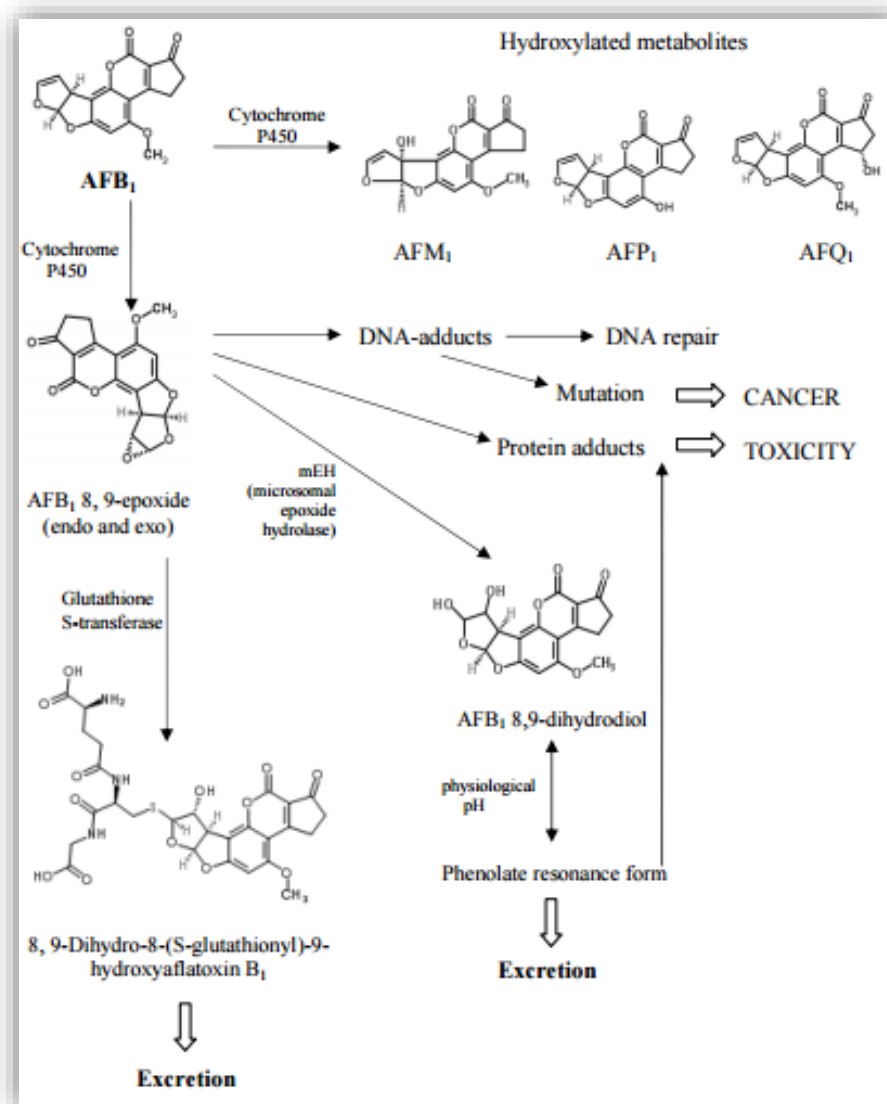
Las aflatoxinas poseen alta liposolubilidad por esta razón son absorbidas en el tracto gastro-intestinal para luego ser metabolizada por el hígado donde actúan las enzimas microsomales del citocromo p450. Durante la metabolización de la AFB₁, se forman epóxidos (AFB₁ – epóxido), que posee dos formas, endo y exo. Estas dos formas son los responsables de la toxicidad y del mecanismo de carcinogenicidad al unirse a las proteínas y al ADN. Además, como producto del metabolismo de la AFB₁, se pueden formar compuestos menos tóxicos como la AFQ₁, aflatoxicol, y aflatoxina M₁. (Urrego Novoa, 2011)

La formación de cualquiera de estos compuestos depende del tipo de enzima que actué sobre la aflatoxina. Particularmente, la acción de las enzimas CYP1A2 y CYP3A4 sobre la aflatoxina B₁ da como resultado compuestos epóxidos que se unirán al ADN mediante la formación de un puente covalente con el nitrógeno 7 de los residuos de guanina del ADN. Esto provoca una mutación en las células somáticas en el que se cambia una guanina por timina, lo que puede conllevar a una apoptosis. (Urrego Novoa, 2011, Villalobos, 2011)

Esta forma de epóxido, también puede unirse al glutatión mediante la enzima glutatión transferasa, formando así un complejo que puede ser eliminado a través de la excreción en la orina o la heces. También, a partir de dicho epóxido se pueden formar derivados hidroxilados que también son eliminados por las vías anteriormente descritas. (Urrego Novoa, 2011)

Finalmente, los derivados metabolizados de las aflatoxinas son eliminadas, lo que es dependiente de la cantidad de las aflatoxinas absorbidas. Aproximadamente el 80% de las B₁ son eliminadas en un tiempo de 7 horas luego de la ingestión. (Villalobos, 2011)

Figura 2.Metabolismo de aflatoxinas.



Fuente: (Ortiz J. , 2014)

1.3 Regulaciones de aflatoxinas para el maíz

Según la FDA (Food and Drug Administration), admite un límite máximo de la suma de todas las AFB₁, AFB₂, AFG₁ y AFG₂ en alimentos de consumo humano de 20µg/kg, y un límite de 2µg/kg para AFB₁. En el Ecuador, según la norma NTE INEN 2051, se admite un límite máximo



de 20µg/kg de aflatoxinas para alimentos de consumo humano. (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2014, FAO, 2014)

1.4 Exposición dietaria a micotoxinas

Las enfermedades transmitidas por los alimentos, como la micotoxicosis, son cada vez más frecuentes, siendo un problema tanto para la salud pública como para la economía, por lo que la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO), plantearon un sistema de análisis de riesgos para de esta manera garantizar la inocuidad de los alimentos y su aptitud para el consumo a más de mejorar la salud pública. La evaluación de la exposición dietaria es indispensable para la cuantificación del riesgo. (Batista, 2007;OMS, 2005;Castellanos, 2004;FAO/OMS, 2011)

1.4.1 Evaluación del riesgo de exposición dietaria

Existen diferentes métodos para evaluar riesgos aplicados a los problemas relacionados a la inocuidad de alimentos. La utilización de estos métodos varía según el tipo de peligro existente (que puede ser químico, físico o biológico), el tiempo, recursos disponibles y el escenario de inocuidad de los alimentos. (Ortiz J. , 2014) (Torres, 2012)

Existen 4 componentes básicos para la evaluación de riesgos los cuales consisten en: a) Identificación de los peligros, b) Caracterización de los peligros, c) Evaluación de la exposición, y d) Caracterización del riesgo. (FAO/OMS, 2009; World Health Organization (WHO) ,2009)

1.4.1.1 Identificación de los peligros

Consiste en identificar el peligro que es motivo de preocupación y determinar los efectos conocidos o potenciales que representen un



peligro para la salud. (World Health Organization (WHO) 2009;FAO/OMS, 2009)

1.4.1.2 Caracterización de los peligros

En esta etapa se describe la procedencia y alcance de los efectos negativos de agentes biológicos, químicos y físicos que pueden estar presentes en los alimentos. Para esto se realizan estudios de toxicidad animal, estudios epidemiológicos de exposición humana con lo que se establece una relación dosis-respuesta entre los diferentes niveles de exposición. (World Health Organization (WHO), 2009)

La caracterización del riesgo guarda afinidad con la evaluación de una ingesta diaria admisible (IDA) y la ingesta diaria tolerable (IDT) de los agentes nocivos por las personas. Para los productos químicos no carcinogénicos, el IDT corresponde al nivel de ingesta que pueda ser ingerido diariamente, sin producir riesgos para la salud. Para poder aplicar estos estudios a seres humanos, la dosis umbral o nivel en el que no se observa ningún efecto en un estudio en animales (NOAEL) se divide para un factor de seguridad de 100, que se obtiene de dividir la dosis establecida para el animal por 10. En casos especiales, como por ejemplo para mujeres embarazadas y niños, el IDT debe dividirse nuevamente para 10. (Ortiz J. , 2014)

Para los productos químicos cancerígenos, no existen límites admisibles de exposición, sino que se utilizan otros parámetros de comparación como el margen de exposición. (FAO/OMS, 2009)

1.4.1.3 Evaluación a la exposición del riesgo alimentario

Durante esta etapa se realiza una evaluación cualitativa y/o cuantitativa del riesgo de la población al consumir determinados alimentos. El riesgo puede proceder desde la materia prima hasta cuando llega al



consumidor; es decir se evalúa toda la cadena de producción. (Batista, 2007; Microbiología, 2009)

El método cualitativo consiste en la evaluación descriptiva o categórica de los resultados de la exposición, por ejemplo se puede hablar de un nivel medio, alto o bajo. Cuando se realiza una evaluación mediante el método cuantitativo los resultados se expresan en forma numérica. Existen también casos intermedios en los cuales la evaluación es semicuantitativa en la que se describe los pasos realizados para obtener dichos resultados y estos se expresan en forma de clasificación de riesgos. (FAO/OMS, 2009)

1.4.1.3.1 Análisis determinístico

El análisis determinístico (o estimación de punto) consiste en el planteamiento en el que se usan valores definidos numéricos para todos los pasos de la evaluación de riesgos, por ejemplo se usa la media o el porcentaje medido de los datos sujetos a medición. Este método por lo general se utiliza para determinación de riesgos químicos tomando un dato promedio del nivel de contaminación y asociándolo con el nivel promedio de ingesta de la población del determinado alimento potencialmente contaminado. (FAO/OMS, 2009)

El análisis determinístico se diferencia del análisis probabilístico en que el segundo se basa en la generación de una probabilidad de eventos individuales del fenómeno en estudio mediante determinados modelos matemáticos, obteniendo una distribución de riesgo que permite establecer una comparación directa entre las distintas estrategias utilizadas de intervención y los resultados en los riesgos. Los resultados del modelo probabilístico son más reales que la del modelo determinístico, sin embargo su desventaja es que su aplicación resulta más difícil. (FAO/OMS, 2009)



1.4.1.4 Caracterización de riesgo

Para evaluar un riesgo se utiliza un enfoque al margen de exposición (MOE) con el fin de considerar las posibles preocupaciones alimentarias que puedan darse en la seguridad alimentaria por la presencia de sustancias cancerígenas o genotóxicas. Convencionalmente, un MOE para la exposición oral mayor o igual a 10.000 es considerado como de prioridad baja para los sistemas de salud pública. El MOE se calcula dividiendo el BMDL₁₀ (dosis que resulta en un predeterminado nivel de respuesta adversa: dosis a la que es probable que sea menor que 10 % de la incidencia de un efecto) para la exposición estimada de la micotoxina en los seres humanos. Para el caso específico de las aflatoxinas, BMDL₁₀ AFM1 corresponde al efecto de hepatocarcinoma en animales de experimentación (170 ng kg⁻¹ de peso corporal por día). (Ortiz D. S., 2014)



2 METODOLOGÍA

2.1 Tipo de estudio

El trabajo de tesis propuesto fue cuantitativo, analítico, descriptivo de corte transversal que incluyó la evaluación del grado de contaminación de mote pelado cocido con aflatoxinas y la exposición dietaria de la población.

2.2 Área de estudio

El área de estudio estuvo conformada por las comunidades del cantón rural Nabón, provincia del Azuay al sur del Ecuador.

2.3 Muestreo y tamaño de la muestra

Para este estudio se aplicó un muestreo no probabilístico por conveniencia, ya que para el análisis se incluyeron a los pequeños productores que estaban dispuestos en facilitar las muestras. En total, se analizaron 40 muestras provenientes de pequeños productores de maíz provenientes de las distintas comunidades del cantón Nabón. De cada productor se recogieron 3 kg de muestra de maíz cocido, previamente pelado con ceniza.

2.4 Evaluación del consumo del maíz

Esta etapa se realizó mediante la aplicación de encuesta de consumo (recordatorios de 24 horas) a cada uno de los productores de dónde provinieron las muestras (Anexo 1).

El recordatorio de 24 horas consiste en recolectar la información detallada de todo lo consumido el día anterior a la encuesta. En este estudio sólo se indagó sobre el consumo de maíz (en cualquier forma). La cantidad consumida se cuantificó mediante la comparación con kits de utensilios estandarizados por el Proyecto VLIR-IUC "Alimentación, Nutrición y Salud", indagando sobre el tamaño de la porción y cuántas porciones consumió. Considerando el consumo relativamente bajo de



mote pelado en la población estudiada, se calculó el consumo de maíz en general expresado en gramos por día.

Además, con la finalidad de realizar la evaluación de la exposición dietaria a aflatoxinas, se expresó el consumo del maíz como kg de maíz consumido por peso corporal del individuo (en kg) al día. Para esto, se tomaron los datos del peso corporal de los participantes utilizando una balanza SECA digital de piso, siguiendo el protocolo para medición antropométrica estandarizado por el Proyecto VLIR-IUC “Alimentación, Nutrición y Salud”.

2.5 Análisis de aflatoxinas

2.5.1 Pre-tratamiento de las muestras

Las muestras de maíz pelado cocido se recolectaron en fundas de polietileno con sellado hermético y fueron almacenadas a temperatura de congelación hasta el procesamiento de la muestra para el análisis. Las muestras fueron descongeladas, y trituradas.

Se determinó la humedad de cada muestra triturada mediante el método de desecación (gravimétrico) para una posterior corrección, ya que el análisis de aflatoxinas se hizo en materia seca. Para esto, las muestras se trituraron y se colocaron en un vaso de precipitación para someterla a secado en una estufa a una temperatura de 70°C por 3 horas.

2.5.2 Equipos, materiales y reactivos

Para el desarrollo de esta tesis, tanto los equipos como los reactivos y la mayoría de los materiales fueron provistos por el Proyecto IFS Grant E/5398-1 y el Proyecto VLIR-IUC “Alimentación, Nutrición y Salud”, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Cuenca.

2.5.2.1 Equipos

- HPLC con detector de fluorescencia (Agilent 1200, US)
- Generador de nitrógeno (Domnick Hunter, US).
- Sistema de extracción al vacío (Waters, US)



- Centrífuga (Hettich, Alemania)
- Homogeneizador horizontal (VWR, US)
- Purificador de agua (Barnstead, US)
- Micropipeta (Brand, Alemania)
- Micropipeta (Boeco, Alemamia)
- Baño ultrasónico (Branson, US)

2.5.2.2 Materiales e insumos

- Papel filtro Whatman No. 4
- Filtros de membrana de fluoruro de polivinildeno (PVDF) (0.45 μm x 13 mm)
- Cartuchos para extracción de fase sólida de inmunoafinidad (IAC) para aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂
- Material de vidrio
- Papel aluminio
- Microtubos

2.5.2.3 Reactivos y estándares

- Metanol (MeOH)
- Acetonitrilo (MeCN)
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Solución buffer de fosfato (PBS)
- Hexano
- Ácido trifluoroacético
- Ácido acético glacial (HAc)
- Estándares de extractos sólidos puros de aflatoxinas (AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂)

2.5.2.4 Preparación de la muestra

a) Extracción

Se pesó 20g de la muestra de maíz previamente seca dentro de una botella de vidrio tapa rosca y se añadió 40 mL de una mezcla



metanol/agua (80:20, v/v). Se agitó vigorosamente por un minuto y se adicionó 2 g. de NaCl. Nuevamente se agitó por un minuto. Seguidamente, la mezcla se colocó en el agitador horizontal por 10 minutos a 300 rpm. Una vez transcurrido el tiempo, se filtró la mezcla utilizando un papel filtro Whatman No.4 para finalmente centrifugar el filtrado por 10 minutos a 5000 rpm.

b) Lavado

Se tomaron 5mL del sobrenadante y se añadió 25mL de PBS (pH de 7.4). La muestra diluida fue purificada (clean-up) por medio de cartuchos de inmunoafinidad (IAC), los cuales fueron previamente acondicionados con 1 mL de PBS. A continuación se hizo pasar el extracto diluido a través del cartucho a una velocidad de flujo de 1-2 mL/min. Se realizó un lavado posterior con 10 mL PBS seguido de 10 mL de agua a una velocidad de flujo de 5 mL/min. Se aplicó una ligera corriente de vacío en el cartucho (10 segundos). Finalmente las aflatoxinas fueron eluidas del cartucho con 1 mL de metanol en 2 pasos de 0.5 mL cada uno dejando en contacto el metanol con el cartucho por 1 minuto antes de la elución. Finalmente, se hizo pasar por el cartucho 0.5 mL de agua que se recolectaron conjuntamente con el eluido. El extracto final (1.5 mL) fue evaporado a sequedad bajo una corriente de nitrógeno.

c) Derivatización

El extracto puro y seco fue redissuelto con 200 μ L de hexano y se añadió 50 μ L de ácido trifluoroacético (TFA). La mezcla fue homogeneizada usando un vortex por 30 segundos. Finalmente el extracto derivatizado fue evaporado a sequedad bajo una corriente de nitrógeno.

2.5.2.5 Análisis por HPLC

Para el análisis de aflatoxinas se utilizó el método estandarizado del laboratorio del Proyecto VLIR-IUC "Alimentación, Nutrición y Salud". El



residuo seco fue reconstituido con 1000 μL de una mezcla MeCN/ H_2O (1:1, v/v) y homogeneizado en un baño ultrasónico a 30°C por 10 minutos. El extracto reconstituido fue filtrado, mediante la utilización de una jeringuilla de 5ml con un filtro de $0.45 \mu\text{m}$ y colocado en un vial de HPLC. Finalmente, en el HPLC se inyectó un volumen de $5 \mu\text{L}$. La separación cromatográfica se realizó en una columna ZORBAX Eclipse Plus C_{18} (250 mm x 4.6 mm x $5 \mu\text{m}$ tamaño de poro). La temperatura de la columna para el análisis fue 40°C . La separación se consiguió con una elución de tipo gradiente a una velocidad de flujo de $1,2 \text{ mL min}^{-1}$ usando las siguientes fases móviles: A) mezcla de $\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}/\text{HAc}$ (89:10:1, v/v/v); B) MeCN y C) MeOH. Las aflatoxinas fueron detectadas a una longitud de onda de 365 nm de excitación y 455 nm de emisión para AFG₂ y AFB₂ y 365 nm de excitación y 432 nm de emisión para AFG₁ y AFB₁.

2.5.2.6 Expresión de resultados de aflatoxinas

Para establecer el nivel de contaminación con aflatoxinas del maíz pelado cocido se utilizó la siguiente ecuación:

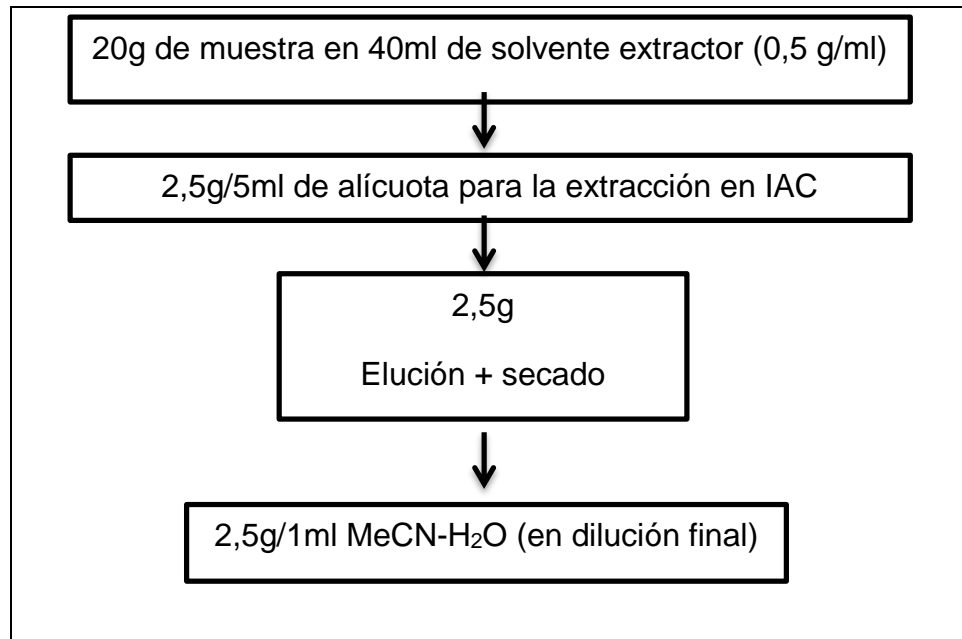
$$C \text{ (ng/g)} = \frac{C_i \text{ (ng/mL)}}{g \text{ (g/mL)}}$$

C= concentración de aflatoxina que se encuentra en la muestra analizada expresada en ng/g

C_1 = concentración de aflatoxina que se encuentra en la alícuota inyectada, calculada por interpolación de la curva de calibración.

g = gramos de muestra por mililitro en la inyección, que fue un valor constante de 2.5 gramos, obtenido mediante el cálculo a partir del siguiente esquema de preparación de la muestra:

Figura 3. Esquema de extracción de las aflatoxinas



2.6 Evaluación de la exposición dietaria

La evaluación de la exposición dietaria se realizó mediante el método determinístico que consistió en la multiplicación del valor promedio de la concentración de aflatoxinas (expresado en μg aflatoxina/kg de alimento) por el valor promedio del consumo de maíz (expresado en kg de alimento/kg peso corporal/día). Así la exposición dietaria se expresa en μg aflatoxina/kg peso corporal/día. En el caso de que la prevalencia de contaminación sea muy baja (o nula como en este trabajo), se decidió optar por el escenario de que el grado de contaminación era equivalente a la mitad de los valores del límite de detección del método analítico para cada una de las aflatoxinas (0.5 LOD).



2.7 Análisis de datos

Los datos de las encuestas fueron ingresados por duplicado en el programa EpiData versión 3.1 y fueron analizados en el programa Stata versión 13.0. Los cromatogramas fueron evaluados en el software del equipo (Chemstation, Agilent). Los cálculos de concentraciones, consumo y el análisis determinístico fueron realizados en el programa Excel de Windows 8.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Características y descripción de la población estudiada

En este estudio se tomaron 40 muestras de maíz pelado cocido, procedentes de pequeños productores de maíz provenientes de distintas comunidades del Cantón Nabón (Tabla 1), a quienes se les aplicó también encuestas de consumo para evaluar la cantidad consumida de maíz y sus preferencias.

Tabla 1. Lugar de procedencia de las muestras de maíz.

Parroquia de Nabón	% del número total de muestras (n=40)
Yacudel	40
Progreso	12.5
Chayaurco	7.5
Buenavista	5
Nabón	5
Hermano Miguel	5
La Paz	2.5
La Ramada	2.5
Buravalle	2.5
Pucallpa	2.5
Rañas	2.5
Romerillo	2.5
Rosas	2.5
Tamboloma	2.5
Trancapata	2.5
Bellavista-Tamboloma	2.5

La mayor parte de las muestras de maíz recolectadas provinieron de la Parroquia Yacudel (40%), seguida del sector el Progreso (12,5%). El alto porcentaje presentado de estas zonas se debió a la mayor colaboración de la población de estos sectores y a su coordinación.

Para caracterizar a la población, también se tomaron algunos datos demográficos de los pequeños productores de maíz que participaron en el estudio (Tabla 2).

Tabla 2. Características de la Población.

Característica	Media \pm	desv. estándar	Mínimo	Máximo
Edad (años)	49	14.8	18	75
Peso (kg)	61.6	10.3	43.5	88.8
Sexo:				
Hombres	20.5 %			
Mujeres	79.5 %			

La edad promedio de los pequeños productores de maíz que formaron parte de este estudio fue 49 años, mientras que el peso promedio fue 61.6 kg. De la población estudiada, la mayoría fueron mujeres (79,5%).

3.2 Preferencia de consumo de maíz

Mediante encuestas se evaluaron las preferencias de consumo de mote cocido (Tabla 3) y sobre la forma de preparación del mote cocido pelado (Tabla 4).

Tabla 3. Preferencia de consumo de maíz cocido

Variable	% de Preferencia (n=39)
Mote con cáscara	94.8
Mote pelado	2.6
Otros (choclo en mazorca)	2.6

Tabla 4. Preparación del mote pelado cocido

Característica estudiada		% Prevalencia (n=39)
Sustancia de preferencia para el pelado del maíz	Ceniza	75
	Cal	5
	Ceniza y cal	3
	Otro	1
Razón prefiere este tipo de mote pelado	Sabor, textura, salud y tradición	54
	Rapidez	14
	Sabor	8
	Salud	6
	Tradicición	6
	Economía y tradición	6
	Tiempo y menos trabajo	3
	La cal no es producto propio	3
	Sabor, salud y dura más tiempo	3
Tiempo de secado después de haber pelado el mote	2 días	40
	3 días	27
	1 día	7
	5 días	7
	No deja secar	7
	4 días	3
	Lava, hierve, cocina	3
	Remojo y cocina	3
	Lava y cocina	3
Tiempo de remojo antes de cocinar el mote pelado seco	No deja en remojo	40
	12 horas	27
	1/2 hora	3
	1 hora	3
	2 horas	3
	3 horas	3
	Lavado algunas veces	3
	Cambio de agua	3
	Lava y cocina	3
Tipo de olla para cocinar el mote pelado	Barro	60
	Aluminio	23
	Aluminio y barro	13
	Barro vidriado	3
Cantidad de agua para cocinar 1 galón de mote pelado	10.1 ± 5.6 (Mín. 3.2 – Máx. 18)	
Tiempo de cocción para hacer mote pelado (horas)	3.9 ± 2.8 (Mín. 1 – Máx. 9)	



En base a la encuesta realizada, la mayoría de la población estudiada prefería consumir mote con cáscara (94%) mencionando que el sabor es mejor, que es una tradición y que además es beneficioso para la salud. En cuanto al consumo de mote cocido pelado solamente lo hacían en ocasiones especiales debido al tiempo que tomaba su preparación. Cuando los participantes consumen mote pelado (2.6%), un 75% prefiere el pelado del maíz utilizando ceniza. Las razones por las cuales utilizan a la ceniza como la principal sustancia para el pelado del maíz es debido al mejor sabor que presenta el mote, que al obtenerse de una manera natural es una sustancia menos nociva para la salud, y por la tradición que ellos que han heredado de sus ancestros (54% en global).

Para la preparación del mote pelado cocido, la pequeña población encuestada deja secar el maíz después de pelarlo alrededor de 2 días (40%), una vez que el maíz se secura una pequeña parte de la población (27%), dejaba el maíz en remojo, caso contrario que sucedía con una gran parte de la población (43%), que procedía a cocinarlo directamente sin previo remojo. En promedio, la población refirió utilizar alrededor de 10,1 litros de agua para la cocción de 1 galón de mote pelado (2,27 kilo gramos) pudiendo llegar a utilizarse hasta un máximo de 18 litros. El promedio del tiempo utilizado para la cocción fue de 3,9 horas, pudiendo llegar a las 9 horas como máximo y un mínimo de 1 hora, lo que dependerá de la exposición al calor y del tipo de olla. Particularmente, un 60% de la población utiliza ollas de barro para la cocción haciendo referencia a que el sabor del mote cocido en este tipo de olla es mejor que en las otras opciones.

En cuanto a la encuesta de ingesta de maíz, la cuantificación de la cantidad consumida se realizó utilizando un recordatorio de 24 horas con el soporte de kits de utensilios estandarizados para la estimación de las porciones. El consumo fue muy variable, con un promedio de 232 ± 163 gramos (Mín:0 y Máx: 630 gramos); y en general las porciones consumidas fueron de 70 gramos (46 %).



3.3 Análisis de micotoxinas

En total, se analizaron 40 muestras de maíz pelado cocido (mote pelado) para determinar el grado de contaminación por aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂. Los resultados se realizaron en muestra seca y se corrigieron al final con la valoración individual del contenido de humedad de cada muestra ($64.3 \pm 1.2 \%$) (Anexo 2). Luego de la mencionada corrección, ninguna de las muestras presentó contaminación por aflatoxinas en base a los siguientes límites de detección ($\mu\text{g}/\text{kg}$) del método analítico:

0.37 para AFG₂, 0.25 para AFG₁, 0.27 para AFB₂, 0.34 para AFB₁. Estos valores forman parte de la estandarización del método analítico y fueron provistos por el Laboratorio del Proyecto VLIR-IUC "Alimentación, Nutrición y Salud". Por lo tanto, ninguna de las muestras presentó un nivel de contaminación superior a los límites establecidos para el consumo humano.

En la literatura científica no existen estudios similares que se realicen en maíz cocido pelado listo para el consumo humano. Sin embargo, existen estudios en maíz sin cocción a nivel del Ecuador y países cercanos en los que se han encontrado grados de contaminación relativamente bajos. En uno de estos estudios se reportó un valor promedio de $3\mu\text{g}/\text{kg}$ (16,6%) de AFB₁ y un valor menor a $10\mu\text{g}/\text{kg}$ (16.7%) por aflatoxinas totales en maíz blanco, para Colombia. (Martínez, 2013). En el Ecuador, específicamente en un estudio realizado en Quito se encontraron valores de $0,68\mu\text{g}/\text{kg}$ en harina de maíz, para AFB₁, (Vallejo, 2012), ; mientras que en muestras de bocaditos de maíz en Guayaquil obtuvieron valores menores a $2\mu\text{g}/\text{kg}$ de AFB₁. (Morales, 2013)



3.4 Evaluación de la exposición dietaria

La evaluación de la exposición dietaria se realizó mediante el método determinístico o estimación de punto, en el que se tomaron los valores de la media, máximo y mínimo del consumo de maíz (en kg/kg peso corporal/día) para así conocer la exposición media y sus límites superior e inferior, respectivamente. Estos valores fueron multiplicados por el grado de contaminación de aflatoxinas en las muestras analizadas. Considerando que la prevalencia nula de contaminación, se decidió tomar como nivel de contaminación a la mitad de los valores del límite de detección para cada una de las aflatoxinas (0.5 LOD). Estos cálculos se presentan en la tabla 5.

El grado del riesgo de exposición resultante se evaluó mediante el margen de exposición (MOE), cuyos resultados también se muestran en la tabla 5. Todos los valores del MOE fueron mayores a 10.000, incluso aquellos calculados en base al consumo máximo que es considerado como el peor escenario de exposición. Por lo tanto, la exposición a aflatoxinas mediante el consumo de maíz cocido pelado puede considerarse de baja importancia desde el punto de vista de salud pública.

Con relación a la exposición dietaria no existen estudios similares en la literatura científica dentro de Latino América y en especial de Ecuador, por lo que no es posible realizar una comparación de dicho tema.

Sin embargo, es necesario considerar que la mayoría de la población estudiada refirió que prefiere consumir maíz sin pelar, el cual puede presentar concentraciones más altas de aflatoxinas (Ochoa & Molina, 2015)



Tabla 5. Resultados de la exposición dietaría a aflatoxinas según el método de estimación de punto.

	Consumo de maíz (kg/kg peso corporal/día)	¹ Contaminación (ug/kg) = 0.5 LOD	Exposición (kg/kg peso corporal/día)				Margen de exposición			
			AFG ₂	AFG ₁	AFB ₂	AFB ₁	AFG ₂	AFG ₁	AFB ₂	AFB ₁
Media	0.0042	x 0.5LOD	0.00078	0.00052	0.00057	0.00072	218806	328953	300639	235255
Mínimo	0.0006	x 0.5LOD	0.00011	0.00007	0.00008	0.00010	1520356	2285705	2088966	1634655
Máximo	0.0119	x 0.5LOD	0.00219	0.00146	0.00159	0.00204	77663	116759	106709	83502

¹ 0.5LOD= grado de contaminación por aflatoxinas

AFG₂ (0,18)g

AFG₁ (0,12)

AFB₂ (0,13)

AFB₁ (0,17)



4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

En el presente estudio se realizó la evaluación de la contaminación con aflatoxinas en el maíz pelado cocido (mote pelado), para lo cual se realizó la detección de dichas toxinas en las muestras analizadas mediante el método de HPLC, obteniendo una prevalencia nula y por lo tanto no fue posible compararlos con los límites máximos permisibles establecidos por la FDA y las Normas INEN, para alimentos de consumo humano.

En este trabajo también se realizó la evaluación de la exposición dietaria a la que ese encuentra sometida la pequeña población estudiada, al consumir mote pelado cocido. Según los resultados obtenidos, el grado de exposición puede considerarse bajo y de poca importancia desde el punto de vista de salud pública, lo cual es muy positivo para la población. Cabe notar que la mayoría de la población estudiada suele consumir mote con cáscara, así que el riesgo de exposición podría ser mayor, considerando la potencial carga de micotoxinas en la cáscara del maíz.



4.2 Recomendaciones

Se recomienda realizar estudios complementarios que permitan reunir más información para poder regresar a las comunidades con información práctica que puedan adaptarla para mejorar la inocuidad de su dieta. Particularmente, se recomienda realizar estudios posteriores evaluando el riesgo de exposición a aflatoxinas u otras toxinas presentes en el maíz sin pelar debido a su potencial presencia en la cáscara.



REFERENCIAS

- Batista, I. A. (2007). Evaluación de inocuidad alimentaria de organismos genéticamente modificados. *International life Sciences Institute*.
- Benítez, C. a. (2006). El maíz: origen, composición química y morfología. En C. a. Benítez, *El maíz: origen, composición química y morfología* (págs. 15-20).
- Castellanos, R. L. (2004). Incorporation of the Hazard Analysis and Critical Control Point system (HACCP) in food legislation. *Revista de Salud Pública*, 289-301.
- Cuti, A. R. (2013). Evaluación agronómica del cultivo de maíz suave en choclo (*zea mays amylacea*) variedad mishca con la utilización de tres abonos orgánicos en tres dosis en la zona de pifo provincia de pichincha. En A. R. Cuti, *Evaluación agronómica del cultivo de maíz suave en choclo (zea mays amylacea) variedad mishca con la utilización de tres abonos orgánicos en tres dosis en la zona de pifo provincia de pichincha* (págs. 50 -62).
- FAO. (2014). Reglamentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos. *Depositos de Documentos de la FAO*, 2. Obtenido de Depositos de Documentos de la FAO.
- FAO/OMS. (2009). Analisis de riesgos relativos a la inocuidad de los alimentos . En FAO/OMS, *Analisis de riesgos relativos a la inocuidad de los alimentos* (pág. 5). Roma: copyright.
- FAO/OMS. (2011). Guía FAO/OMS para la aplicación de principios y procedimientos de análisis de riesgos en situaciones de emergencia relativas a la inocuidad de los alimentos. *Recopilacion de la FAO*, 4.
- Fundacion Española para el Desarrollo de la Nutricion Animal. (2012). El Maíz. *FEDNA*, 2-3.
- Gutiérrez, B. J. (2001). Fundamentos de Ciencia Toxicológica. En A. L. José Bello Gutiérrez, *Fundamentos de Ciencia Toxicológica* (págs. 343-344).
- Instituto Ecuatoriano de Normalizacion. (2014). Granos y Cereales. Maiz Molido, Semola, Harina,. En I. E. Normalizacion, *Granos Y Cereales. Maíz Molido, Sémola, Harina*, (pág. 2). QUITO.



- Latham, M. C. (2012). Nutrición humana en el mundo en desarrollo. *FAO*.
- Martínez, M. M. (2013). Aflatoxins: Incidence, Impact On Health, Control And Prevention. *Scielo*, 89-109.
- Mendoza, (2014). Mendoza-Elos, M., Andrio-Enríquez, E., Juárez-Goiz, J. M., Mosqueda-Villagómez, C., Latournerie-Moreno, L., Castañón-Nájera, G., ... & Moreno-Martínez, E. (2014). Contenido de lisina y triptófano en genotipos de maíz de alta calidad proteica y normal. En Mendoza-Elos, *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* (pág. 22).
- Ministerio de Agricultura Ganadería Agua y Pesca. (2013). *SINAGAP*. Obtenido de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/boletin-ma%C3%ADz-duro/descargables-maizd/file/3766-boletin-situacional-maiz-duro-2013>
- Morales, R. M. (2013). estudio de la presencia de aflatoxina b1 en bocaditos a base de maíz comercializados en las escuelas fisco-misionales de las zonas del guasmos en la ciudad de Guayaquil. *Espol.edu.ec*.
- Ochoa, M. C., & Molina, M. j. (2015). “Caracterización Del Proceso Tradicional Del Pelado De Maíz Con Ceniza A Ser Utilizado Como Estrategia De Detoxificación De Aflatoxinas Y Fumonisinias. Caso De Estudio: Nabón – Ecuador”. *Universidad de Cuenca*.
- OMS, F. (2005). Caracterización de peligros de patógenos en los alimentos y el agua. *Recopilacion de la FAO*.
- Ortiz, D. S. (2014). Infant feeding, nutritional status and mycotoxin exposure of children in the Ecuadorian highlands. En D. S. Ortiz, *Infant feeding, nutritional status and mycotoxin exposure of children in the Ecuadorian highlands* (págs. 22-24).
- Ortiz, J. (2014). Infant feeding, nutritional status and mycotoxin exposure. En O. J., *Infant feeding, nutritional status and mycotoxin exposure* (pág. 11). Cuenca: University press.
- Presello, D. (2009). Reacción de cultivares a hongos productores de micotoxinas en maíz. *EEA Pergamino*.
- Royal Society of Chemistry. (2015). *Chemspider* . Obtenido de Chemspider : <http://www.chemspider.com/Search.aspx?q=aflatoxins>
- Torres, A. E.-R.-B. (2012). Diseño Y Aplicación De Una Metodología Para La Evaluación Integrada De Riesgos Ambientales En Sitios Peligrosos De México. *Universidad Autónoma de San Luis Potosí*.



- Urrego Novoa, J. R. (2011). Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. *Revista de la Facultad de Medicina*, 108-116.
- Vallejo, L. M. (2012). Determinación de Aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 presentes en harina de maíz del sector Tumbaco mediante el uso de columnas de inmunoafinidad (IAC) y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). *Universidad escuela politecnica del ejercito*.
- Villalobos, C. M. (2011). Producción de aflatoxinas en maíz in vitro. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 218-222.
- World Health Organization (WHO). (2009). Risk characterization of microbiological hazards in food. *World health organization*, 5-14.



ANEXOS

ANEXO 1. Encuesta sobre preferencias de consumo de maíz

ENCUESTA SOBRE PREFERENCIAS DE CONSUMO DEL MAÍZ

Proyecto "Evaluación del pelado tradicional con ceniza como estrategia de descontaminación de micotoxinas (fumonisinas y aflatoxinas) en el mote pelado, Nabón-Ecuador"

Número de registro
Fecha de la encuesta (dd/mm/aa)

DATOS GENERALES:

Nombre del cultivador:
Dirección:

PREFERENCIA DE CONSUMO

1. ¿Cómo prefiere consumir el maíz? Escoja 1 de las siguiente opciones:

- | | | | | | |
|----|----------------------------|----------------------|----|---------|--------------------------|
| 1. | Choclo en mazorca (fresco) | <input type="text"/> | 9. | No Sabe | <input type="checkbox"/> |
| 2. | Mote con cáscara | <input type="text"/> | | | |
| 3. | Mote pelado | <input type="text"/> | | | |
| 4. | Otro (especifique) | <input type="text"/> | | | |

2. El mote pelado que Ud. consume se lo pela usando. Escoja 1 de las siguiente opciones:

- | | | | | | |
|----|--------------------|----------------------|----|---------|--------------------------|
| 1. | Ceniza | <input type="text"/> | 9. | No Sabe | <input type="checkbox"/> |
| 2. | Cal | <input type="text"/> | | | |
| 3. | Otro (especifique) | <input type="text"/> | | | |

3. ¿Por qué prefiere este tipo de mote pelado?

4. Después de pelado el mote, ¿cuánto tiempo deja secar antes de cocinarlo?

5. Antes de cocinar el mote pelado seco, ¿cuánto tiempo deja en remojo el mote?

6. Para cocinar un galón de mote pelado, ¿cuánta agua utiliza?

7. ¿Por cuánto tiempo cocina el mote pelado?

8. ¿Qué olla utiliza para cocinar el mote pelado?

ENCUESTA DE CONSUMO

9. Sexo: Hombre Mujer

10. ¿Cuántos años tiene?

11. Peso en kg (balanza)

* Sin zapatos



12. Señale, el día ayer fue:

1. Lunes 2. Martes. 3. Miércoles 4. Jueves 5. Viernes 6. Sábado 7. Domingo

13. Señale, el tipo de alimentación de ayer fue:

1. Como cualquier día 2. Día festivo 3. Enfermedad

14. CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO

Alimento	Descripcion	Cantidad y tamaño de la porción	Consumo				
			D	S	M	A	N
Ej. Mote...	1 x "código de plato..."		3			

D	Diario
S	Semanal
M	Mensual
A	Anual
N	Nunca

15. RECORDATORIO DE 24 HORAS

HORA	Alimento	Descripción	Número de porciones (cantidad)	Medida/tamaño de la porción
Mote...				

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!



ANEXO 2. Contenido promedio de humedad y materia seca de las muestras de maíz pelado cocido, expresado en porcentaje y calculado a partir del análisis por triplicado.

Muestra	% Materia seca	% Humedad
1	35.3	64.7
2	33.6	66.4
3	35.6	64.4
4	35.8	64.2
5	38.2	61.8
6	36.9	63.1
7	36.7	63.3
8	34.2	65.8
9	34.8	65.2
10	33.1	66.9
11	33.5	66.5
12	34.7	65.3
13	36.7	63.3
14	37.0	63.0
15	37.5	62.5
16	36.7	63.3
17	37.4	62.6
18	37.6	62.4
19	37.6	62.4
20	35.0	65.0
21	34.4	65.6
22	33.7	66.3
23	35.3	64.7
24	35.5	64.5
25	35.1	64.9
26	35.5	64.5
27	34.7	65.3
28	36.7	63.3
29	35.4	64.6
30	35.3	64.7
31	35.0	65.0
32	35.4	64.6
33	35.7	64.3
34	35.4	64.6
35	35.5	64.5
36	35.0	65.0
37	35.9	64.1
38	36.7	63.3
39	38.4	61.6
40	35.2	64.8

ANEXO 3. Consumo promedio de maíz pelado cocido, expresado en (kg)/PC (kg) / día, calculado del consumo diario y el peso

id	consumo/día (g)	consumo/día (kg)	peso (kg)	consumo (kg)/PC (kg) / dia
1	140	0.14	67.3	0.00208
2	280	0.28	58.5	0.00479
3	310	0.31	49.7	0.00624
4	300	0.3	58.9	0.00510
5	450	0.45	44	0.01023
6	70	0.07	73.4	0.00095
7	120	0.12	63.8	0.00188
8	75	0.075	57.9	0.00130
9	0	0	63.7	0.00000
10	155	0.155	53.2	0.00291
11	50	0.05	82.5	0.00061
12	140	0.14	88.8	0.00158
13	170	0.17	49.7	0.00342
14	200	0.2	68.2	0.00293
15	630	0.63	53.1	0.01186
16	0	0	56.8	0.00000
17	210	0.21	55.8	0.00376
19	200	0.2	44.2	0.00452
20	70	0.07	45.7	0.00153
21	270	0.27	69.2	0.00390
22	140	0.14	64.6	0.00217
23	100	0.1	63.3	0.00158
24	380	0.38	73.7	0.00516
25	140	0.14	65.4	0.00214
26	350	0.35	61.6	0.00568
27	70	0.07	69.5	0.00101
28	240	0.24	62.5	0.00384
29	610	0.61	76.02	0.00802
30	300	0.3	57.6	0.00521
31	490	0.49	52.6	0.00932
32	70	0.07	68	0.00103
33	350	0.35	43.5	0.00805
34	210	0.21	52.3	0.00402
35	210	0.21	70.8	0.00297
36	350	0.35	63.9	0.00548
37	170	0.17	59.6	0.00285
38	630	0.63	54.8	0.01150
39	200	0.2	64.1	0.00312
40	200	0.2	64.6	0.00310