



FACULTAD DE POSGRADOS

DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 EN LECHE CRUDA DE VACA EN
CENTROS DE ACOPIO DE PEQUEÑOS PRODUCTORES EN LAS
CINCO PROVINCIAS DE LA SIERRA CON MAYOR
PRODUCCIÓN EN EL ECUADOR.

Autora

Pamela Belén González Arcos

Año
2018



FACULTAD DE POSGRADOS

DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 EN LECHE CRUDA DE VACA EN
CENTROS DE ACOPIO DE PEQUEÑOS PRODUCTORES EN LAS CINCO
PROVINCIAS DE LA SIERRA CON MAYOR PRODUCCIÓN EN EL
ECUADOR.

Trabajo de titulación presentado en conformidad con los requisitos establecidos
para optar por el título de Magister en Agroindustria mención en Calidad y
Seguridad Alimentaria

Profesor guía

MSc. José Ignacio Ortín Hernández

Autora

Pamela Belén González Arcos

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

"Declaro haber dirigido el trabajo, DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 EN LECHE CRUDA DE VACA EN CENTROS DE ACOPIO DE PEQUEÑOS PRODUCTORES EN LAS CINCO PROVINCIAS DE LA SIERRA CON MAYOR PRODUCCIÓN EN EL ECUADOR, a través de reuniones periódicas con la estudiante Pamela Belén González Arcos en el Semestre 2018-2, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

José Ignacio Ortín Hernández
Master en Gestión de la Seguridad Alimentaria
C.C.1754826517

DECLARACIÓN DE LA PROFESORA CORRECTORA

"Declaro haber revisado este trabajo, DETERMINACIÓN DE AFLATOXINA M1 EN LECHE CRUDA DE VACA EN CENTROS DE ACOPIO DE PEQUEÑOS PRODUCTORES EN LAS CINCO PROVINCIAS DE LA SIERRA CON MAYOR PRODUCCIÓN EN EL ECUADOR, de la Estudiante Pamela Belén González Arcos, en el Semestre 2018-2, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

Ligia Estefanía Arízaga Collantes

Magister en SCIENTIAE, Especialidad: Agronegocios

C.C 1714648407

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi auditoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

Pamela Belén González Arcos
C.C.171826461-5

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme constancia y valor para culminar una más de mis metas

A mis padres por ser parte de mis sueños y por contar con su apoyo incondicional

Al Ingeniero Jose Ignacio Ortín por su conocimiento y sabiduría para terminar esta investigación.

DEDICATORIA

A mi familia, quienes son un pilar fundamental en mi desarrollo personal y profesional y que han sido mi apoyo incondicional en todas los sueños y metas, gracias por ser parte de toda mi vida y por estar presentes en mis triunfos y por compartir su felicidad con la mía.

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo establecer la incidencia de aflatoxina M1 en la leche cruda de vaca producida en las principales provincias del Ecuador (AZUAY, COTOPAXI, CHIMBORAZO, TUNGURAHUA y PICHINCHA), y centros de acopio de leche otorgados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería a través de la Subsecretaría de Ganadería a pequeños productores, esta investigación cuenta con un análisis estadístico univariado, con una estadística inferencial y con un diseño experimental completamente aleatorio, el método de este estudio se enfocó en el análisis de varianza para determinar el efecto de los datos recolectados, para ello se utilizó como herramienta el programa estadístico INFOSTAT.

El resultado de los datos cualitativos es de un promedio de 0.036 ppb de aflatoxinas en la leche, lo cual está dentro de los límites de la norma vigente INEN 009:2012 Leche y Requisitos. Así como de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés). Sin embargo existen valores máximos de 0,050 ppb de aflatoxina M1 en la leche cruda de vaca, lo cual está sobre el límite permitido según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Se realizaron dos encuestas para determinar el conocimiento de los productores sobre la presencia de aflatoxinas en leche cruda. Los resultados de las encuestas indican que los pequeños productores en su mayoría desconocen qué es una aflatoxina M1, ni la causa y efecto que puede producir en el ser humano al momento de que esta es ingerida en la leche; por esto, es necesario realizar un programa de capacitación sobre la calidad e inocuidad de la leche a pequeños productores para fortalecer el sector lácteo ecuatoriano, puesto que estas personas no cuentan con educación, además su trabajo es en el campo y el manejo es de forma empírica.

ABSTRACT

The objective of this research is to establish the incidence of aflatoxin M1 in raw cow's milk produced in the main provinces of Ecuador (AZUAY, COTOPAXI, CHIMBORAZO, TUNGURAHUA and PICHINCHA), and milk collection centers granted by the Ministry of Agriculture to small producers, this research was carried out with a completely random experimental design, with the statistical program INFOSTAT.

The result of the qualitative data is of an average of 0.036 ppb of aflatoxins in the milk, which is within the limits of the current INEN norm 009: 2012 milk and requirements and of the Food and Drug Administration (FDA), however there are maximum values of 0.050 ppb of aflatoxin in milk, which this parameter in quality standards in the European Union is not allowed and you can't export Ecuadorian products to these countries.

Two surveys were conducted to determine the producers' knowledge about the presence of aflatoxins in raw milk. The results of the surveys indicate that small producers, for the most part, don't understand what an aflatoxin is, or the cause and effect that it can produce in humans when it is ingested by means of milk.

Training program on the quality and safety of milk for small producers to strengthen the Ecuadorian dairy sector, since these people don't have education since their work is in the field and the management is empirical.

INDICE

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 1.1. Antecedentes..... | 1 |
| 1.2. Alcance..... | 5 |
| 1.3. Justificación..... | 5 |
| 1.4. Objetivos..... | 7 |
| 1.4.1. Objetivo General..... | 7 |
| 1.4.2. Objetivos Específicos..... | 7 |
| 1.4.3. Hipótesis..... | 8 |
| 2. MARCO TEORICO..... | 8 |
| 2.1. Producción de leche en el Ecuador..... | 8 |
| 2.2. Microorganismos y metabolitos contaminantes de la leche... 12 | |
| 2.3. Reproducción de hongos..... | 14 |
| 2.4. Aflatoxinas..... | 15 |
| 2.5. Tipo de Aflatoxinas..... | 16 |
| 2.6. Aflatoxina M1..... | 19 |
| 2.7. Contaminación por la aflatoxina M1..... | 19 |
| 2.8. Efectos de la aflatoxina en la leche..... | 21 |
| 2.9. Toxicidad y consecuencias para la salud de la aflatoxina M1..... | 22 |
| 2.10. Control y legislación..... | 24 |
| 3. MATERIALES Y METODOS..... | 27 |
| 3.1. Ubicación geográfica..... | 27 |
| 3.2. Materiales..... | 31 |
| 3.3. Métodos para la determinación de la afloxinas..... | 34 |
| 3.3.1. Método de Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) AOAC 993.16:..... | 34 |

| | |
|--|-----------|
| 3.3.2. Método Cromatográfico | 35 |
| 3.3.3. Método por High Performance Liquid Chromatography (HPLC)..... | 35 |
| 3.3.4. Método por fluorescencia | 35 |
| 3.3.5. Método por Ultravioleta:..... | 35 |
| 4. DISEÑO DEL ESTUDIO | 36 |
| 4.1. Determinación de la muestra..... | 36 |
| 4.2. Diseño experimental..... | 39 |
| 4.3. Preparación de la muestra | 39 |
| 4.4. Procesamiento de las muestras en laboratorio | 40 |
| 4.5. Metodología de la Encuesta | 48 |
| 5. RESULTADOS | 50 |
| 5.1. Resultados de la Encuesta sobre Aflatoxinas en leche | 50 |
| 5.2. Resultados de la segunda encuesta a los pequeños productores de leche cruda..... | 60 |
| 5.3. Resultados cualitativos sobre la presencia de aflatoxinas..... | 71 |
| 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 82 |
| 6.1. Conclusiones..... | 82 |
| 6.2. Recomendaciones | 83 |
| REFERENCIAS | 88 |
| ANEXOS | 98 |

INDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Producción de litros de leche/día por provincia del Ecuador..... | 1 |
| Tabla 2. Resultados de presencia de aflatoxinas por parte de AGROCALIDAD..... | 3 |
| Tabla 3. Sobre el tipo de aflatoxinas presente en los alimentos..... | 18 |
| Tabla 4. | 19 |
| Tabla 5. Límites permitidos de aflatoxina M1 en la leche cruda de vaca | 24 |
| Tabla 6. Distribución geográfica de los centros de acopio de leche a muestrearse. | 37 |
| Tabla 7. Límite permitido para contaminantes..... | 39 |
| Tabla 8. Números Aleatorios..... | 48 |
| Tabla 9. Estadística descriptiva. Resultados de la presencia de aflatoxina M1 a nivel nacional. | 72 |
| Tabla 10. Estadística descriptiva. Resultados de la presencia de aflatoxina M1..... | 72 |
| Tabla 11. Análisis de la Varianza total (SC tipo III) | 74 |
| Tabla 12. Análisis de datos Anova | 74 |
| Tabla 13. Análisis de varianza (Provincia de Pichincha) | 76 |
| Tabla 14. Análisis de Varianza (Provincia de Chimborazo)..... | 78 |
| Tabla 15. Análisis de varianza (Provincia de Cotopaxi) | 79 |
| Tabla 16. Análisis de varianza (Provincia de Tungurahua) | 80 |
| Tabla 17. Ejemplo de Capacitación para los productores de leche cruda..... | 86 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Diagrama de Ishikawa..... | 6 |
| Figura 2. Volumen de leche desde el año 2012 hasta el 2016..... | 8 |
| Figura 3. Destino de leche en la elaboración de productos lácteos. | 9 |
| Figura 4. Consumo per cápita de leche fluida y productos lácteos | 10 |
| Figura 5. Estructura de las principales aflatoxinas: | 17 |
| Figura 6. Mapa de países con y sin reglamento para micotoxinas..... | 25 |
| Figura 7. Porcentaje de la población mundial con reglamentos para las micotoxinas | 25 |
| Figura 8. Países con y sin reglamentos para controlar aflatoxina en leche..... | 26 |
| Figura 9. Ubicación de los Centros de Acopio de leche en el Ecuador, otorgados por el MAG. | 27 |
| Figura 10. Comuna San Antonio de Cangahua..... | 30 |
| Figura 11. Asociación Nuevo Futuro de Paquiestancia | 30 |
| Figura 12. Asociación de Pequeños Ganaderos y Productores de Lácteos Capsol. | 31 |
| Figura 13. Materiales del Kit para la determinación de la muestra de leche cruda. | 32 |
| Figura 14. Equipos para la determinación de Aflatoxinas | 32 |
| Figura 15. Frascos con tirillas..... | 32 |
| Figura 16. Micropocillos | 33 |
| Figura 17. Puntas desechables de plástico | 33 |
| Figura 18. Micropipeta (microlitros) | 33 |
| Figura 19. Instructivo de los resultados de la tirilla sobre aflatoxina M1 | 40 |
| Figura 20. Equipo para determinar la presencia de aflatoxina | 42 |
| Figura 21. XGrayCalib1.0.0.3..... | 42 |
| Figura 22. Software para la lectura de resultados | 42 |
| Figura 23. Software para la lectura de resultados..... | 43 |
| Figura 24. Software para la calibración del equipo..... | 43 |
| Figura 25. Software para la calibración del equipo..... | 44 |
| Figura 26. Software para la calibración del equipo..... | 44 |
| Figura 27. Software para la calibración del equipo..... | 45 |

| | |
|---|----|
| Figura 28. Software para la calibración del equipo..... | 45 |
| Figura 29. Toma de muestras | 45 |
| Figura 30. Toma de muestras | 46 |
| Figura 31. Equipo | 46 |
| Figura 32. Resultado sobre la incidencia de aflatoxinas | 47 |
| Figura 33. Resultado cualitativo sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche..... | 47 |
| Figura 34. Respuesta de la primera pregunta de la encuesta, ¿Qué piensa Ud. que es una aflatoxina? | 51 |
| Figura 35. Respuesta de la segunda pregunta de la encuesta, ¿Por qué razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en el alimento? | 52 |
| Figura 36. Respuesta de la tercera pregunta de la encuesta, Ud. sabía que las aflatoxinas pueden estar presentes en la leche? | 54 |
| Figura 37. Respuesta de la Cuarta pregunta de la encuesta, ¿ Por qué razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en la leche cruda de vaca? | 56 |
| Figura 38. Respuesta de la Quinta pregunta de la encuesta, Sabía Ud. Que el ser humano al ingerir leche con aflatoxinas causa cáncer hepático. | 58 |
| Figura 39. Respuesta de la primera pregunta de la encuesta, ¿Ud. sabía que la leche puede contaminarse con hongos procedentes de la alimentación de las vacas?..... | 60 |
| Figura 40. Respuesta de la segunda pregunta de la encuesta ¿Cuáles piensa Ud. que son los problemas para la salud humana que pueden causar las leches contaminadas por hongos?..... | 62 |
| Figura 41. Respuesta de la tercera pregunta de la encuesta ¿Qué es una Aflatoxina? | 64 |
| Figura 42. Respuesta de la Cuarta pregunta de la encuesta ¿Cuál cree Ud. que es la causa que pueda provocar la presencia de aflatoxinas en la leche? | 66 |

| | |
|--|----|
| Figura 43. Respuesta de la Quinta pregunta de la encuesta ¿Ud. conoce el daño que puede causar las aflatoxinas de la leche en la salud humana..... | 68 |
| Figura 44. Variable de resultados cualitativos (Box-Plot variable)..... | 71 |
| Figura 45. Sobre la estadística descriptiva por provincia | 73 |
| Figura 46. Análisis de Varianza (Provincia de Azuay) | 75 |
| Figura 47. Análisis de varianza (Provincia de Pichincha)..... | 77 |
| Figura 48. Análisis de Varianza (Provincia de Chimborazo)..... | 78 |
| Figura 49. Análisis de varianza (Provincia de Cotopaxi) | 79 |
| Figura 50. Análisis de varianza (Provincia de Tungurahua) | 81 |

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la agricultura (FAO), el Ecuador está categorizado como el quinto país productor de leche en Latinoamérica (2016), y dentro de su distribución geográfica existen regiones especializadas en la producción de este rubro, por ejemplo, según la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) en 2016 existe una población aproximada de 4'127.000 bovinos de los cuales 896.170 vacas producen diariamente 5.519.288 litros de leche, dando un promedio de 5.94 litros por vaca/día (ESPAC, 2016).

Tabla 1.

Producción de litros de leche/día por provincia del Ecuador.

| PROVINCIA | PRODUCCIÓN 2017 | POBLACIÓN 2017 | CONSUMO PERCAPITA | PRODUCCIÓN DISPONIBLE |
|-----------------------------------|--------------------|-------------------|----------------------|--------------------------|
| Azuay | 482.401,00 | 785.565,00 | 74.169.199,80 | 163.022.688,00 |
| Bolívar | 197.040,00 | 190.627,00 | 17.998.067,70 | 28.725.917,76 |
| Cañar | 324.578,00 | 249.759,00 | 23.581.021,52 | 142.450.243,20 |
| Carchi | 360.598,00 | 170.695,00 | 16.116.185,88 | 129.586.631,04 |
| Chimborazo | 431.325,00 | 476.162,00 | 44.956.883,92 | 178.933.374,72 |
| Cotopaxi | 514.759,00 | 440.233,00 | 41.564.643,71 | 192.596.685,12 |
| Imbabura | 160.473,00 | 428.508,00 | 40.458.570,78 | 102.421.647,36 |
| Loja | 103.152,00 | 469.545,00 | 44.332.139,18 | 102.421.647,36 |
| Pichincha | 835.663,00 | 2.880.770,00 | 271.988.194,10 | 351.455.408,64 |
| Santo Domingo De Los Tsáchilas | 208.738,00 | 411.666,00 | 38.867.487,48 | 72.244.010,88 |
| Tungurahua | 297.060,00 | 533.836,00 | 50.402.180,52 | 72.244.010,88 |
| El Oro | 110.030,00 | 650.207,00 | 61.389.360,39 | 3.298.311,36 |
| Esmeraldas | 128.874,00 | 584.396,00 | 55.175.808,09 | 4.550.469,12 |
| Guayas | 145.698,00 | 3.970.541,00 | 374.879.034,49 | 6.404.442,05 |
| Los Ríos | 37.341,00 | 838.720,00 | 79.187.834,56 | 3.871.851,84 |
| Manabí | 587.252,00 | 1.433.185,00 | 135.314.308,31 | 17.847.385,92 |

| | | | | |
|------------------|--------------|---------------|------------------|------------------|
| Santa Elena | 449,00 | 254.156,00 | 33.437.674,95 | 33.984,00 |
| Morona Santiago | 67.041,00 | 174.374,00 | 16.463.539,04 | 3.072.674,88 |
| Napo | 23.892,00 | 119.159,00 | 11.250.409,17 | 50.552,64 |
| Orellana | 18.754,00 | 148.421,00 | 14.013.183,89 | 1.387.990,08 |
| Pastaza | 11.223,00 | 100.139,00 | 9.454.633,92 | 305.334,72 |
| Sucumbíos | 33.446,00 | 205.526,00 | 19.404.758,30 | 2.604.611,52 |
| Zamora Chinchipe | 53.542,00 | 106.848,00 | 10.088.064,84 | 4.470.125,76 |
| TOTAL NACIONAL | 5.133.329,00 | 15.623.038,00 | 1.484.493.184,55 | 1.583.999.998,85 |

Tomado de: Ministerio de Agricultura y Ganadería, 2016

En la tabla 1 se demuestra la producción diaria nacional de leche además la población total del país, datos con los cuales se puede interpretar el consumo per cápita del país. Según el ESPAC, 2017 en el Ecuador existen 856.164 vacas en ordeño lo que nos da un promedio por vaca de 6 litros diarios.

De esta manera, el 77.21% de la producción de leche total nacional es producido por la región Sierra, seguido de la región Costa con el 17.96% y finalmente el Oriente con el 4.82%. Las provincias de la Sierra con mayor producción de leche son: Pichincha, Azuay, Chimborazo, Cotopaxi y Tungurahua con el 62.14% del total. En cuanto a la comercialización de leche, el 72.56% es vendida en forma líquida, el 16.57% procesada en queseras artesanales, 8.4% autoconsumo en finca, 1.97% para alimentación de terneros y 0.49% destinada a otros fines (mantequilla, manjar), además el 54% es parte de un sistema formal donde se encuentra la industria láctea mediana y grande y un 47% que es parte del sistema informal en el cual se ubican las queseras clandestinas, transporte mediante intermediarios (ESPAC, 2016).

La calidad de la leche aún es un tema pendiente en el país, es así que los decomisos tienen un alto porcentaje de contaminantes (residuos veterinarios, antibióticos) que dañan la salud del consumidor, es por esta razón que actualmente se está incentivando la implementación de Buenas Prácticas de Ordeño, Buenas Prácticas Pecuarias, Buenas Prácticas de Producción y de Manufactura.

En lo referente a la calidad de la leche, el Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca (MAGAP) en el año 2013 emitió el Acuerdo Ministerial 394 para Regular y controlar el precio del litro de leche cruda pagado en finca y/o centro de acopio al productor y promover la calidad e inocuidad de la leche cruda. Dentro de este acuerdo, el MAGAP implementó un precio base del litro de leche y además incluyó un pago adicional por calidad en cuanto a proteína, grasa, conteo de bacterias totales y células somáticas incluyendo la ausencia de antibióticos, este Acuerdo sigue vigente hasta la presente fecha (MAGAP, 2013)

Cabe mencionar que, por medio de la resolución 036:2018 por el Ministerio de Agricultura y Ganadería, a través de AGROCALIDAD, se realizan operativos interministeriales para el control de la calidad de leche en carretera, centros de acopio, haciendas e industria para proteger al consumidor; sin embargo, no existe la metodología para detectar la presencia de aflatoxinas (MAG, 2018).

AGROCALIDAD a partir del año 2013 se han realizado análisis de aflatoxinas a pequeños productores de leche que no utilizan balanceado en la dieta de sus animales, por tal motivo no hay datos importantes que reflejen la presencia de aflatoxinas. En el 2016 se decomisaron 40 litros de leche en la provincia de Zamora Chinchipe, lo cual no es representativo, puesto que el volumen total analizado es de 758.500 litros (AGROCALIDAD, 2017).

Tabla 2.

Resultados de la presencia de aflatoxinas en leche

| Año | N° de Operativos | N° de Muestras | Litros Controlados | Litros Decomisados | % Decomiso | Razón de Decomiso |
|--------------|-------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|
| 2013 | 141 | 1.404 | 696.566 | 37.105 | 5,33% | |
| 2014 | 471 | 3.456 | 3.461.859 | 373.068 | 10,78% | |
| 2015 | 890 | 5.846 | 5.979.711 | 565.670 | 9,46% | |
| 2016 | 884 | 3.683 | 8.842.691 | 1.028.904 | 11,64% | 40 litros por aflatoxinas |
| 2017 | 740 | 3.307 | 10.426.759 | 1.071.772 | 10,28% | |
| Total | 3.126 | 17.696 | 29.407.586 | 3.076.519 | 10,46% | |

Tomado de: AGROCALIDAD, 2017

En la tabla 2 indica el número de muestras analizadas entre el año 2013 hasta el año 2017, las cuales fueron para estos cinco años un total de 17.696 muestras para determinar la presencia de aflatoxinas.

Es necesario realizar estudios con una muestra poblacional más extensa para que los datos sean confiables, puesto que 758.500 litros controlados representa el 14.3 % de la producción diaria nacional, debido a que es poco probable obtener un resultado real sobre presencia de aflatoxinas en el Ecuador, además se sabe que las aflatoxinas es un metabolito cancerígeno que puede afectar seriamente al ser humano y llegar hacer una amenaza a la salud pública (Pérez, 2008).

La normativa vigente nacional, la INEN 009:2012 Leche Cruda y Requisitos, tiene límites para la presencia de aflatoxinas para el consumo humano (0,5 ppb), en la cual se tomó como referencia al indicador antes mencionado de la Agencia de Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés). Sin embargo, las entidades de control no han realizado análisis cuantitativos, por lo cual no se tiene una data en el Ecuador del rango de aflatoxinas existentes, ya que solo se han tomado pruebas con resultados cualitativos según la norma INEN,009:2012.

El estudio de aflatoxinas presentes en productos animales y específicamente en la leche, han recibido poca importancia en el país; es así que solo existe un estudio a nivel cualitativo para la detección de aflatoxinas en la leche en el Cantón Biblián, de la provincia del Cañar, en el cual se mostró resultados negativos en la zonas y tiempos de estudio (Ortiz, 2014). Con este antecedente, es necesario iniciar una investigación a nivel nacional para la detección cualitativa y cuantitativa de aflatoxinas en la leche, por este motivo hizo la investigación en las provincias de la Sierra con mayor producción de leche las mismas que son; Pichincha, Tungurahua, Cotopaxi, Chimborazo y Azuay.

De igual forma, se da la circunstancia de que el Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) dispone de 142 centros de acopio de leche distribuidos en el país y 57 centros de acopio en las principales zonas ganaderas (MAG, 2017). Por este motivo, se plantea tomar muestras de leche completamente aleatorias para determinar la incidencia de aflatoxinas en la leche y analizar los sistemas de producción y realizar posibles correlaciones que permitirá disponer de información veraz para implementar políticas de control y manejo.

1.2. Alcance

El trabajo se realizó a nivel de los centros de acopio manejados por las asociaciones y comunidades beneficiadas de los programas del MAG. Las muestras fueron tomadas directamente del tanque, y se tomó una contra muestra para ser enviadas al laboratorio. El periodo de muestreo fue de dos meses a partir de Noviembre de 2017, se utilizó un diseño experimental completamente aleatorio, para identificar la presencia de aflatoxina M1 en la leche en las cinco provincias en estudio (Pichincha, Azuay, Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua.)

1.3. Justificación

Esta investigación surge de la necesidad de la falta de conocimiento de los productores de leche de las cinco provincias en estudio sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche. Si bien es cierto las aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos (*Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*) (Chase, Bergstrom y Murphy, 2013), estos afectan a la inocuidad del producto si sobrepasan los límites permitidos en la norma INEN 009:2012 vigente, lo cual es un riesgo de salud pública, puesto que la leche es un producto de consumo masivo y considerado de alto riesgo epidemiológico.

El ganado bovino es afectado principalmente por el mal almacenamiento de su comida, lo cual desarrolla la presencia de hongos en la misma. La Aflatoxina

produce anomalías cromosómicas y la modificación del ADN, además en los alimentos se encuentra la aflatoxina B1 que baja el rendimiento de los animales, afectando la producción de leche ya que el crecimiento de las vaquillas se vio afectado por esta toxina (Assiut, 2013), por este motivo el Ecuador puede estar expuesto a pérdidas económicas e inestabilidad en el sector lácteo, puesto que la evidencia con aflatoxina M1 perjudicaría el consumo de leche en el Ecuador ya que se lo consideraría un producto no inocuo y poco saludable, lo cual sin duda afectará al sector lechero.

Para ello en esta investigación se determinó la muestra de estudio y se analizó por medio de un diseño experimental completamente aleatorio, estableciendo la incidencia de aflatoxinas en la leche, el cumplimiento de la norma INEN vigente en el país, los resultados positivos o negativos de aflatoxinas en el Ecuador.

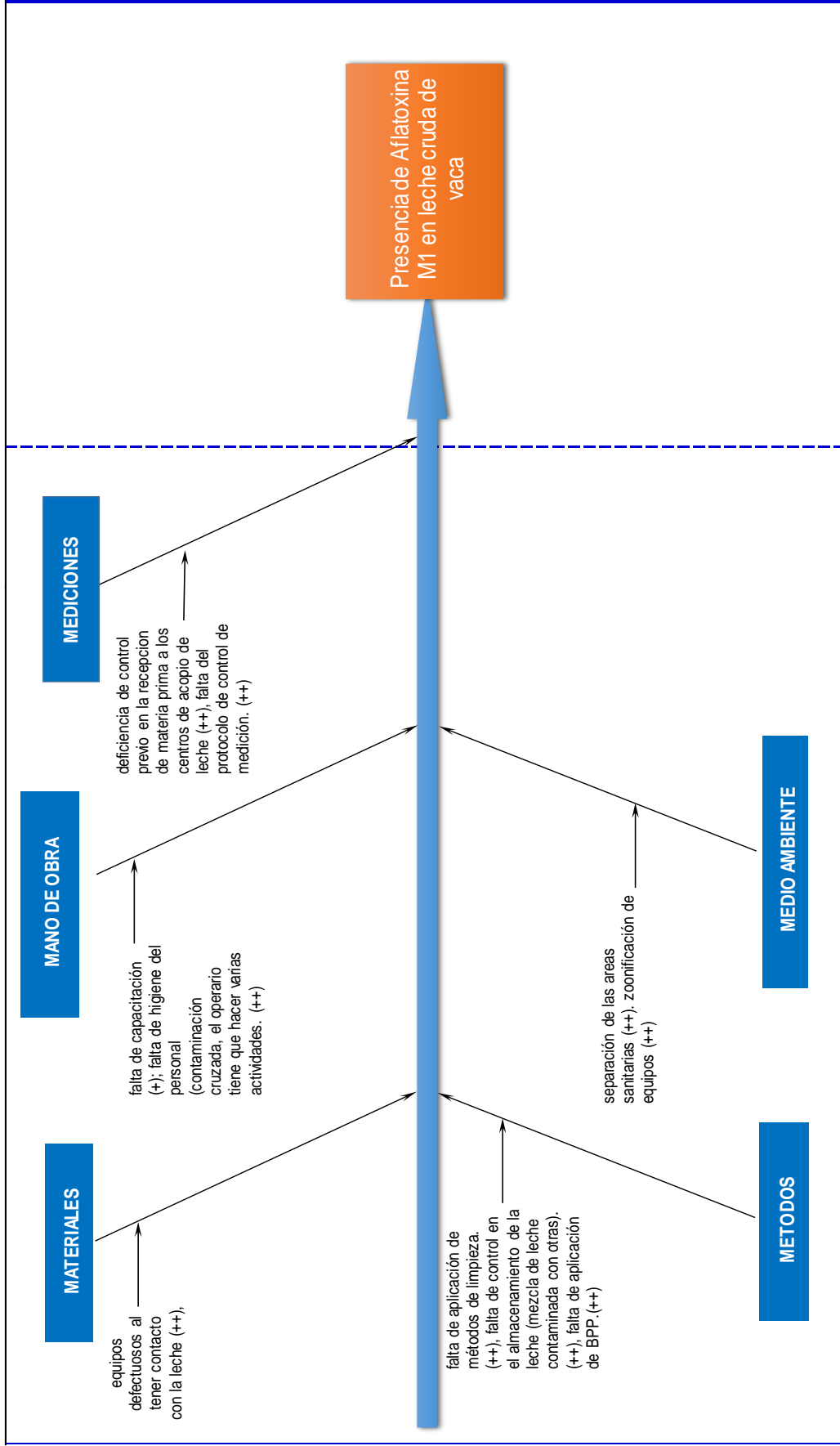


Figura 1. Diagrama de Ishikawa

Como se muestra en la figura 1, uno de los problemas de inocuidad de leche que enfrenta el sector lácteo en el Ecuador, es la presencia de aflatoxina M1 en leche cruda por los siguientes factores:

- Falta de Buenas Prácticas Pecuarias.
- Falta de capacitación y desconocimiento de los productores.
- Falta de higienización de los equipos.
- Falta de separación de las áreas sanitarias.
- Deficiencia de control previo en la recepción de materia prima.
- Equipos defectuosos al tener contacto con la leche.
- Contaminación cruzada.
- Ausencia de reglamentos para controlar en finca la leche cruda.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

- Determinar la incidencia de aflatoxina M1 en leche cruda de vaca en centros de acopio de pequeños productores en las cinco provincias más productivas de la Sierra del Ecuador.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Analizar el contenido de Aflatoxina M1 en leche cruda en los principales centros de acopio ubicados en las cinco provincias: (Azuay, Cotopaxi, Chimborazo, Tungurahua y Pichincha), mediante un test comercial (AFLASENSOR).
- Delimitar el grado de cumplimiento de aflatoxina M1 en leche cruda descrito en la norma INEN 009-2012 vigente en el Ecuador.
- Diseñar una encuesta para determinar el conocimiento de los productores sobre la presencia de aflatoxinas en leche cruda en los centros de acopio de las cinco provincias en estudio.

1.4.3. Hipótesis

La leche cruda analizada en los centros de acopio otorgados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería, ubicadas en las cinco provincias (Azuay, Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha y Tungurahua), presentan niveles de Aflatoxina M1 mayores a 0.50 ppb, y, por tanto, incumplen los límites máximos permitidos por la INEN 09-2012.

2. MARCO TEORICO

2.1. Producción de leche en el Ecuador

El Ecuador es un país productor de leche y dentro de su distribución geográfica existen regiones especializadas en la producción de este rubro, por ejemplo, la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) en 2016, el 77.21% de la producción de leche total nacional es producido por la región Sierra seguido de la región Costa con el 17.96% y finalmente el Oriente con el 4.82%. Así mismo se producen 5.519.000 litros diariamente en el año 2017, de los cuales el 45 % proviene de pequeños productores (menores a 20 has), 33% de productores medianos (21 a 100 has); el 22% son grandes productores (mayores a 100 has) (PNGS, 2013). Del total de leche producida diariamente, el 53% se destina al mercado formal (industria) y el 47% al mercado informal (mercado no regularizado). En el mercado formal el 33 % se destina a producción de queso, 45% de leche fluida, 11% a elaboración de yogurt, 10% leche en polvo y 1% en otros productos (Centro de Industrias Lácteas, 2017).

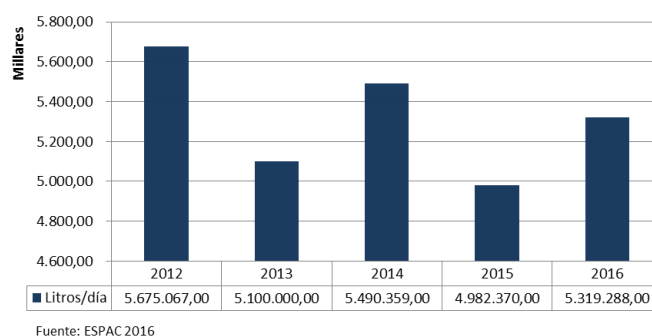


Figura 2. Volumen de leche desde el año 2012 hasta el 2016

Tomado de: ESPAC, 2016

En la figura 2, se observa la cantidad de litros producidos durante el año 2012 hasta el año 2016. Para el año 2012 el Ecuador tiene una producción diaria de 5.675.067 litros, este año el Ecuador tuvo la mayor producción de leche, puesto que en los años siguientes bajo la producción y para el año 2016 el Ecuador tuvo una producción de 5.319.288.

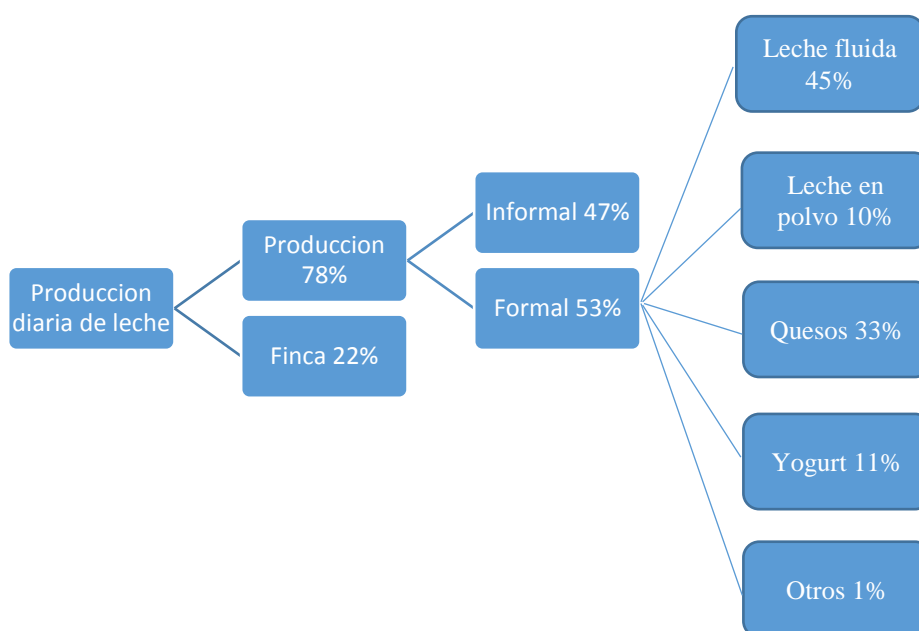


Figura 3. Destino de leche en la elaboración de productos lácteos.

Tomado de: Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), 2017.

En la figura 3 se observa el destino de leche y productos lácteos, el 78% de la producción diaria se destina a producción, mientras que el 22% se queda en finca.

En la producción de leche existe un sistema informal que corresponde al 47% y un sistema formal que representa al 53%. De este sistema formal, la leche se destina a queso (33%), yogurt (11%), leche en polvo (10%), leche fluida (45%) y 1% en otros derivados lácteos (mantequilla y manjar)

La producción de suero de leche en el país es de 1,4 millones diarios aproximadamente el 30% es generado en la zona Sierra Centro. El destino de este suero, en su mayoría, se dirige a la alimentación de cerdos y terneros debido al bajo costo (Andes KinKuna, 2017).

La ganadería representa una de las principales actividades del sector agropecuario del país y es la actividad productiva más distribuida en el medio rural, está caracterizada por una alta dispersión, bajos niveles de producción, acceso limitado a tecnología y distorsiones de los precios debido a los altos niveles de intermediación.

Consumo per cápita: En el año 2015 el Ecuador tuvo un consumo per cápita de 110 lt/año según la FAO, como se muestra en la (fig. 4) Actualmente Ecuador tiene un consumo per cápita de leche y productos lácteos de 97 lt/año (MAG, 2017), los dos índices son bajas a lo recomendado por la FAO 150 lt/año. (Fig. 4) En campañas realizadas anteriormente para incentivar el consumo de leche, (2013) “Sí a la leche” y en el (2014) “Tres lácteos al día”, se pudo apreciar un incremento de aproximadamente 30%, (MAG, 2017). Se puede determinar que el Ecuador es un país productor de leche ya que para abastecer el consumo per Cápita de 97 lt/año se necesitaría una producción diaria de 4.178.453,85 lt/día y actualmente se producen 5.133.129 lt/día lo que deja un excedente de 954.675 lt/día.

Consumo promedio anual de leche en el mundo (por persona)

Más de **6 000** millones de personas en el mundo consumen leche y productos lácteos; la mayoría de ellas vive en los países en desarrollo.

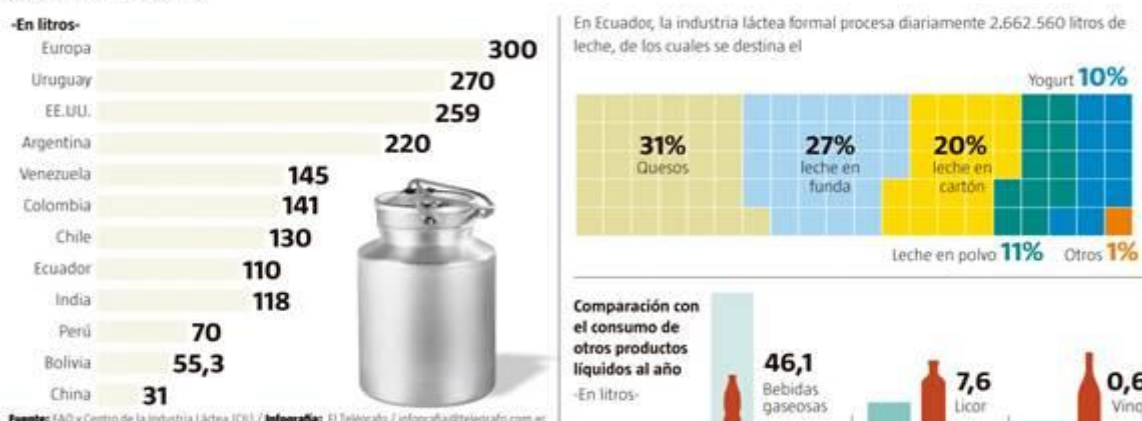


Figura 4. Consumo per cápita de leche fluida y productos lácteos

Tomado de: FAO y Centro de industria Láctea, 2015

El 78% de la producción diaria de leche proviene de pequeños (menores a 20 has) y medianos productores (de 21 a 100 has) (PNGS, 2013) estos se caracterizan por los bajos niveles de producción debido a:

Alimentación y nutrición, la alimentación del ganado bovino de leche principalmente se realiza bajo pastoreo, entre estos se utilizan los pastos cultivados, pastos naturales y páramos. En los últimos años, se evidencia claramente la expansión del área de pastos cultivados y la disminución de área de descanso, páramos y pastos naturales, demostrando así que la ganadería se ha realizado sin contar con políticas adecuadas; sin sistemas de producción sostenibles que eleven la producción y productividad y hagan uso óptimo y eficiente de las áreas de pastoreo.

La utilización de semillas de pasto no adaptadas a la zona de producción o de baja persistencia causa un bajo rendimiento de las pasturas, esto se agrava cuando no se toma en cuenta la fertilidad del suelo para determinar la fertilización más adecuada. Además que las condiciones ambientales (precipitación) reducen la tasa de crecimiento generando un mayor intervalo de pastoreo en verano, las bajas temperaturas en estas por la ausencia de nubes en las mañanas provocan el deterioro en las pasturas.

El no contar con un manejo racional del suelo, pasto y carga animal, ha provocado que los ganaderos no cuenten con la biomasa suficiente en cantidad y calidad para garantizar una adecuada nutrición de sus animales, afectando directamente a los índices de productividad.

Genética y reproducción: hay diferentes especies de interés zootécnico y se han desarrollado genéticamente en el país sin un sistema nacional de mejoramiento genético, lo que ocasiona la dependencia casi total de material genético importado ya sea con pie de cría, semen o embriones (MAG, 2016)

Esta dependencia obliga a trabajar con índices genéticos, productivos, reproductivos, morfológicos y funcionales de países que no responden a la

realidad de producción ecuatoriana en los diferentes sistemas de explotación y pisos altitudinales. La importación de animales desde diferentes regiones del mundo no ha sido evaluada técnicamente dentro de las condiciones productivas de las diferentes regiones del país, por lo que difícilmente se puede asegurar que ha existido un aporte sustancial a la ganadería ecuatoriana.

Sanidad: el ganadero ecuatoriano aún no logra tener una rentabilidad que genere los recursos necesarios para lograr y mejorar su nivel de vida, debido a diferentes factores del manejo animal. Entre los problemas más comunes está el inapropiado manejo sanitario preventivo del hato ganadero. Actualmente, el 80% de productores no aplica tratamientos médicos basándose en los signos clínicos que manifiesta un animal enfermo, debido a que no se realizan pruebas de diagnóstico que confirmen la presencia e identifiquen la enfermedad que aqueja el animal (AGROCALIDAD, 2017). Esta práctica empírica de curación implica que el productor incurra en pérdidas económicas innecesarias, comprometan la vida del animal y exista proliferación de enfermedades y se ponga en riesgo la Salud Pública de la población ecuatoriana.

2.2. Microorganismos y metabolitos contaminantes de la leche

La leche, además de ser un alimento nutritivo para los seres humanos, proporciona un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos. Una vez que los microorganismos entran en la leche, su número aumenta rápidamente y provoca el deterioro de la producción de leche cruda o procesada inadecuadamente para el consumo humano debido a la rancidez, olores a humedad o la producción de toxinas (Nanu et al.2007).

La presencia de estos microorganismos suelen aparecer por la mala práctica de ordeño, malas condiciones de almacenamiento y factores humanos (Gran et al., 2003; Grimaud et al., 2009). En la actualidad, más de 250.000 hongos están presentes en el medio ambiente. Son ubiquitarios en la naturaleza, y se encuentran en el suelo, el agua y el aire. Los hongos tienen una gran

importancia en los procesos tecnológicos de elaboración de productos lácteos y pueden utilizarse para evaluar la calidad sanitaria de la leche y las condiciones de producción lechera (Spanavberg et al., 2004).

El tipo de hongos de deterioro difieren ampliamente entre los productos lácteos debido a los efectos de las prácticas seguidas en la producción, formulación, procesamiento, envasado, almacenamiento, distribución y manipulación. El clima cálido y la refrigeración inadecuada son las principales causas de alto nivel de contaminación por hongos. Algunos defectos físicos tales como color, pérdida de firmeza y pérdida de aroma pueden ocurrir después del deterioro de productos lácteos por hongos tóxicos ya que se encuentran en el medio ideal para su crecimiento (Urbina, 2014)

La descomposición de la levadura es particularmente importante en los productos lácteos y quesos fermentados, y menos en la leche fresca, pasteurizada, crema y mantequilla. En los yogures de frutas, las levaduras pueden ser introducidas por ingredientes no lácteos tales como frutas, azúcar, miel y frutos secos (Fleet, 1990; Jakobsen & Narvhus, 1996). Las levaduras pueden desempeñar un papel importante en las fermentaciones lácteas debido a una serie de sus características fisiológicas y bioquímicas.

Las medidas de higiene y saneamiento son importantes para controlar la contaminación de los productos lácteos con levaduras (Guerzoni et al. 1998). Los mohos se pueden encontrar en la leche como contaminantes del medio ambiente, pero son importantes en la fabricación de queso y otros productos lácteos. Los mohos tienen la capacidad de realzar el sabor y el aroma y de modificar la textura y la estructura de productos derivados de la leche como consecuencia de la proteólisis extensa y de la lipólisis.

Los géneros de moho más comúnmente detectados en la leche cruda son: *Penicilium sp*, *Geotrichum sp*, *Aspergillus sp*, *Mucor sp* y *Fusarium sp* (Lavoie et al., 2012). A nivel de especie, *Fusarium merismoides*, *Penicilium glabrum*, *Penicilium roqueforti*, *Aspergillus fumigatus*, *Engyodontium album*, así como especies de *Cladosporium* y *Torrubiella* son comunes (Delavenne et al., 2011).

Aunque no se espera que los mohos sobrevivan a los tratamientos de pasteurización y esterilización aplicados durante el procesamiento de la leche, sus esporas pueden tolerar condiciones ambientales severas pero son sensibles al tratamiento térmico. Su presencia en la leche cruda es indeseable porque sus actividades enzimáticas pueden alterar los constituyentes de la leche y afectar las características organolépticas de los productos lácteos, producir micotoxinas y representar un riesgo potencial para la salud (Vergust, 2008).

2.3. Reproducción de hongos

La reproducción fúngica puede ser sexual y asexual, los cuales son mecanismos utilizados por diferentes especies. La reproducción sexual genera variabilidad genética y necesita de otro individuo para su reproducción. No obstante, la reproducción asexual es utilizada para colonizar el ambiente y utilizan sustratos sólidos, penetrando profundamente en sus matrices mediante la secreción de enzimas para descomponer los productos complejos (Grisales, 2017).

Los factores que influyen para su reproducción son: la temperatura, actividad de agua, humedad relativa, agentes biológicos, lo que aumentan la susceptibilidad a la infección, añadiendo que estos pueden portar esporas de hongos e introducirlas en los productos atacados. Los hongos crecen normalmente entre 10 y 40°C, durante un intervalo de pH de 4 a 8, y a niveles de actividad de agua (a_w) superiores a 0,70 (Grisales, 2017).

“Las micotoxinas pueden entrar en la cadena alimentaria directamente a través de productos de origen vegetal, como cereales, café, semillas oleaginosas, especias, jugos de fruta y bebidas (vino y cerveza), e indirectamente de las dietas animales (pastos, piensos) contaminadas con micotoxinas, que pueden dejar residuos en la leche, la carne, y otros productos” (Rajeev *et al.*, 2010 p. 60), es necesario que el alimento que se da

al animal cumpla con los requisitos de calidad para proteger la salud y evitar que las micotoxinas entren al sistema digestivo, provocando daños importantes a la salud y sobre todo, que estos contaminantes puedan ser transmitidos al ser humano.

2.4. Aflatoxinas

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos que crecen en materiales vegetales, produciendo el deterioro de los mismos a ciertas condiciones de temperatura, humedad y sustrato, así mismo los daños físicos a las cosechas (por golpes, ataques de insectos, roedores, aves, etc.) favorecen la proliferación de hongos y en consecuencia la producción de micotoxinas. Estas aparecen como contaminantes naturales y su producción suele suceder al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho (Watkinson, Carlile, & Gooday, 2001).

Su transmisión va desde el campo hasta el consumidor, lo cual se hace una cadena que realmente es un problema para la salud, ya que la ingesta de alimentos con estas toxinas aparecen después de 12 a 24 horas en las secreciones de los animales como lo son: la leche, orina y heces. Los productos más sensibles a las micotoxinas son: cereales, pastos, frutos secos, leche, entre otros (ELIKA, 2013).

Las Aflatoxinas pertenecen a un grupo de las micotoxinas y son metabolitos hidroxilados químicamente diversos con pesos moleculares variables producidos por hongos tóxicos, estos son producidos por hongos en cultivos en el campo, durante el transporte, manipulación y almacenamiento y necesitan de un escenario externo para su crecimiento, la temperatura, humedad son los parámetros más importantes a considerar porque son la base en el cual se desarrollan (Brown, 2013).

Los hongos tóxicos crecen a una humedad del 14 al 30% lo cual es un rango muy amplio para su desarrollo, además que la temperatura de crecimiento de los hongos productores de aflatoxinas oscila de 4°C a 45°C, mientras que la temperatura de producción de las aflatoxinas es de 11°C a 35°C, con una temperatura óptima de 22°C (ELIKA, 2013), por este motivo es necesario utilizar buenas prácticas de almacenamiento en alimentos para evitar la transmisión de este contaminante en las secreciones de los animales, ya que la leche y productos lácteos son de consumo masivo y puede convertirse en un problema de salud pública.

Se deberían optimizar las Buenas Practicas de Almacenamiento, en referencia a la humedad, temperatura y conservación del pasto ya sea pasto seco en pacas o pasto en henolaje, conservando siempre una superficie y laterales secos. Además la protección de los rayos solares tiene ser la adecuada ya que es la primera fuente de oxidación de los materiales biológicos en este caso la conservación de alimentos. Otra forma de conservación es la utilización de silos la cual tiene como contra los altos costos para construir los mismos pero representan una de las mejores estrategias de conservación de alimentos.

El grado de toxicidad de las micotoxinas depende de varios factores como; su biodisponibilidad, la cantidad ingerida diariamente y la concentración de las mismas. Esto se debe a la falta de control y vigilancia de las instituciones encargadas del tema, además de las prácticas inadecuadas de pre cosecha y post cosecha que convierten a las micotoxinas en un enemigo latente, debido a su alta toxicidad, la cual puede llegar a causar enfermedades crónicas y agudas en una población vulnerable como mujeres embarazadas, niños, mujeres en periodos de lactancia y ancianos.

2.5. Tipo de Aflatoxinas

Dentro de la gran gama de aflatoxinas existen varios tipos de las mismas en las cuales son producidas por las cepas toxigénicas de hongos de *Aspergillus*

flavus, *Aspergillus nominus* y *Aspergillus parasiticus* que tienen como medio para su crecimiento algunos alimentos. Las principales aflatoxinas dentro de las veinte existentes son cuatro como la aflatoxina B1, B2, G1 y G2, distinguidas por su color de fluorescente al observarlas bajo la luz ultravioleta (Hernandez, 1992).

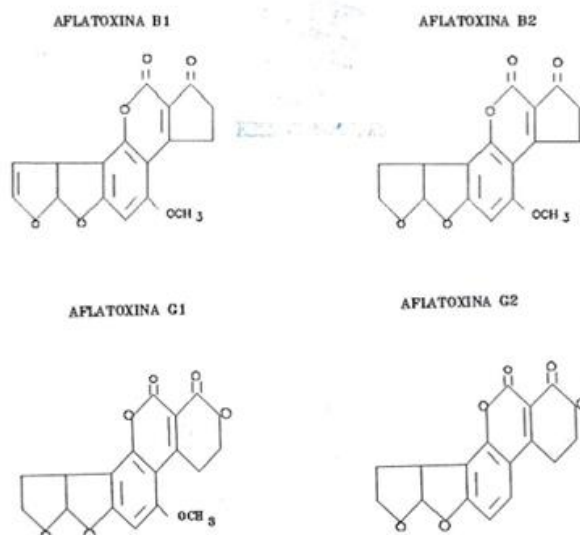


Figura 5. Estructura de las principales aflatoxinas:

Tomado de: Universidad de Guadalajara, 2016

En la figura 5 muestra la estructura de las principales aflatoxinas como la B1 y B2, estas sustancias se caracterizan por presentar diversas actividades biológicas biológicas, y por poseer estructuras moleculares complejas conformadas por átomos de carbono, hidrógeno, nitrógeno y oxígeno, a pesar de su estructura similar, se diferencian por doble enlace que se encuentra en el anillo heterocíclico, por otro lado las aflatoxinas G1 y G2, se diferencian por el grupo metoxilo (Campos, 2011).

La Aflatoxina B1 es considerada una de las más carcinogénicas/genotóxicas producidas en balanceados mal almacenados mayoritariamente, ya que también pueden crecer en pastos (Brown, 2013). Esta aflatoxina es ingerida por el animal transformándola en aflatoxina M1, la cual se encuentra en la leche y es consumida por los seres humanos.

Tabla 3.

Tipo de aflatoxinas presente en los alimentos.

| Micotoxina | hongo | condiciones ambientales | Límites permitidos | Efectos tóxicos | Alimentos implicados |
|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------|--|--------------------------------------|--|
| Aflatoxinas B1 | Aspergillus | 10-43 grados C | AB1 0,05 ppb (Eu) y 0,5 ppb (Asia y América) | Hepatóxico | maíz, arroz |
| B2, G1, G2 Y M1 | Parasiticus, Aspergillus flavus | 32-33 grados C | AB1 0,05 ppb (Eu) y 0,5 ppb (Asia y América) | inmunotóxicos | leche, maní, pistachos, nueces, girasoles, productos lácteos |
| Fumonisinias B1 y B2 | Fusarium, moliniforme, proliferatum | 15-30 grados C | 1000-3000 ug/kg (UE) | neurotóxica, nefrotóxico, hepatóxico | maíz, trigo, cerveza |
| Tricotecenos | Fusarium | mayor 20 grados C | 750 ug/kg (EU) | necrosis cutáneas | harina, trigo, cerveza |
| Zearalenona | Fusarium | 10- 25 grados C | 50-1000 ug/kg (EU) | problemas reproductivos | cebada, centeno, avena |

Tomado de: Universidad de Guadalajara, 2016

En la figura 3 se observa las aflatoxinas que están presentes en los alimentos. La aflatoxina B1 está presente en alimentos como el maíz y arros, la aflatoxina M1 está presente en la leche, la aflatoxina G1, G2 y B2 se encuentran en alimentos como maní, nueces, pistachos, entre otros.

Los síntomas generales de micotoxicosis en los seres humanos son: vómitos, diarrea, otros problemas gastrointestinales asociados como: colitis ulcerosa, colecistitis, pólipos intestinales, síndrome de colon irritable (Rajeev *et al.*, 2010). Los síntomas clínicos generalmente desaparecen después de suprimir los alimentos contaminados (Brasel *et al.*, 2001).

En estudios realizados en países como la India, Kenya y Estados Unidos los síntomas que presentaron las personas al ingerir alimentos contaminados con aflatoxinas fueron los siguientes:

Tabla 4.
Brotos de Aflatoxicosis

| PAÍS | SÍNTOMAS | ORIGEN | DURACIÓN | TOXINA | MATERIAL ANALIZADO |
|----------------|--|---------------------------------------|----------------|---------------------------------|--------------------|
| India | dolor abdominal, edema de las extremidades inferiores, hígado palpable | Maíz | 5-30 días | Aflatoxina B1 1,7 ppm | Suero |
| Kenya | episodio febril breve, vómito, anorexia, taquicardia | Maiz, Leche | varias semanas | Aflatoxina B1, M1 3,2-12 ppm | Hígado |
| Estados Unidos | erupción macular no puriginosa, cefaleas | Aflatoxina B1, dos días purificada | 2 semanas | Aflatoxina B1, 5,5 mg | Orina |

Tomado de: Peraica, 2013

En la tabla 4 se determina el alimento y el tiempo en el cual se ingirió estas toxinas, además de los signos y síntomas que presentaban los seres humanos, entre los síntomas diagnosticados por la duración en el cuerpo humano, hubo reacciones como: vómito, dolor abdominal, hígado palpable entre otras.

2.6. Aflatoxina M1

Estructura química y el metabolismo de la aflatoxina M1:

El tipo de aflatoxina denominada M1 representa el 95% detectada en la leche ya que es la conversión de la ingesta por alimentos contaminados por la toxina B1, la aflatoxina M1 es un derivado 4-hidroxilado hepatocarcinógeno de aflatoxina B1 que tiene una masa molecular relativa de 328 daltons y tiene la fórmula molecular C₁₇H₁₂O₇ (Wagacha & Muthomi, 2008). Esta aflatoxina está presente en la leche de las glándulas mamarias de animales y mujeres en periodo de lactancia. (Gurbay et al., 2010).

2.7. Contaminación por la aflatoxina M1

El crecimiento de la aflatoxina M1, está influido por varios factores como temperatura, humedad relativa, disponibilidad de oxígeno (Awasthi et al., 2012). Estas sustancias son tóxicas, inmunosupresoras, carcinógenas, mutagénicas y teratogénicas que se sabe que inducen la carcinogénesis

hepática en humanos y animales. En el proceso de consumo de la aflatoxina B1 presente en los alimentos hacia los animales, esta se degrada por rumen a M1 dentro de 12-24 horas y el porcentaje que se encuentra en la leche es del 3% de la ingesta dietética de aflatoxina B1 (Perez, 2008).

La contaminación puede ocurrir por el consumo de alimentos que tienen presencia de aflatoxina M1 y por inhalación de polvo de aflatoxinas en industrias y fábricas de alimentos contaminados (Ali et al., 2013).

El consumo de leche puede ser la principal vía para la entrada de la aflatoxina M1 en el cuerpo humano, además produce una grave deficiencia de proteínas en niños (Agag, 2004) interrumpen la formación de ADN y ARN y la síntesis proteica además son cancerígenas y afectan al cerebro, hígado y riñones.

Ciertos estudios han demostrado que la presencia de aflatoxinas en leche en países como África con el 71,4%, 10 % en Estados Unidos, Kenya 72%, India 99% y 40% en Egipto. En el Ecuador se han realizado operativos de leche cruda en carretera por medio de la dirección de Vigilancia y Control de la Inocuidad de leche en la institución pública "AGROCALIDAD", que es el ente rector de la sanidad y control agropecuaria sobre la presencia de aflatoxinas presentes en la leche, sin embargo se desconoce el porcentaje real de este contaminante en leche a nivel nacional ya que no es un parámetro obligatorio de calidad para su regularización (Urban, 2010)

Por parte de la industria láctea, las empresas representativas (Nestlé del Ecuador, Toni Corp., Lácteos San Antonio, LEANSA, Rey Lácteos, Pasteurizadora Quito, Pamalat del Ecuador, Alpina y El Ordeño) del sector lo hacen mensualmente, sin embargo no se reporta este parámetro a las instituciones reguladoras lo cual hace un problema para la salud pública ecuatoriana, ya que esta toxina es resistente a tratamiento térmico y a condiciones de pH ácidos.

2.8. Efectos de la aflatoxina en la leche

La leche es un producto altamente perecedero que pierde rápidamente su homogeneidad. Existen resultados contradictorios del efecto de los tratamientos térmicos sobre la reducción de AFM1 (aflatoxina M1) en la leche. Algunos estudios indican que el calor no causa un cambio apreciable en la cantidad de AFM1 (aflatoxina M1) en la leche, mientras que otros informan diferentes niveles de descontaminación. Según el estudio de aflatoxina M1 en leche, la esterilización de la leche a 121 °C durante 15 segundos causó una degradación de 12,21% de AFM1, mientras que la ebullición disminuyó AFM1 por 14,50% (Deveci, 2007).

Por otro lado en el estudio aflatoxina y toxicidad en productos lácteos explica que las aflatoxinas presentes en los alimentos tolera la inactivación térmica como la pasteurización, el autoclavado y otros procedimientos de procesamiento de alimentos (Kav et al., 2011). Se observó la estabilidad de suero contaminado con AFM1 y suero desproteínizado sometido a diferentes tratamientos tecnológicos (Cattaneo et al., 2013).

Durante la producción de queso ricotta, la mayoría de AFM1, se eliminó en el suero descartado en un 94 %, sólo el 6% permaneció en la cuajada. El secado por pulverización fue eficiente en la reducción de la contaminación por AFM1 en suero de leche, donde la retención de toxinas fue de aproximadamente 60%, mientras que en suero desproteínizado, la retención de AFM1 fue de aproximadamente 39% (Cattaneo et al., 2013).

En Colombia, se realizó un estudio de quesos frescos provenientes del municipio de Yopal, en el cual se tomaron en cuenta para el estudio 3 importantes proveedores de quesos frescos, se tomaron 9 muestras de cada uno para procesarlas y detectar la presencia o ausencia de la aflatoxina M1 mediante la técnica de ELISA utilizando el kit comercial Ridascreen aflatoxina M1 30/15 (Aranguren, 2009).

En el proveedor uno se encontró un valor promedio de AFM1 8.46 ppt, resultando una concentración baja para poder causar patologías hepáticas y alteraciones en la información genética de los consumidores de estos quesos; por el contrario los proveedores dos y tres, correspondientes al 67% de las muestras analizadas arrojaron valores de aflatoxina M1 superiores a 240 ppt, lo que supone un riesgo en la salud y calidad de vida de los consumidores. Se encontró que en Yopal no se está garantizando el cumplimiento de normas que velen por la salud de la comunidad y por tanto se está permitiendo la comercialización de quesos contaminados con AFM1 (Aranguren, 2009).

La aflatoxina M1 es estable en yogurt contaminado con concentraciones de 0,05 y 0,1 $\mu\text{g} / \text{L}$ y en condiciones de almacenamiento de 4°C y a valores de pH de 4,0 y 4,6 (Govaris et al., 2002), en este estudio se observó que a pH 4.6, los niveles de AFM1 no cambió significativamente ($p > 0.01$); sin embargo, en el yogurt a pH 4,0, AFM1 disminuyó significativamente ($p < 0,01$) después de la tercera y cuarta semana de almacenamiento en ambas concentraciones, sin embargo, los investigadores han mencionado que la reducción de la recuperación de AFM1 puede no significar una reducción de la toxicidad y evitar la contaminación parece ser la única manera práctica y económica para garantizar la seguridad de los productos lácteos para los seres humanos (Govaris et al., 2002).

2.9. Toxicidad y consecuencias para la salud de la aflatoxina M1

Se estima que aproximadamente el 35% del cáncer de los humanos están directamente relacionados con la dieta alimenticia (Organización Mundial de la Salud, 2008), la presencia de aflatoxinas en los alimentos se considera un factor importante en la formación de cáncer de hígado, principalmente en países tropicales caracterizados por un alto contenido de humedad y altas temperaturas que favorecen su crecimiento (Govaris et al., 2002). Según la OMS, el carcinoma hepatocelular global es la principal causa de muerte por cáncer (OMS, 2008). Cada año se diagnostica 600.000 casos nuevos de

carcinoma hepatocelular, de los cuales África y Asia oriental contribuyen con 83% de las muertes (Kirk et al., 2006), debido a la tardanza en la identificación de la enfermedad y los escasos recursos médicos con los que cuentan estas regiones. La evidencia de aflatoxicosis aguda en seres humanos ha sido reportada en todo el mundo, como Taiwán, Uganda, India, Kenia y muchos otros.

La aflatoxicosis primaria crónica es el resultado de la ingestión de niveles bajos o moderados de aflatoxinas (USAID, 2012). Algunos de los síntomas más comunes son la alteración de la conversión alimenticia y la disminución de las tasas de crecimiento con o sin la aparición de un síndrome de aflatoxina (OMS, 2000). La actividad tóxica se debe a su capacidad para interactuar con ácidos nucleicos, nucleoproteínas y síntesis de proteínas.

Se sabe que la aflatoxina M1 tiene efectos citotóxicos, genotóxicos y carcinógenos (Awad et al., 2012; Fallah 2010). Por lo tanto, el Organismo Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha demostrado que la aflatoxina M1 es citotóxica en los hepatocitos humanos in vitro y su toxicidad aguda en varias especies es similar a la de la aflatoxina B1.

La aflatoxina M1 también exhibe un alto nivel de actividad genotóxica y ciertamente representa un riesgo para la salud debido a su posible acumulación y vinculación con el ADN (Makun et al. 2012; Shundo y Sabino, 2006). Además, la contaminación por AFB1 en niveles más altos también se ha correlacionado con una reducción del peso al nacer (Abulu et al., 1998). Según estudios realizados de aflatoxina en leche en Kenia han demostrado que los niños pequeños son alimentados con leche de vaca a una edad temprana (Bwibo & Neumann, 2003) y por lo tanto el consumo de leche contaminada con AFM1 puede reducir el desarrollo de su competencia inmunitaria haciéndolos más susceptibles a otras enfermedades relacionadas al hígado, cerebro y riñones.

2.10. Control y legislación

La leche constituye una fuente importante de nutrientes para la población; su composición es ideal para el crecimiento de microorganismos patógenos y sirve como transporte para contaminantes. Por este motivo, entidades reguladoras de calidad e inocuidad alimentaria como la Agencia de Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés), Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) normaron este parámetro para determinar el límite permitido de este tipo de contaminante en los alimentos. (FAO, 2003)

Tabla 5.

Límites permitidos de aflatoxina M1 en la leche cruda de vaca

| PAIS | NORMATIVA | LÍMITE MÁXIMO PERMITIDO |
|----------------|---|-------------------------|
| Unión Europea | Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) | 0,05 ppb |
| Ecuador | Servicio Ecuatoriano de Normalización (INEN) | 0,5 ppb |
| Estados Unidos | Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) | 0,5 ppb |

En la tabla 5 muestra los límites permitidos en la Unión Europea es de 0,05 ppb, mientras que en la FDA es de 0,5 ppb, lo cual Ecuador en el año 2012 tomó como referencia los límites de la FDA, mediante el Instituto ecuatoriano de normalización (INEN), en la norma INEN 9:2012 Leche Cruda y Requisitos que explica que los límites máximos para contaminantes en este caso para la presencia de aflatoxinas M1 en leche es de 0,5 ug/kg (INEN, 2012).

Las regulaciones para establecer parámetros permitidos de aflatoxinas empezaron a finales del año 2003 ya que según la FAO se comprendió los serios efectos de micotoxinas en los seres humanos, a raíz de este problema aproximadamente 100 países cuentan con límites de micotoxinas en alimentos (2003).



Figura 6. Mapa de países con y sin reglamento para micotoxinas
Tomado de: Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y Agricultura, 2003.

En la figura 6 explica la existencia de reglamentos vigentes en el año 2003 en los países de Europa, sin embargo en el continente africano no existe información sobre algún reglamento que controle la presencia de aflatoxinas en los alimentos y en Latino América existen reglamentos pero no estaban vigentes para el año 2003.

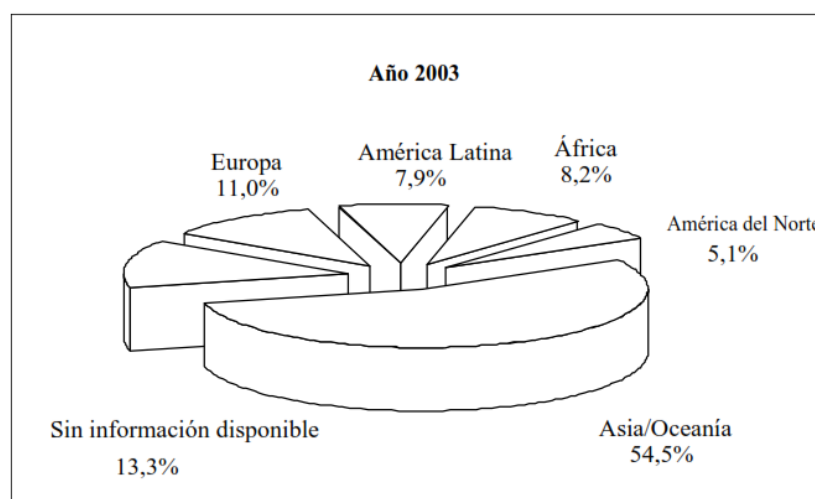


Figura 7. Porcentaje de la población mundial con reglamentos para las micotoxinas
Tomado de: Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y Agricultura (FAO), 2003

En la figura 7 explica que la Unión Europea tiene un porcentaje de reglamentación vigente del 11% América del Norte con un 5,1 %, América Latina 7,9 %, África con el 8,2 %, Asia con el 54,5 %, finalmente no se encuentra información disponible sobre la reglamentación para controlar la presencia de aflatoxinas en los alimentos, esto representa el 13,3 %.

La mayoría de países cuentan con reglamentación para micotoxinas, sin embargo en el año 2003 América Latina no contaba con reglamentación para todos los países como se muestra en la figura.

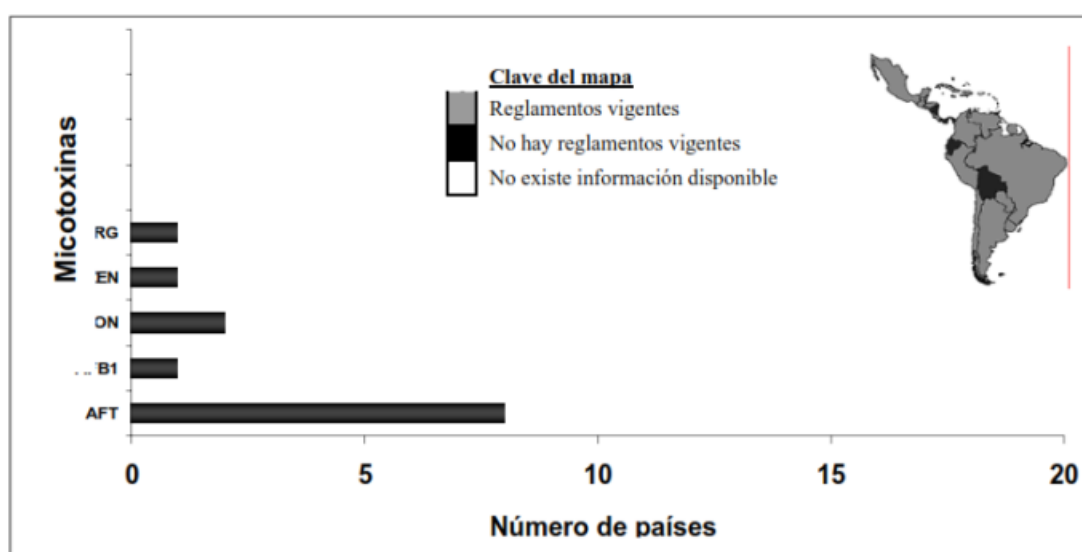


Figura 8. Países con y sin reglamentos para controlar aflatoxina en leche.

Tomado de: Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y Agricultura (FAO), 2003

En la tabla 8, muestra a los países de Latino américa que cuentan con reglamentos vigentes para el control de aflatoxinas en los alimentos, según la FAO en América Latina existen 19 países con reglamentación lo que representa el 91%, sin embargo el 9% no dispone de un control de esta toxina, se sabe que los reglamentos más completos y específicos para el control de aflatoxinas es de Uruguay, Argentina, Brasil y Paraguay (FAO, 2003).

Sierra del Ecuador, en las provincias de AZUAY, CHIMBORAZO, TUNGURAHUA, COTOPAXI y PICHINCHA.

Descripción de los centros de acopio de leche cruda de vaca:

El Ministerio de Agricultura y Ganadería a través de la Subsecretaría de Ganadería implementó 142 centros de acopio de leche, para que cada asociación sea beneficiaria de estos bienes es necesario los siguientes requisitos:

- Solicitud de la Organización dirigida a esta cartera de Estado o su delegado en provincia.
- Informe de Viabilidad Técnica favorable
- Documento de registro de la ASOCIACIÓN en la Dirección Provincial Agropecuaria.
- Copia del nombramiento del Representante Legal debidamente registrado.
- Copia de cédula de identidad y última papeleta de votación del Representante Legal de la Organización.
- Listado actualizado de socios, la ASOCIACIÓN deberá estar conformada por un mínimo de 15 miembros dedicados a la producción de leche.
- Copia del Registro Único de Contribuyentes actualizado de la Organización.
- Copia del documento legal habilitante que certifique que la ASOCIACIÓN dispone de terreno (propio, de usufructo, arrendado y/o dado en comodato) con una área mínima de 1.200 m². Los documentos habilitantes podrán ser:
 - Terreno propio: Certificado del Registro de la Propiedad.
 - Terreno de usufructo: Copia de contrato de usufructo.
 - Terreno en arriendo: Copia del contrato de arriendo.
 - Terreno en comodato: Copia del contrato de comodato.
 - Copia de planilla de servicios básicos

Cada centro de acopio cuenta con un tanque frío de 2000 litros, un kit de laboratorio básico, un generador eléctrico y una refrigeradora.

La infraestructura debe tener Buenas Prácticas Básicas de Manufactura, puesto que la mayoría de asociaciones son de personas de la Comunidad Indígena, las especificaciones son:

- El piso debe ser de baldosa blanca y debe tener un desagüe en la mitad del piso.
- El tanque de enfriamiento debe estar ubicado en la parte posterior de la infraestructura para la recepción de materia prima y el fácil acceso de camiones para la entrega de la leche cruda a las diferentes empresas lácteas.
- El laboratorio de leche debe estar al lado este de la infraestructura para realizar los análisis al momento de la recepción de materia prima.
- El generador eléctrico está ubicado fuera de la infraestructura.
- Los baños se encuentran en la parte de atrás de la infraestructura.

Es necesario aclarar que estos centros de acopio no cuentan con agua potable, sino con agua entubada, si poseen luz pero requieren de un generador, puesto que existen varios apagados al día, no poseen alcantarillado.

Financiamiento:

El encargado del centro de acopio cobra mínimo 0,42 dólares por cada litro de leche a cada productor, sin embargo vende a la industria a 0,45 dólares en promedio.

Condición de la Asociación:

La Asociación beneficiaria del centro de acopio, debe trabajar en el mismo utilizando botas blancas, pantalón blanco, camiseta blanca y una cofia.

La capacitación para los miembros de la asociación es mensual y se responsabiliza la Dirección Provincial Agropecuaria, los temas de capacitación son las siguientes:

- Buenas Prácticas de Ordeño
- Administración del centro de acopio
- Buenas Prácticas de Manufactura

Cabe recalcar que los miembros de las asociaciones beneficiarias son personas de escasos recursos económicos y por lo general personas que se dedican al trabajo en campo. No cuentan con beneficios básicos de salud y su educación es básica, ya que solo terminan la primaria o algunos de ellos nunca han estudiado.



Figura 10. Comuna San Antonio de Cangahua

Tomado de: Proyecto Nacional de Ganadería Sostenible, 2017



Figura 11. Asociación Nuevo Futuro de Paquiostancia

Tomado de: Proyecto Nacional de Ganadería Sostenible, 2017



Figura 12. Asociación de Pequeños Ganaderos y Productores de Lácteos Capsol.

Tomado de: *Proyecto Nacional de Ganadería Sostenible, 2017*

3.2. Materiales

Materiales del Kit para la determinación de la muestra de leche cruda:

- **Kit de aflasensor (almacenado a una temperatura de 2 a 8 °C antes de la apertura)**

El kit Aflasensor es un ensayo de detección rápida por medio de tirillas reactivas que cuantifica la contaminación de leche por moléculas de aflatoxina M1. Este kit puede ser utilizado in situ o en laboratorio si se requiere analizar varias muestras.

La casa comercial de estos kits de laboratorio es UNISENSOR, este kit tiene un costo de 864 dólares americanos.



Figura 13. Materiales del Kit para la determinación de la muestra de leche cruda.

En la figura 13 se observa los materiales que se utilizó para el análisis de las muestras de leche cruda de vaca, estos son muy importantes para obtener el resultado preciso sobre el contaminante o la presencia de aflatoxina M1 en leche cruda de vaca.



Figura 14. Equipos para la determinación de Aflatoxinas

En la figura 14 están los equipos que se necesitan para leer el resultado de la tirilla, estos son el incubador (40 grados centígrados) y el lector.



Figura 15. Frascos con tirillas

En la figura 15 El kit aflasensor tiene 12 frascos de ocho tirillas reactivas cada uno, esto quiere decir que se puede analizar 96 muestras de leche cruda de vaca.



Figura 16. Micropocillos

En la figura 16 se observa los micropocillos para colocar la leche en la incubadura, en el kit tiene 96 micropocillos para 96 muestras de leche.

- Leche de vaca (4 a 20°C)



Figura 17. Puntas desechables de plástico

Se utilizará puntas desechables de plástico para cada muestra de leche, esto permite que no exista contaminación cruzada en cada muestra.



Figura 18. Micropipeta (microlitros)

La micropipeta se utilizó para que el volumen de la leche sea preciso y pueda alcanzar en cada micropocillo.

Los materiales de oficina que se utilizaron fueron, equipo informático, hojas de papel bond.

3.3. Métodos para la determinación de la afloxinas

3.3.1. Método de Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) AOAC 993.16:

Para utilizar el kit de ELISA es necesario seguir algunos pasos, entre estos están:

- Dilución de la muestra
- Incubación de la muestra
- Lavados
- Conjugados
- Lavados
- Sustrato-cromógeno
- Solución stop
- Lectura de resultados (se lo hace por medio de colorímetros, fluorómetros, fotómetros).

El método por el kit de ELISA es muy fácil de utilizar ya que dentro de sus materiales existen los habituales de laboratorio como: pipetas, lector de tiras, reactivos etc), sin embargo las muestras se testean comparándolas con controles de niveles de micotoxina conocido. Los resultados son comparables con los obtenidos por métodos cromatográficos (HPLC) (Chávez, 2001).

Este método es in kit rápido de utilizar ya que existe un manual de uso para realizar el análisis.

3.3.2. Método Cromatográfico

La cromatografía es una técnica analítica cuyos fenómenos físico-químicos demuestran la presencia de contaminantes o cuerpos extraños cualitativamente ya que son reacciones las cuales se observan visualmente y no dan resultados números cuantificables, sin embargo por medio de los analitos y con reactivos específicos se puede obtener resultados cuantitativos de la presencia de aflatoxinas (López, 2018).

Este tipo de método es el convencional, utilizando reactivos para analizar las muestras sobre aflatoxinas.

3.3.3. Método por High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Se utiliza el método con HPLC, con columnas y el reactivo de necesario para determinar la presencia de aflatoxinas. Se utiliza una mezcla de metanol (MeOH) y agua (H₂O), velocidad de flujo de 1ml/min, el volumen dependerá de cada muestra y se debe mantener constante (López, 2018)

3.3.4. Método por fluorescencia

Se utiliza la fluorescencia Turner y filtros de excitación y emisión para determinar la presencia de aflatoxinas en leche. La muestra se recoge en un pocillo para determinar este contaminante en la leche (Urban, 2010)

3.3.5. Método por Ultravioleta:

El método por ultravioleta se utiliza para verificar los límites de detección de aflatoxinas, y usa el espectrofotómetro para verificar la longitud de onda, en este método se utiliza el lector, el cual mide la presencia o ausencia de aflatoxina M1 en leche y otros componentes de la leche (Urban, 2010)

4. DISEÑO DEL ESTUDIO

El Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) a través de la Subsecretaría de Ganadería, dispone de 142 Centros de acopio de leche. Dado que la producción de leche en el Ecuador se encuentra en su gran mayoría en manos de pequeños y medianos productores especialmente en la región Sierra; el MAG por medio de los centros de acopio de leche apoya al mejoramiento de la calidad de la leche. Esto permite disponer de un población de productores en los cuales se puede recoger información con facilidad y veracidad (MAG, 2017).

Este estudio fue de tipo transversal, cada centro de acopio de leche seleccionado fue visitado una vez para la toma de muestras de leche, estas muestras fueron tomadas mediante un diseño completamente aleatorio. Las muestras fueron tomadas en un período de tres meses a partir de octubre 2017. La información de la pre y post producción de la leche en los sistemas de producción se obtuvo mediante la aplicación de una encuesta informativa a los productores que entregan la leche a los centros de Acopio, se escogerán 5 productores al azar por cada centro de acopio.

4.1. Determinación de la muestra

Considerando los 57 Centros de acopio de leche como el tamaño poblacional de la cual se obtendrá la muestra bajo la siguiente muestra:

(Ecuación 1)

$$n = \frac{z^2 P(1 - P)}{\delta^2}$$

Donde

n= tamaño mínimo de muestra

z= Desviación normal estándar que corresponde al 95% del intervalo de confianza

P= Prevalencia estimada

δ = Nivel de significancia

El programa EPIDAT versión 4.2 Consiste en el desarrollo y difusión de un programa de libre distribución para el análisis estadístico de datos, este fue utilizado para determinar el tamaño de la muestra. El tamaño de muestra estimado fue de 50 muestras, las que serán tomadas de los centros de acopio. Este cálculo se determinó con una prevalencia esperada del 50% con una precisión del 10% y un intervalo de confianza del 95%.

La distribución de la toma de muestras por provincia se realizará en base a la distribución geográfica (AZUAY, PICHINCHA, COTOPAXI, TUNGURAHUA y CHIMBORAZO) de los centros de acopio, esto quiere decir que de los 142 centros de acopio se tomaran 50 para el muestreo y estos serán distribuidos en función de su porcentaje de participación, como lo muestra el siguiente cuadro.

Tabla 6.

Distribución geográfica de los centros de acopio de leche a muestrearse.

| PROVINCIA | Distribución | % de participación | Muestras por provincia |
|------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------------|
| Azuay | 7 | 12,28% | 6 |
| Chimborazo | 15 | 26,32% | 13 |
| Cotopaxi | 9 | 15,79% | 8 |
| Pichincha | 18 | 31,58% | 16 |
| Tungurahua | 8 | 14,04% | 7 |
| | 57 | 100,00% | 50 |

Para el caso de las encuestas se seleccionará al azar a los 5 productores que entregan leche a los centros de acopio, por medio de números seleccionados aleatoriamente.

En la tabla 6 explica el porcentaje de participación de las muestras por cada provincia, por tal motivo en Azuay se recolectara seis muestras por centro de

acopio, 13 muestras en Chimborazo, en Cotopaxi ocho muestras, en Pichincha tiene 16 muestras, esta provincia tiene la mayor cantidad de muestras ya que existen más centros de acopio de leche implementados en esta provincia, finalmente Tungurahua con siete muestras.

Las muestras de leche serán procesadas en el laboratorio LIVEXLAB, puesto que este laboratorio cuenta con equipo para analizar la presencia de aflatoxina M1 en leche, además este laboratorio registrado por AGROCALIDAD, esto hace que los resultados sean confiables y formales y lo más importante que está acreditado en el Servicio de Acreditación Ecuatoriana (SAE), ya que cumple con los requisitos de la norma ISO 17025 Laboratorios de Ensayo y calibración.

Las condiciones para pertenecer a la red de laboratorios de AGROCALIDAD son las siguientes:

- a) Documentación que respalde la información ingresada al momento del registro.
- b) Condiciones de infraestructura.
- c) Proceso de recepción y almacenamiento de muestras.
- d) Estado y calibración de equipos y materiales.
- e) Planes de calibración y mantenimiento de equipos.
- f) Capacidad técnica del personal de laboratorio.
- g) Materiales, reactivos e insumos (rotulación, estado, vigencia).
- h) Protocolos de ensayo.
- i) Proceso de análisis de muestras.
- j) Informes de resultados.
- k) Calidad de los procesos y resultados.
- l) Competencia técnica del laboratorio.
- m) Trazabilidad de muestras y resultados

Se utilizará el kit de cromatografía AFLASENSOR ya que este laboratorio cuenta con este kit para cuantificar la presencia de micotoxinas, este kit está certificado y es una opción para el análisis de leche en campo y cumple los parámetros de la norma INEN vigente 009:2012, leche y requisitos.

Tabla 7.

Límite permitido para contaminantes

| REQUISITOS | UNIDAD | LÍMITE MÁXIMO PERMITIDO |
|---------------|--------|-------------------------|
| Aflatoxina M1 | ug/kg | 0,5 |

Tomado de: Norma INEN 009:2012 Leche cruda y Requisitos

4.2. Diseño experimental

Los datos fueron ingresados y depurados en una hoja de Excel codificando cada una de las muestras. El programa estadístico a utilizar será INFOSTAT para el procesamiento de las variables cualitativas y cuantitativas. Se obtuvo los estadísticos descriptivos y las inferencias estadísticas para cada una de las variables.

Los datos obtenidos en las encuestas fueron analizados mediante un análisis de regresión. Esto permitirá establecer la asociación entre las variables y los niveles de aflatoxinas en la leche. Los datos fueron analizados en el programa estadístico INFOSTAT.

4.3. Preparación de la muestra

- Poner 200 ul de leche en un micropocillo de reactivo y mezclar 10 veces para lograr su homogenización (Maxwell, 1989).
- Incubar 10 min a una temperatura de 25°C (Maxwell, 1989).
- Sumergir la varilla de medición en cada micropocillo e incubar durante 10 min (Maxwell, 1989).

- Leer el resultado de las varillas directamente si deseas resultados cualitativos, (tira reactiva compuesta por un conjunto de membranas que capturan la respuesta en líneas), (negativo o positivo) (Maxwell, 1989).



Figura 19. Instructivo de los resultados de la tirilla sobre aflatoxina M1

Para un resultado válido, la línea roja de control debe estar visible en la segunda incubación como se muestra en la figura.

- Resultados cuantitativos, los micropocillos contienen valores predeterminados y cantidades de anticuerpos con partículas de oro para determinar la presencia de aflatoxinas, utilizando el equipo readsensor (Maxwell, 1989).

4.4. Procesamiento de las muestras en laboratorio

AFLASENSOR es un kit para determinar la presencia de aflatoxinas en leche, utilizando reactivos, tiras lectoras, pipetas entre otros, el procedimiento a seguir para utilizar AFLASENSOR es:

- Determinar cuántas muestras se van a probar y escriba en cada tubo un número de identificación; - La muestra de leche debe ser líquida y homogénea. No puede haber coágulos ni fases de sedimentación. La temperatura ideal de la muestra de leche está entre 4 y 20 ° C. 5
- Abrir una olla de plástico y saque tantos micropocillos como la muestra de leche que se probará; - Para abrir una olla de varillas, quite el anillo de seguridad presionando hacia abajo la olla, quite el anillo y saque el tapón de la olla con su pulgar.

- La maceta con varillas de medición siempre debe estar bien cerrada después de retirar los reactivos; - Una vasija con varillas debe vaciarse antes de abrir otra.
- Si no tiene la intención de usar todos los 8 micropocillos, deje el juego de 8 tapas en los que no se usen y no arranque la tira de las ocho tapas sino déjelo en el micropocillo que no se usará.
- No intente separar las tapas individuales y vuelva a colocarlas inmediatamente en la olla blanca sin dañar las tiras, cierre y asegúrese de que esté firmemente sellada, coloque el (los) micropocillo (s) en el bloque de calentamiento que muestra 25 ° C.
- Colocar una nueva punta en la micropipeta y transfiera 200 µl de leche a cada uno de los micropocillos.
- Cuando los reactivos y la leche están en contacto, comienza la reacción. Mezcle rápidamente e INMEDIATAMENTE presione el botón de INICIO (RUN), comienza la cuenta regresiva de 10 minutos; durante esa primera incubación, los anticuerpos monoclonales detectan si hay o no contaminantes en la muestra de leche, se tarda 10 minutos para que la reacción se complete.
- Colocar las varillas en una hoja limpia y anote el número que coincida con el de la muestra de leche.
- Inicie el temporizador para la segunda incubación presionando el botón INICIO (RUN) *. Comienza la cuenta regresiva de 10 minutos.
- Vuelva a colocar todo en la caja y guárdelo en una nevera a una temperatura que oscile entre 2 y 8 ° C.

- **Calibración:**

Para calibrar el equipo se debe ingresar al icono XGrayCalib1.0.0.3 y se debe seguir los siguientes pasos:

- Se conecta el equipo encendido al ordenador con los programas instalados previamente.



Figura 20. Equipo para determinar la presencia de aflatoxina

- Ingresar en el icono

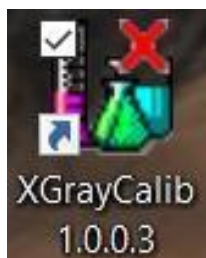


Figura 21. XGrayCalib1.0.0.3

- El lector debe conectarse automáticamente, de tener algún inconveniente como se muestra en la imagen. Se procede a conectarlo manualmente dando un click en **aceptar** para el mensaje de error que le aparece en la ventana.

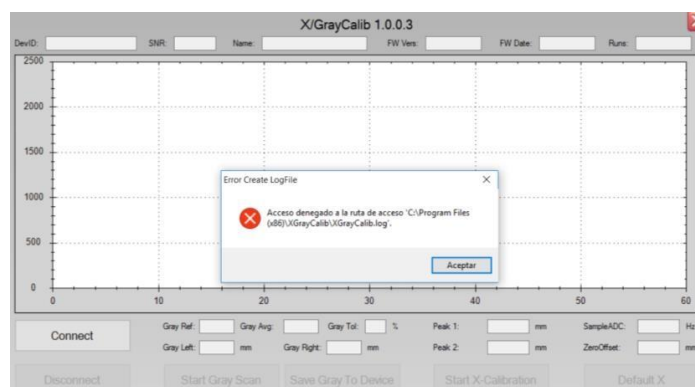


Figura 22. Software para la lectura de resultados

- Se dirige al botón de **Connect**, al conectar el equipo mostrara los parámetros en los cuales está realizando las lecturas

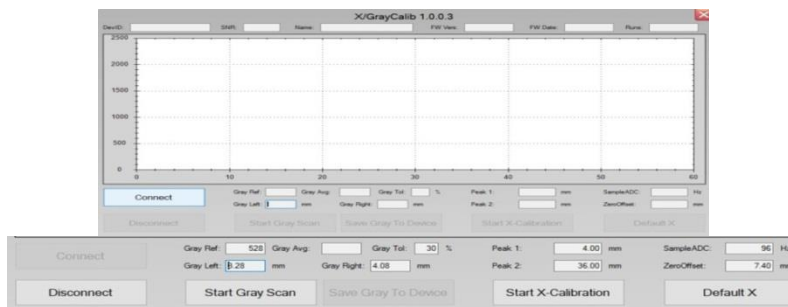


Figura 23. Software para la lectura de resultados

- Se procede a ingresar una banda de calibración en el equipo y generar la lectura de la misma con el botón de **Start Gray Scan**, el equipo genera un error por default en captura de pantalla debido a que no tiene una carpeta para almacenar dichas imágenes de las curvas de calibración generadas, se da un click en aceptar.



Figura 24. Software para la calibración del equipo

- Se procede a guardar la lectura de calibración en el dispositivo con el botón **Save Gray To Device**, el equipo genera un error por default en captura de pantalla debido a que no tiene una carpeta para almacenar dichas imágenes de las curvas de calibración generadas, se da un click en aceptar.

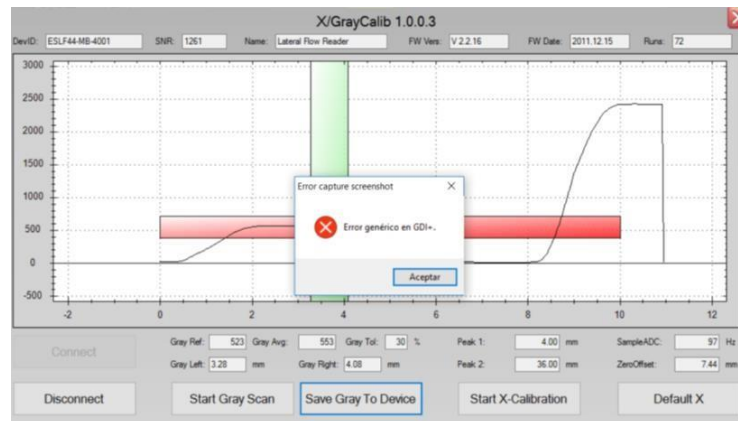


Figura 25. Software para la calibración del equipo

- Se procede a realizar la calibración con la lectura de la tira de calibración realizada dando un click en el botón **Start X-Calibration**, el equipo genera un error por default en captura de pantalla debido a que no tiene una carpeta para almacenar dichas imágenes de las curvas de calibración generadas, se da un click en aceptar.

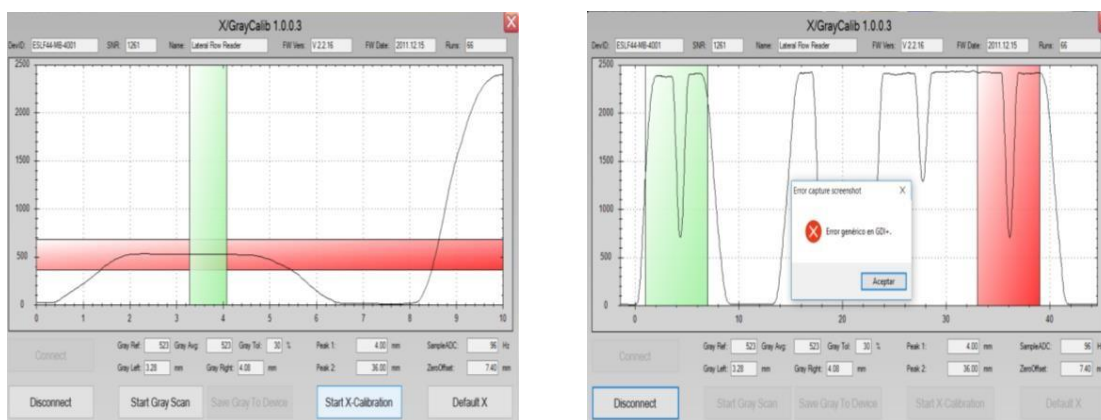


Figura 26. Software para la calibración del equipo

- Automáticamente aparecerá una ventana con los parámetros a Calibrar se da click en **Si** para modificarlos.
- El equipo mostrara que generara otra corrida de calibración automática previo a modificar parámetros de la calibración se da un click en **aceptar**.
- Se mostrará una ventana con los picos de lectura obtenidos en la corrida de calibración realizada se da un click en **aceptar**.

- Se generará otra corrida de calibración con la lectura de la tira de calibración realizada dando un click en el botón **Start X-Calibration** para verificar que se hayan encontrado todas las calibraciones disponibles.

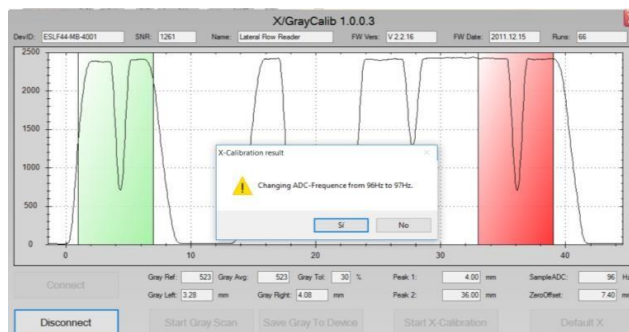


Figura 27. Software para la calibración del equipo

Nota: El equipo de estar totalmente calibrado mostrará una ventana como la siguiente

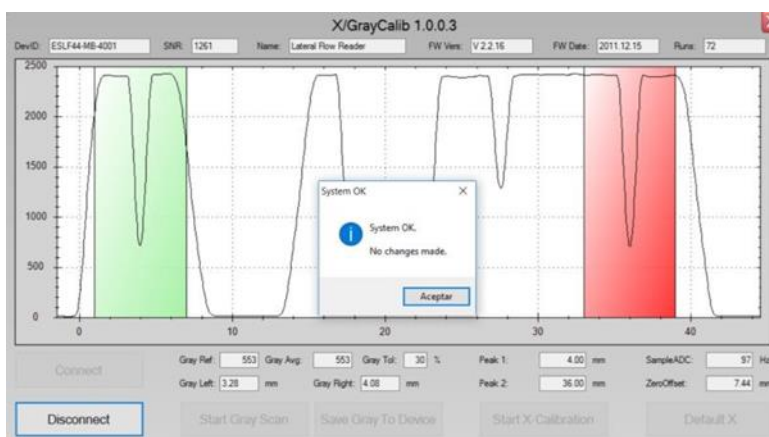


Figura 28. Software para la calibración del equipo

El análisis de las muestras en el laboratorio LiVEXLAB fue el siguiente:

- Pasos a realizar para la determinación de aflatoxinas en la leche cruda



Figura 29. Toma de muestras

En la figura 29 se observa la toma de muestras en frascos de plástico de los centros de acopio de las provincias en estudio (AZUAY, PICHINCHA, CHIMBORAZO, COTOPAXI Y TUNGURAHUA), estos se recogieron de los tanques fríos de los centros de acopio y fueron transportados al laboratorio en un cooler para no romper la cadena de frío y evitar que se dañe la muestra.

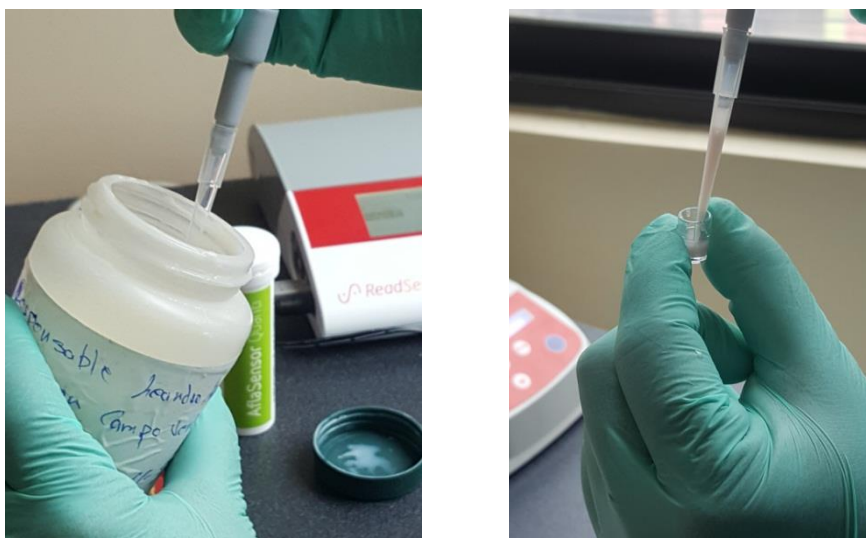


Figura 30. Toma de muestras

En la figura 30 se observa la toma de muestra de cada centro de acopio con una pipeta para que esta sea colocada en los micropocillos y proceder a la lectura de los resultados.



Figura 31. Equipo

En la figura 31. se observan los equipos que fueron utilizados para tener el resultado sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche cruda de vaca, el primer paso para que el lector funcione es colocar los micropocillos con la leche cruda de vaca en el equipo y finalmente colocar la tirilla en los micropocillos para obtener el resultado.

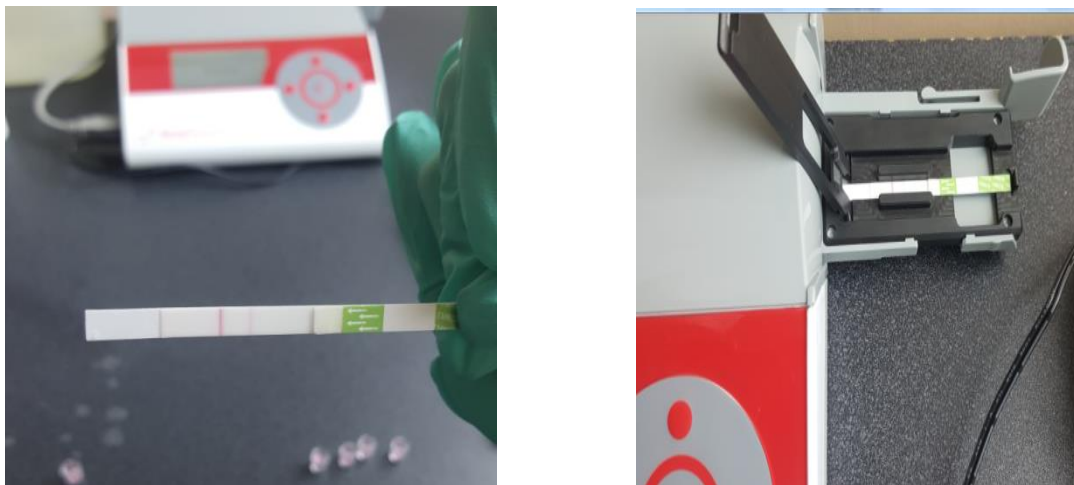


Figura 32. Resultado sobre la incidencia de aflatoxinas

En la figura 32 se observa el resultado cualitativo, esto quiere decir que solo indica si es positivo o negativo el resultado, el laboratorio posee un programa para determinar cuantitativamente la tirilla, estos resultados se observan en la computadora.

| Parameter | Result | Ratio | Value |
|-----------|----------|-------|--------|
| CONTROL | VALID | 0 | 184,34 |
| AFLA | 32.2 ppt | 2,33 | 430,16 |

Sample ID: MUESTRA 1
 Test Name: AFLA_MK_V9 User ID: Pequeñas
 Prod ID: K041_13345K Lot ID: LECHE1
 Date: 17/11/2017 Time: 20:01:00
 Run No.: 19 Device: Lateral Flow Reader (1939)
Result: VALID

Figura 33. Resultado cualitativo sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche.

En la figura 33 se observa el resultado de la lectura de la tirilla, esto significa que la leche analizada tiene aflatoxina M, sin embargo se encuentra en el límite permitido (0,5 ppb) de la norma INEN 009:2012

4.5. Metodología de la Encuesta

Los criterios que se tomaron para seleccionar la muestra fueron:

- Se debe diseñar la muestra que constituya una representación a pequeña escala de la población a la que pertenece.

Con estos criterios el tipo de muestreo fue probabilístico simple ya que se escogió al azar a las personas que realizaron la encuesta, además que se puede calcular un error muestral y la elección de cada unidad muestral es independiente de las demás (Hallo, 2016)

En cada centro de acopio de las cinco provincias (AZUAY, PICHINCHA, COTOPAXI, CHIMBORAZO y TUNGURAHUA), se escogió el tamaño de la población de 250 personas y una muestra aleatoria simple de $n=5$

Como se muestra en la tabla de los anexos de las personas que realizaron la encuesta, con una muestra aleatoria simple, finalmente se buscó en la tabla de números aleatorios para determinar este porcentaje (Jach, 2015)

Tabla 8.
Números Aleatorios

| COLUMNA FILA | 1-5 | 6-10 |
|-----------------|-------|--------|
| 1 | 10480 | 125011 |

Tomado de: Jach, 2015

En la tabla 8 se observa la tabla de números aleatorios, con esta tabla se definió quienes hicieron la encuesta de las 250 personas, es decir 50 personas

por provincia estudiada (AZUAY, PICHINCHA, COTOPAXI, CHIMBORAZO y TUNGURAHUA), en este caso, estas fueron las escogidas para realizar la encuesta.

El muestreo poblacional fueron personas campesinas, que han estudiado la primaria y pocos el bachillerato, cabe mencionar que algunas asociaciones están compuestas por comunidades indígenas de los cuales los jóvenes son universitarios, mientras que los adultos mayores no han tenido educación, como consecuencia de esto, las personas que se dedican a la producción de leche desconocen los efectos externos e internos que puedan contaminar la leche en su totalidad.

La metodología que se utilizó para realizar la encuesta en las asociaciones beneficiarias de centros de acopio de leche, fue en primer lugar el desarrollo del constructo que es la variable hipotética formada por un conjunto de respuestas o comportamientos componentes que se considera que están relacionados, además se identificó la totalidad de la subjetividad (Hallo, 2016).

Las preguntas formuladas fueron cerradas, esto quiere decir que el encuestador pone ejemplos de respuestas para que estas sean contestadas, el criterio de escala fue de escala asociativa ya que asocia una opción con cada proposición evaluada, además la confiabilidad en la medición se utilizó la medida de prueba y reprobación, esto quiere decir que se midió repetidamente a los encuestados para comprobar que existía similitud en sus respuestas, por esta razón se realizó dos veces la encuesta a la misma población de estudio (Hallo, 2016).

Se realizaron 5 preguntas debido a la distancia de centro de acopio de cada provincia, lo cual se encuentran muy lejos el un centro de acopio por otro, además los productores tienen poco tiempo para responder la encuesta ya que su trabajo es en el campo y necesitan cuidar de los animales y los sembríos. Con las encuestas realizadas se conocerá el nivel de conocimiento de cada uno de los productores de leche sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche,

esto nos servirá para formar un criterio y realizar estrategias para mejorar la calidad e inocuidad de la leche, además para asegurar al consumidor que está consumiendo alimentos sin riesgo para la salud.

5. RESULTADOS

5.1. Resultados de la Encuesta sobre Aflatoxinas en leche

- **¿Qué piensa Ud. que es una aflatoxina?**

a.- Un microorganismo patógeno que afecta a la salud del animal

b.- un metabolito producido por hongos que afecta a la salud del animal

c.- no sé qué es una aflatoxina

Con respecto a los resultados obtenidos en la pregunta uno, las 250 personas encuestadas desconocían el significado de aflatoxina, puesto que el 48% de las personas respondieron el literal c, esto representa 118 personas de 250 que fueron encuestadas en las cinco provincias del estudio (AZUAY, PICHINCHA, COTOPAXI, CHIMBORAZO y TUNGURAHUA). El 22% del grupo poblacional estudiado respondieron que la aflatoxina es un microorganismo patógeno que afecta a la salud del animal, con esto se concluye que el 70% de las personas desconocen el significado de esta toxina ya que las aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por hongos que afectan a la salud del animal, solo el 30% de los encuestados respondieron de manera correcta.

Si se toma de referencia la primera pregunta para analizar el nivel de conocimiento se concluye que este tipo de conocimiento es difícil de entender para las personas con un nivel de educación avanzada ya que todavía no existe una extensa información al respecto, entonces para personas con menos educación las aflatoxinas aún son un mito.

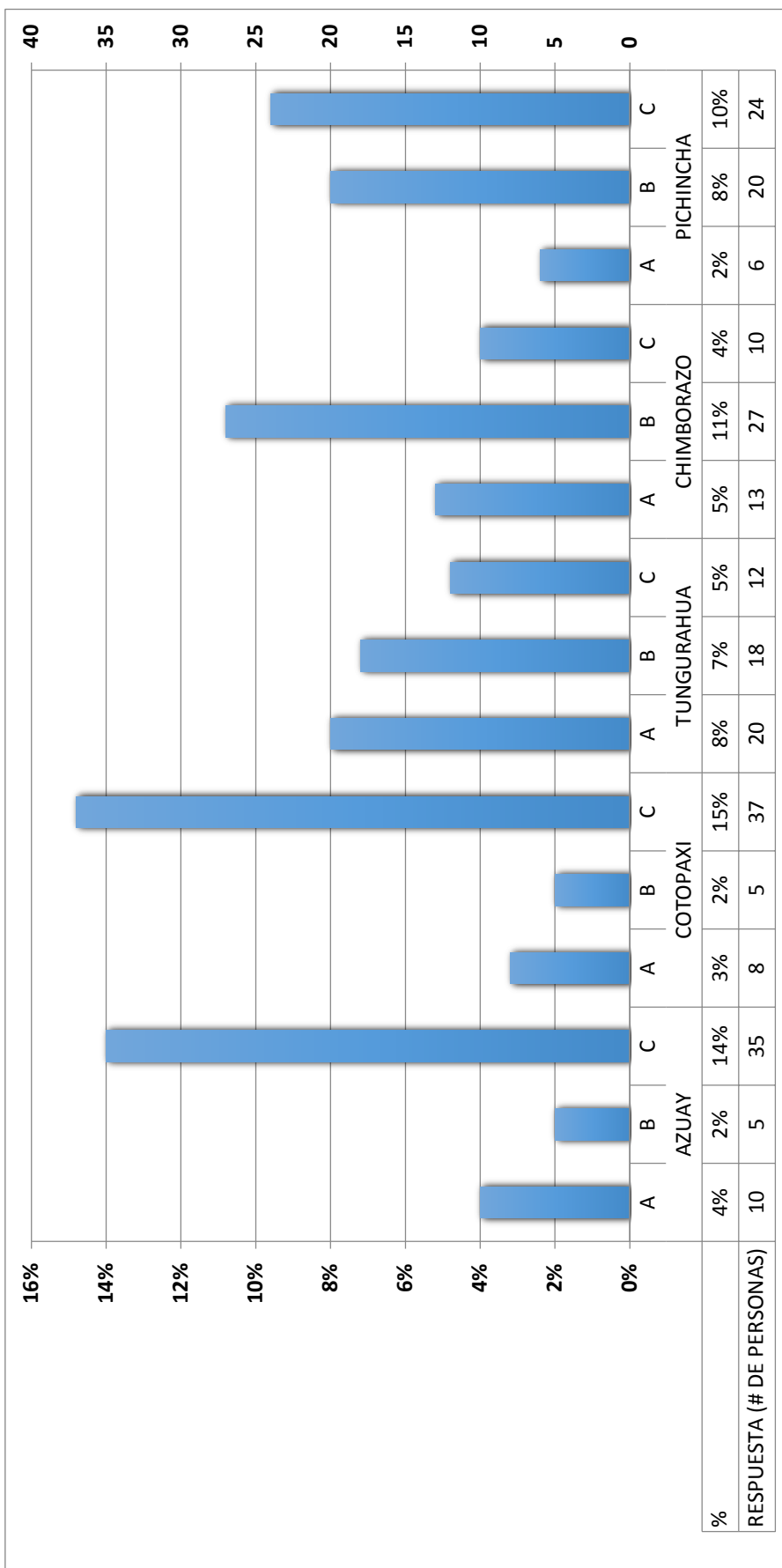


Figura 34. Respuesta de la primera pregunta de la encuesta, ¿Qué piensa Ud. que es una aflatoxina?

¿Por qué razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en el alimento?

- a.- Mal almacenamiento del alimento
- b.- porque el alimento se caducó
- c.- por el mal proceso de higienización

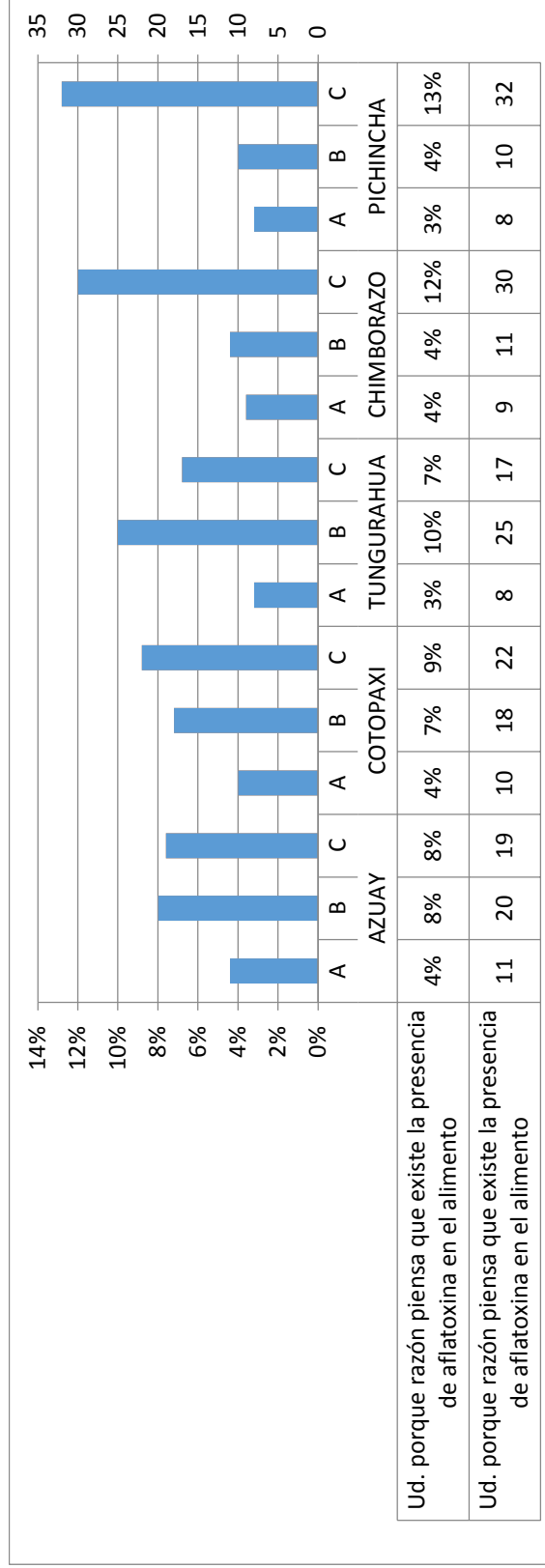


Figura 35. Respuesta de la segunda pregunta de la encuesta, ¿Por qué razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en el alimento?

En la figura 35 se encuentra los resultados de la pregunta dos de la encuesta realizada a cada provincia estudiada, tal es así que:

Del total de la muestra poblacional estudiada, solo 46 personas de los encuestados respondió el literal a, esto representa el 18%, con respecto al literal b donde explica que la presencia de aflatoxina en el alimento se da porque el alimento se caducó, respondieron 84 personas , que representa el 33%, y las 120 personas encuestadas respondieron el literal c, donde indica que la presencia de aflatoxina en el alimento es por el proceso de mala higienización, lo cual representa el 49% del total encuestado.

Si bien es cierto que los productores de leche desconocen esta información se puede concluir que en la provincia de Azuay y Cotopaxi los resultados fueron similares, se puede concluir que el nivel de conocimiento de estas dos provincias son similares.

En las provincias de Tungurahua, Chimborazo y Pichincha los resultados son muy dispersos, sin embargo la mayoría de encuestados respondieron que la presencia de aflatoxinas presentes en los alimentos es por causa del mal proceso de higienización.

Cabe recalcar que el resultado de estas tres provincias proviene de la capacitación que se ha dado sobre el proceso de higienización lo cual los productores asemejaron esta pregunta por el conocimiento que adquirieron.

- Ud. sabía que las aflatoxinas pueden estar presentes en la leche?

a.- SI

b.- NO

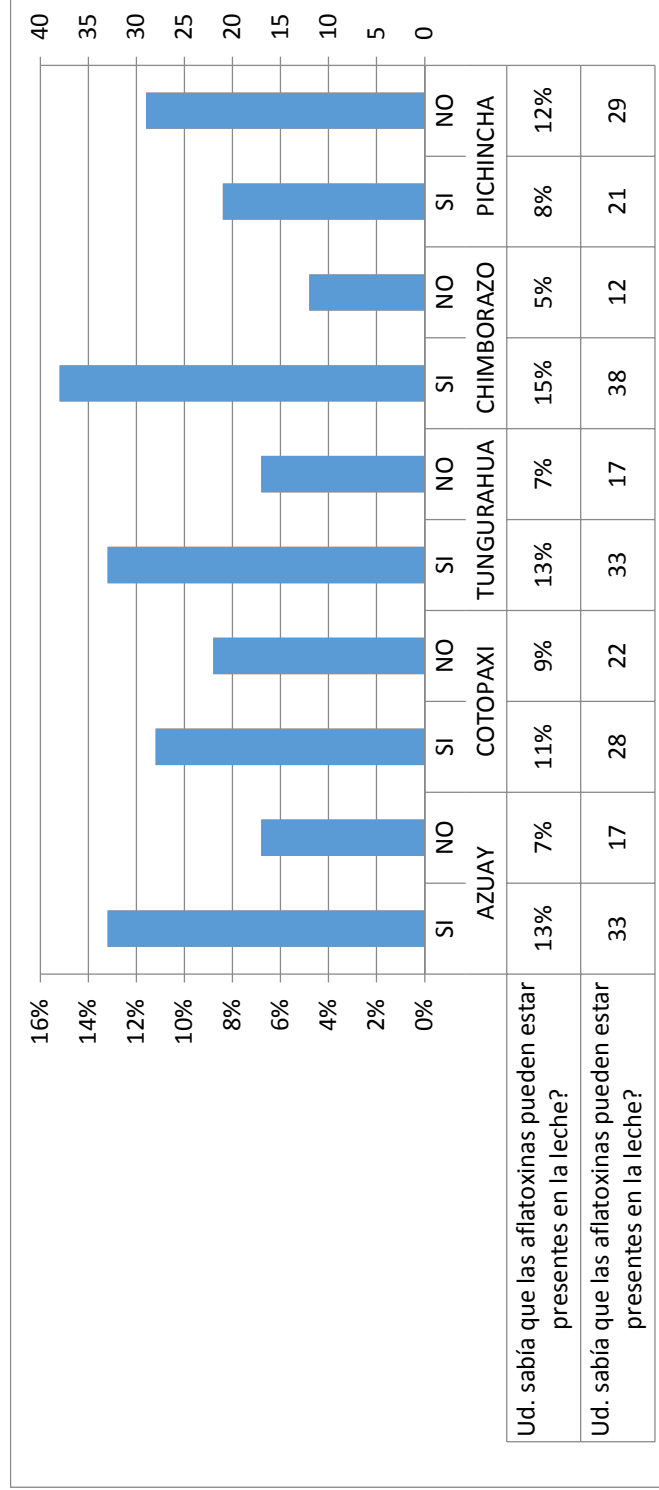


Figura 36. Respuesta de la tercera pregunta de la encuesta, Ud. sabía que las aflatoxinas pueden estar presentes en la leche?

En la figura 36 se encuentra los resultados de la pregunta tres de la encuesta realizada, la cual corresponde si los productores están conscientes de la presencia de aflatoxina en la leche de vaca, el 60% de los encuestados respondieron que si tenían conocimiento respecto al tema y un 40% desconocían.

Este resultado de la pregunta tres de la encuesta es incongruente, puesto que el 70% de los encuestados en la pregunta uno desconocían el significado de aflatoxina, sin embargo los productores tienen el conocimiento que la leche puede contaminarse con microorganismos patógenos, lo cual ellos pueden confundir la aflatoxina con un microorganismo patógeno.

Las capacitaciones del Ministerio de agricultura y Ganadería se basan únicamente en las Buenas Prácticas de Ordeño, Buenas Prácticas de Manufactura y la Administración de los centros de acopio, mas no de la utilización de la norma INEN 009:2012 Leche cruda y Requisitos, además esta norma no se ha socializado para estos actores de la cadena.

En las provincias de Azuay, Tungurahua y Chimborazo los encuestados en su mayoría respondieron que conocían que las aflatoxinas pueden estar presentes en la leche sin embargo el 60% de la leche de mala calidad proviene de estas provincias. (MAG, 2016).

- **Por qué razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en la leche cruda de vaca**

- a.- por que el animal ingirió alimento contaminado por hongos
- b.- por que el animal ingirió alimento contaminado por microorganismos patógenos
- c.- ninguna de las anteriores



Figura 37. Respuesta de la Cuarta pregunta de la encuesta, ¿Por qué razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en la leche cruda de vaca?

En la figura 37 se muestra los resultados de la pregunta cuatro de la encuesta realizada, los encuestados responden el literal a, el cual aducen que la presencia de aflatoxina en la leche cruda es porque el animal ingirió alimento contaminado por hongos, lo cual los productores acertaron en la respuesta en un porcentaje del 38% sin embargo los encuestados no reconocen que la aflatoxina es un metabolito producido por hongos.

El 25% de la muestra poblacional respondió que la leche tiene presencia de aflatoxina debido a que el animal ingirió alimentos contaminados por microorganismos patógenos y el 22% no sabía del tema.

Se concluye ue los encuestados que respondieron el literal b y c, desconocen del tema, ya que representa el 47% de la población estudiada.

- Sabía Ud. Que el ser humano al ingerir leche con aflatoxinas causa cáncer hepático.

a.- SI

b.- NO

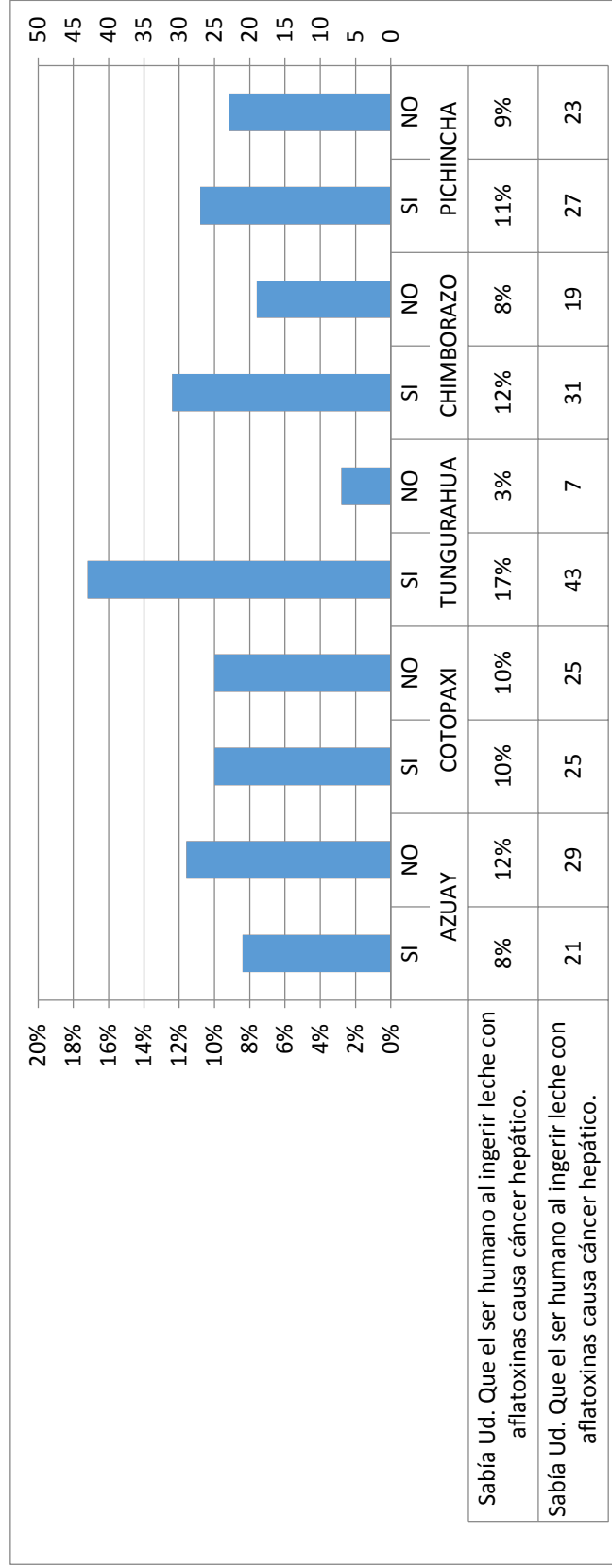


Figura 38. Respuesta de la Quinta pregunta de la encuesta, Sabía Ud. Que el ser humano al ingerir leche con aflatoxinas causa cáncer hepático.

En la figura 38 muestra los resultados de la pregunta 5 de la encuesta realizada, donde se identificó que el 58% de los productores encuestados respondieron que si conocían del tema y el 42% no.

Análisis global de la primera encuesta

En la encuesta los resultados obtenidos demostraron incoherencias en las respuestas de los productores. Con este resultado no es posible obtener un conclusiones confiables sobre el conocimiento de los productores acerca de las aflatoxinas presentes en la leche, ya que, por ejemplo, en la pregunta 1 la mayoría de productores demostraron desconocimiento sobre el significado de aflatoxina y sin embargo en las siguientes preguntas respondieron las causas del por qué existen aflatoxinas en la leche sin saber qué significa.

Cabe recalcar que las personas que realizaron esta encuesta la mayoría tienen educación básica, es decir solo acabaron la escuela y son personas que se dedican al trabajo en el campo, estos productores tienen la idea que la leche se puede contaminar, sin embargo no saben la causa ni el efecto que esto conlleva.

Por tal motivo, se consideró la necesidad de realizar otra encuesta, donde las preguntas sean lo más entendibles y simples posible para obtener un resultado real de la situación de los pequeños productores de leche en las cinco provincias objeto del estudio, para mejorar la inocuidad y calidad de la leche en el Ecuador. Con estos resultados es necesario buscar oportunidades de mejora para que el sector lácteo ecuatoriano compita internacionalmente con calidad e inocuidad, además de que pueda contar con la oportunidad de exportación del producto.

5.2. Resultados de la segunda encuesta a los pequeños productores de leche cruda.

1.- ¿Ud. sabía que la leche puede contaminarse con hongos procedentes de la alimentación de las vacas?

SI

NO

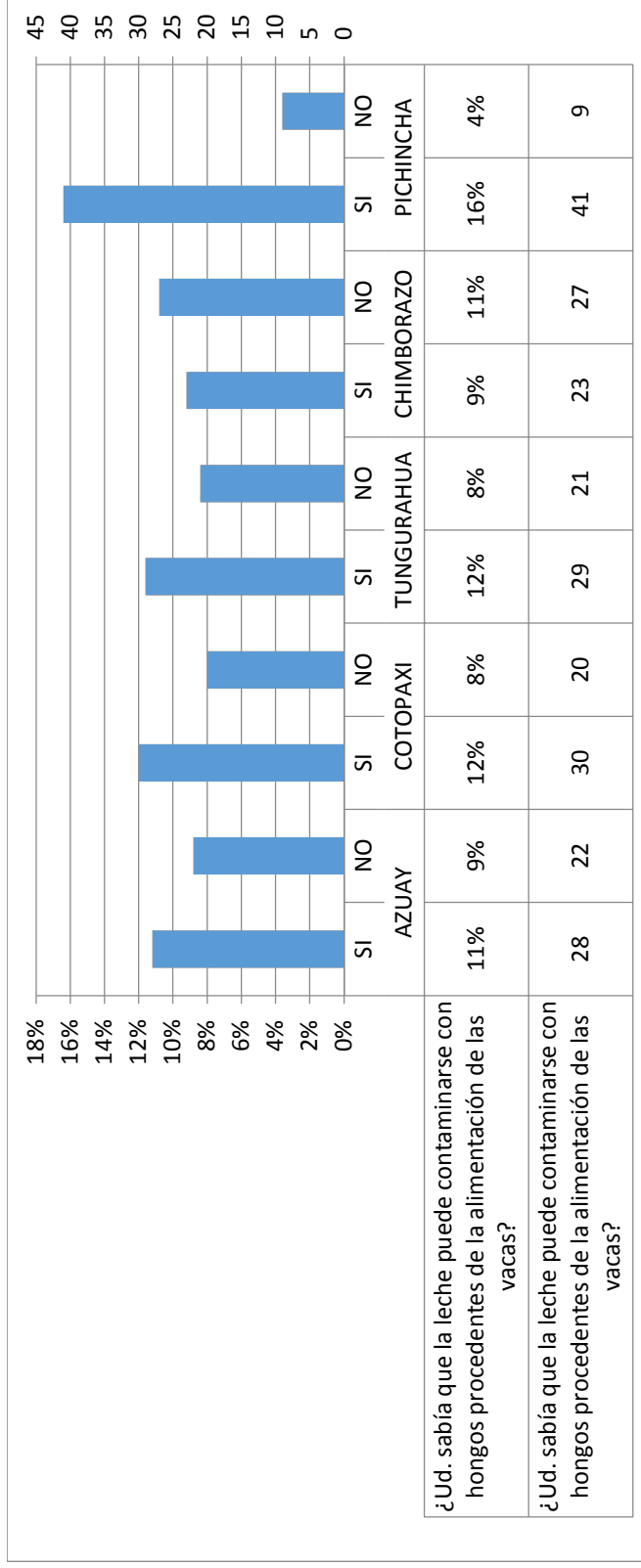


Figura 39. Respuesta de la primera pregunta de la encuesta, ¿Ud. sabía que la leche puede contaminarse con hongos procedentes de la alimentación de las vacas?

En la figura 39 muestra la respuesta de la pregunta número uno de la encuesta realizada, en esta pregunta los encuestados respondieron que la leche puede contaminarse con hongos procedentes a la alimentación de las vacas, porcentaje de aceptación de esta pregunta representó el 60% de la población estudiada.

El 40% restante desconocía este criterio, especificando la respuesta por provincia, la de Chimborazo fue la única que la mayoría de los productores no sabían la información que se preguntó.

Si bien es cierto que el significado de aflatoxina y la procedencia de este contaminante es muy complejo, la provincia de Pichincha debido a capacitaciones realizadas por el Ministerio de Agricultura y Ganadería pudo contestar correctamente esta pregunta.

Cabe recalcar que la Provincia de Chimborazo tiene la mayor población indígena del Ecuador, según el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos INEC, en el último censo realizado en el año 2010, La provincia de Chimborazo cuenta con 458.581 personas que se identificaron como indígenas, el porcentaje de analfabetismos de esta comunidad es de 13,5%. En la provincia de Cotopaxi el nivel de analfabetismos es de 13,6 y la provincia de Tungurahua posee el 7,5%, por este motivo los productores de esta zona del Ecuador no tienen el conocimiento de este tipo de información, (INEC, 2010).

2.- ¿Cuáles piensa Ud. que son los problemas para la salud humana que pueden causar las leches contaminadas por hongos?

- A.- Causan salmonelosis por la bacteria *Salmonella*
- B.- Causan Brucelosis por la bacteria *Brucella mellitensis*
- C.- Daños por Aflatoxinas causadas por hongos
- D.- Desconozco

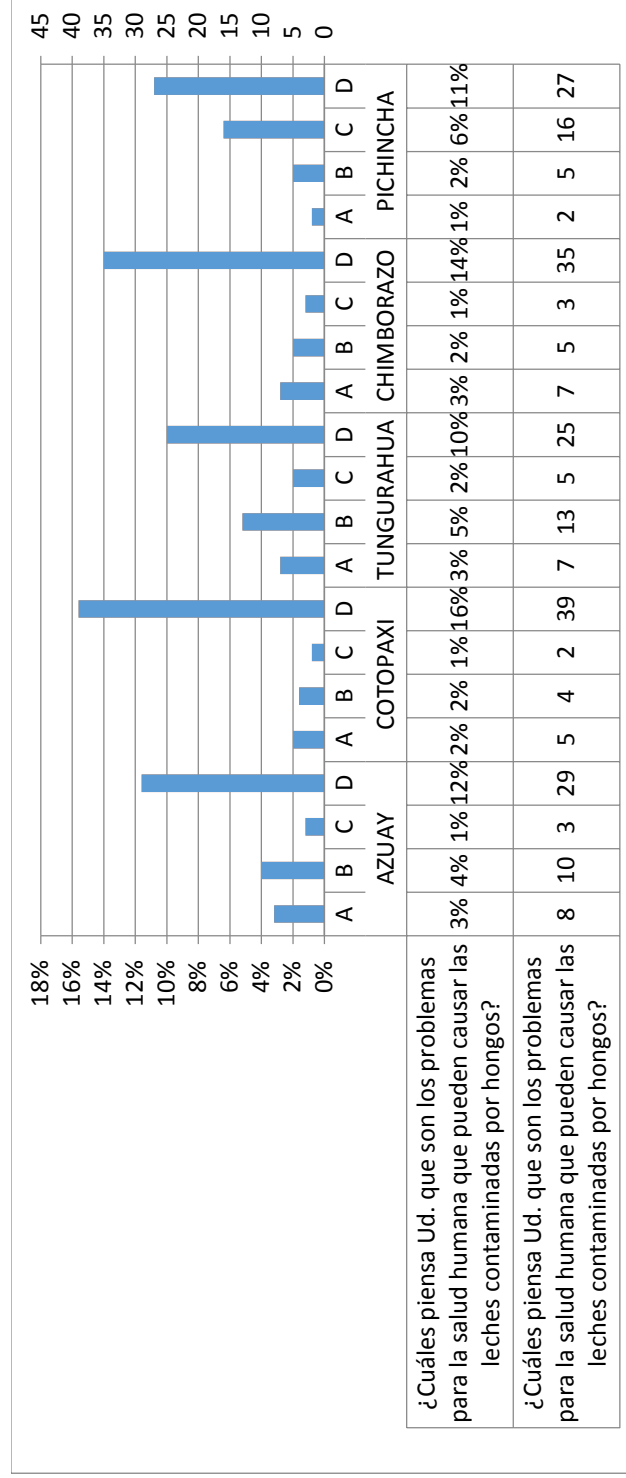


Figura 40. Respuesta de la segunda pregunta de la encuesta ¿Cuáles piensa Ud. que son los problemas para la salud humana que pueden causar las leches contaminadas por hongos?

En la figura 40 muestra la respuesta de la primera pregunta de la segunda encuesta, donde se preguntaba si los productores conocían los problemas que pueden causar las leches contaminadas por hongos a los seres humanos, pues el 63% desconocía este tipo de información, sin embargo el 26% respondieron el literal a y b, lo cual estas respuestas no son correctas, solo el 11% de los encuestados respondieron correctamente.

En conclusión el 74% de los encuestados desconoce los problemas que causan las leches contaminadas por hongos en el ser humano tomando en cuenta las respuestas erradas que contestaron los productores, esto se debe a que el Ministerio de Agricultura y Ganadería no capacita sobre este tema, por esta razón es necesario que la institución competente realice capacitaciones con nuevos temas.

Cabe recalcar que cada una de las enfermedades mencionadas en las opciones de respuesta para esta pregunta está relacionada con enfermedades que afectan al ser humano al momento de ingerir leche contaminada por hongos.

3.- ¿Qué es una Aflatoxina?

- A.- Un microorganismo patógeno que afecta a la salud del animal
- B.- Un metabolito producido por hongos que afecta a la salud del animal
- C.- No sé qué es una aflatoxina

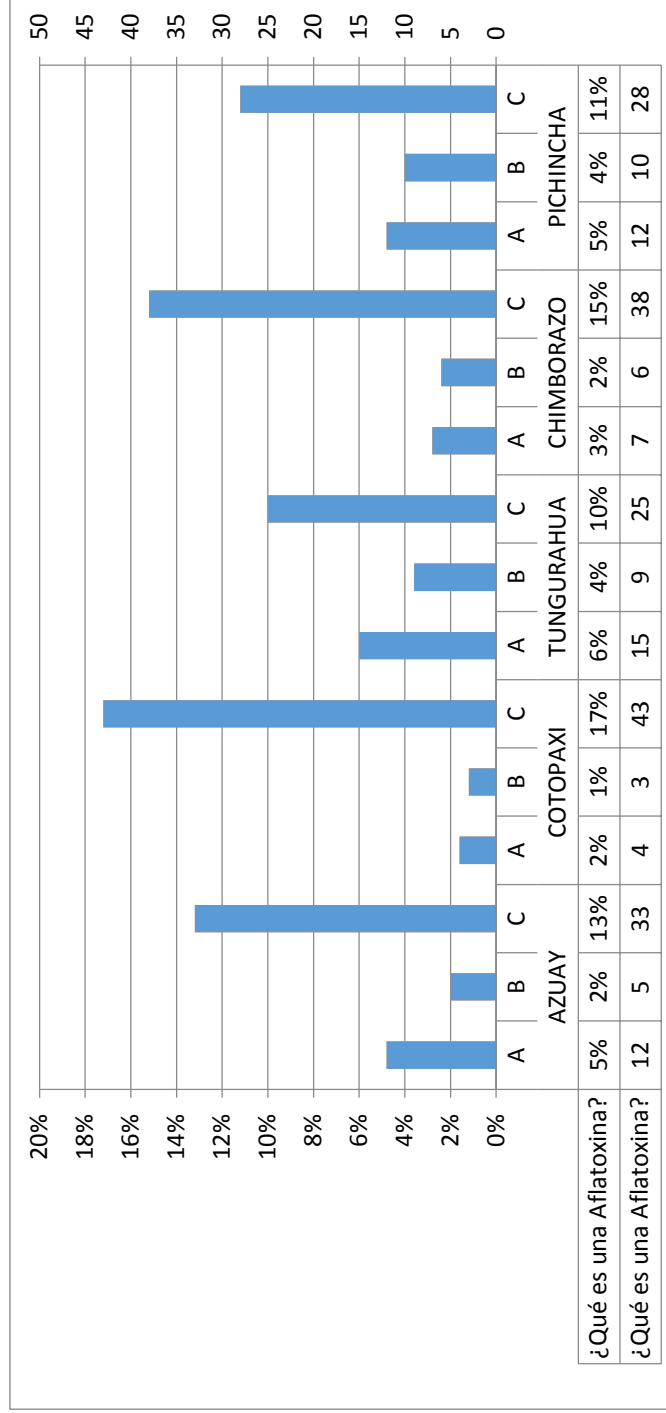


Figura 41. Respuesta de la tercera pregunta de la encuesta ¿Qué es una Aflatoxina?

En la figura 41 muestra la respuesta de la tercera pregunta, donde pregunta cuál es el significado de aflatoxina, el 66% de los encuestados respondieron que desconocen el significado de esta toxina.

El 21% de los encuestados respondieron que la aflatoxina es un microorganismo patógeno que afecta a la salud del animal, se sabe que los productores han respondido esto debido a las capacitaciones que se han dado como Ministerio de Agricultura y Ganadería sobre microorganismos patógenos que contaminan a la leche, por este motivo los productores relacionaron que la aflatoxina es un microorganismo patógeno, lo cual es la respuesta incorrecta, esto permite definir que el 87% de los encuestados desconoce el significado de aflatoxina.

A penas el 13% de los encuestados contestó el literal b, que la aflatoxina es un metabolito producido por hongos que afecta a la salud del animal lo cual es correcto.

4.- ¿Cuál cree Ud. que es la causa que pueda provocar la presencia de aflatoxinas en la leche?

A.- Los animales ingirieron alimento mal almacenado o dañado

B.- Por no enfriar la leche tras el ordeño.

C.- Desconozco la causa.

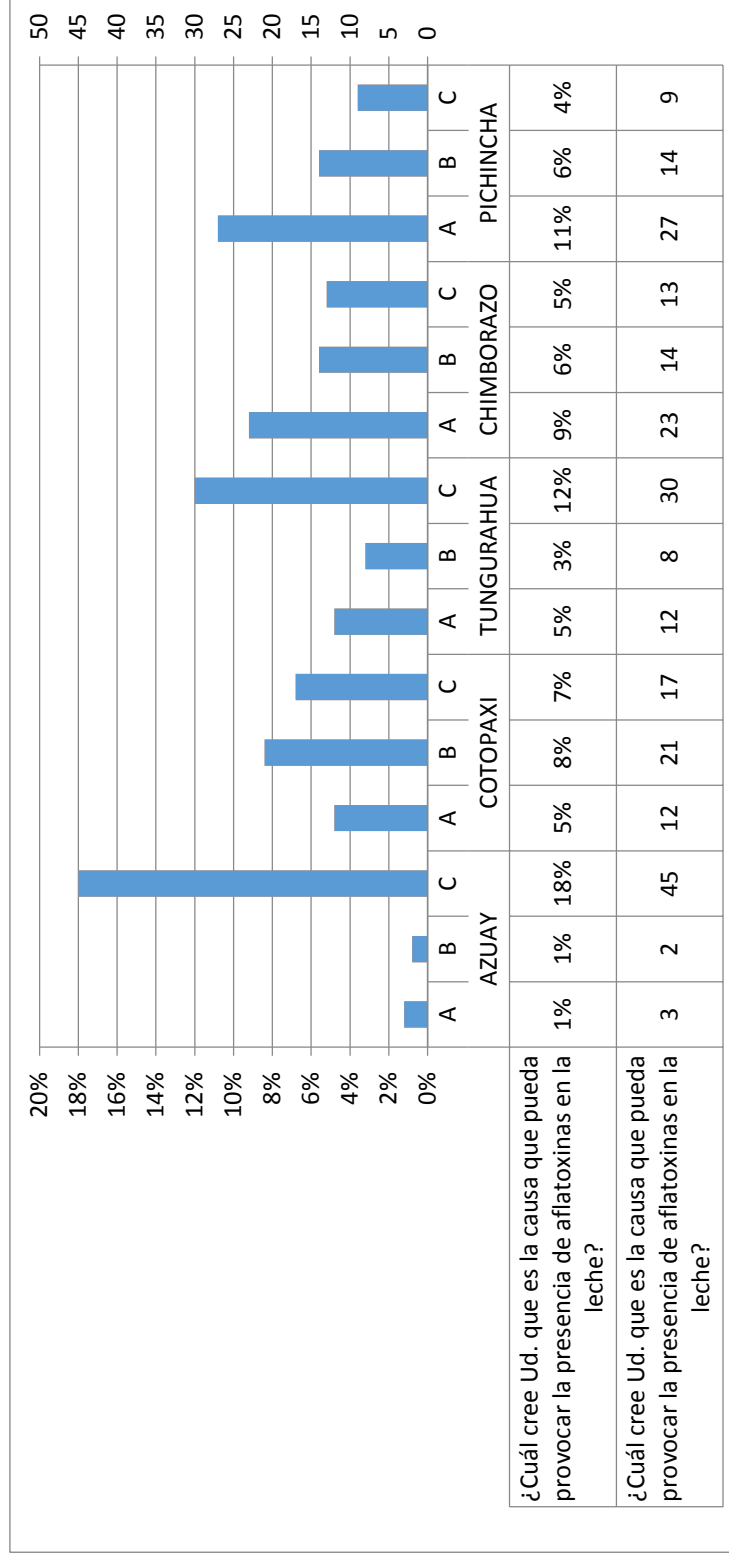


Figura 42. Respuesta de la Cuarta pregunta de la encuesta ¿Cuál cree Ud. que es la causa que pueda provocar la presencia de aflatoxinas en la leche?

En la figura 42 los encuestados no tenían claro cuál era la causa que puede provocar la presencia de aflatoxinas en la leche, ya que el 46% de los productores desconocían la causa, el 31% de los encuestados respondieron que la causa por la cual existía la presencia de aflatoxina en la leche era porque los animales ingirieron alimento mal almacenado o dañado, mientras que el 23% respondieron que la causa del por qué existía aflatoxina en la leche era por no enfriar la leche tras el ordeño.

En conclusión el 69% de los encuestados desconocía este tipo de información, puesto que el 46% respondieron el literal b y c, lo cual no era correcto, es necesario capacitar a los productores sobre las Buenas Prácticas de Manufactura y Almacenamiento puesto que la personas que trabajan en el campo no poseen estudios avanzados para conocer este tipo de contaminaciones.

5.- ¿Ud. conoce el daño que puede causar las aflatoxinas de la leche en la salud humana?

- A.- Produce un efecto beneficioso sobre la salud.
- B.- Produce la enfermedad de la diabetes.
- C.- Produce cáncer hepático.
- D.- Desconozco el efecto

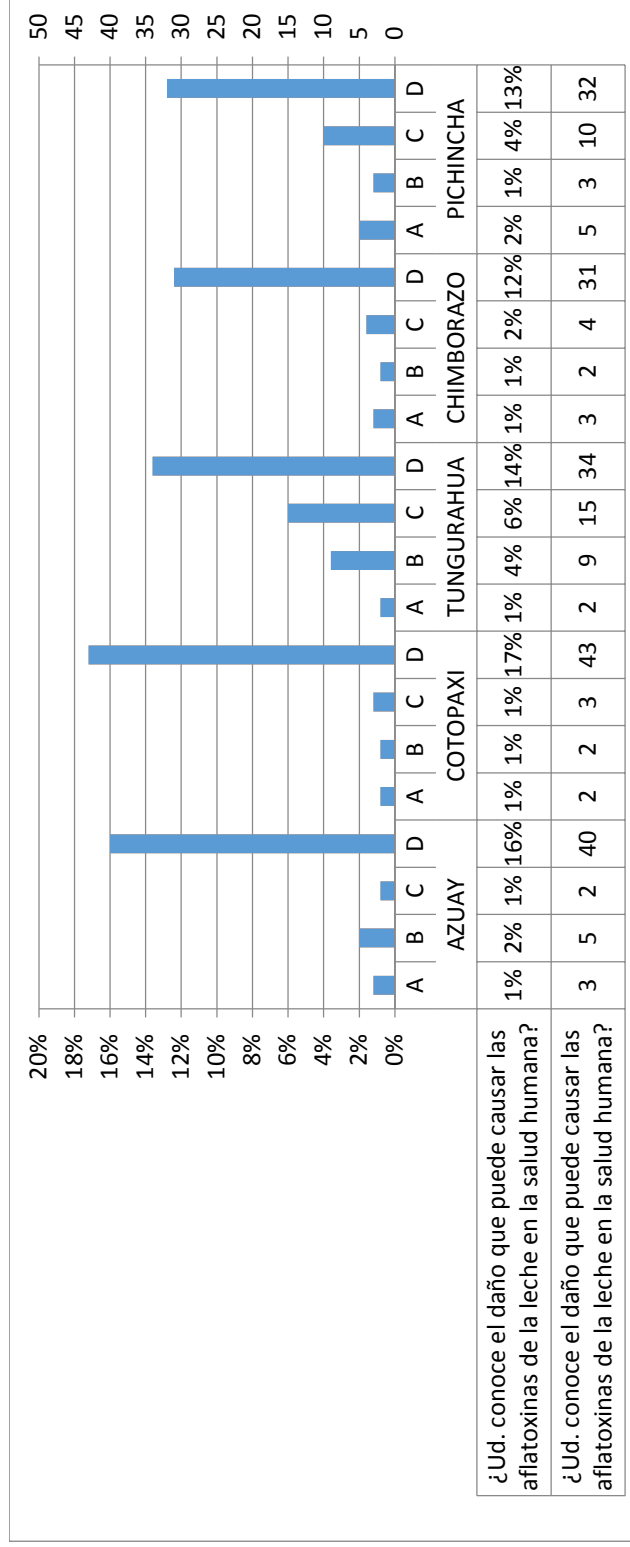


Figura 43. Respuesta de la Quinta pregunta de la encuesta ¿Ud. conoce el daño que puede causar las aflatoxinas de la leche en la salud humana

En la figura 43 el 72% de los encuestados respondieron que desconocían el daño que puede causar las aflatoxinas de la leche en la salud humana, tomando en cuenta que respondieron la opción d.

El 6% de los encuestados respondieron que la aflatoxina causa en la salud humana beneficios, sin embargo esta respuesta no es la correcta, es necesario capacitar a los productores de este tipo de contaminación en la leche y el efecto que puede haber en el ser humano.

El 9% de los encuestados respondieron que la aflatoxina en la salud humana causa la enfermedad de diabetes, esta respuesta es incorrecta.

Solo el 14% de los encuestados respondió correctamente ya que la aflatoxina causa cáncer hepático en la salud humano.

En conclusión el 87% de la población en estudio desconoce que puede causar la aflatoxina en la salud humana, este porcentaje se dio debido a que los encuestados que respondieron el literal a, b y d desconocían esta información ya que respondieron erróneamente.

Análisis de la segunda encuesta

La segunda encuesta se realizó en las 5 provincias con mayor producción de leche en el Ecuador, es decir para la interpretación de los resultados tenemos que considerar a cada provincia como el 20% de la muestra. Se encuestaron a 50 personas por cada provincia es decir un total de 250 personas representan el 100% de la muestra.

En la pregunta número uno, el 60% de los productores encuestados respondieron que si sabían que la leche puede contaminarse con hongos procedentes de la alimentación de las vacas, sin embargo el 40% restante desconocía que la leche puede contaminarse con hongos, además la provincia de Chimborazo tuvo un mayor desconocimiento a este tipo de contaminación en la leche.

En la pregunta dos sobre Cuáles piensa Ud. que son los problemas para la salud humana que pueden causar las leches contaminadas por hongos, los resultados en todas las provincias fueron similares ya que el 63% de los encuestados no tenían claro que podía causar la leche contaminada por hongos en la salud humana, sin embargo los productores de la provincia de Cotopaxi tuvieron un desconocimiento mayor en relación a los encuestados de las otras provincias.

En la respuesta número tres, la cual se refiere a que es una aflatoxina, el 66% de productores de las cinco provincias encuestadas desconocían su significado, el 21% de los productores respondieron que la aflatoxina es un microorganismo patógeno que afecta a la salud del animal, lo cual no es correcto y el 13% respondieron correctamente.

Cabe mencionar que la población estudiada proviene del sector rural del Ecuador y carece de estudios, ya que son personas campesinas que se dedican al manejo de la agricultura y ganadería empíricamente sin un conocimiento avanzado.

En la pregunta cuatro; cuál es la causa que pueda provocar la presencia de aflatoxinas en la leche, el 46% desconocía la causa que puede provocar la presencia de aflatoxina en leche, el 24% de los productores determinó que la causa que puede provocar la aflatoxina en leche es por no enfriar la leche tras el ordeño, sin embargo el 30% contestó correctamente. Cabe mencionar que la provincia de Azuay tiene mayor desconocimiento en relación a las otras provincias.

La provincia de Pichincha, los encuestados respondieron el ítem A, la cual se refiere a que los animales ingirieron alimento mal almacenado o dañado, esto es correcto, lo que se lleva a concluir, que en la provincia de Pichincha hubo mayor capacitación hacia los productores.

En la pregunta cinco, la cual habla sobre el daño que puede causar las aflatoxinas de la leche en la salud humana, el resultado fue que el 72% de los productores encuestados en las cinco provincias desconocían el daño que puede causar las aflatoxinas en la salud humana, el 14% de los encuestados respondieron que las aflatoxinas en la salud humana producen cáncer hepático, lo cual es correcto y el 14% restante respondió incorrectamente ya que pensaron que las aflatoxinas en la salud humana produce un efecto beneficioso a la salud y produce diabetes.

El resultado general de la encuesta indica que existe una desinformación frente al significado de las aflatoxinas, causas y efectos de este metabolito y el daño que podría causar al ser humano si este se ingiere con aflatoxina.

Si bien es cierto que el Ministerio de Agricultura y Ganadería a través de la Subsecretaría de Ganadería ha beneficiado a 2.505 pequeños productores por medio de capacitaciones en el manejo animal bovino y prácticas de higiene en centros de acopio de leche (MAG, 2017), se concluye que no es suficiente el trabajo realizado y que se deberá incluir en el proyecto de Ganadería Sostenible del Ministerio de Agricultura y Ganadería estrategias para fortalecer el sector.

5.3. Resultados cualitativos sobre la presencia de aflatoxinas

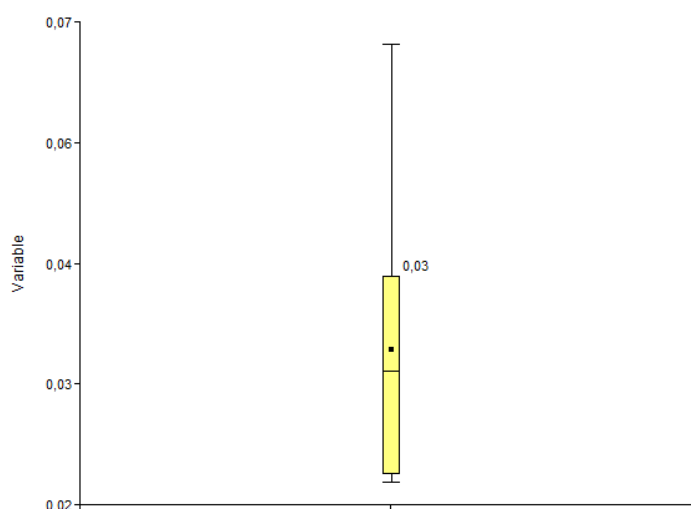


Figura 44. Variable de resultados cualitativos (Box-Plot variable)

Tomado de: Programa INFOSTAT

El gráfico de caja o Box Plot indica los grupos de datos numéricos, el valor mínimo y valor máximo de los resultados realizados, esto permite visualizar que los datos obtenidos se encuentran dentro de la media y que la presencia de aflatoxinas en la leche en las cinco provincias estudiadas se encuentran dentro del límite permitido por la norma INEN vigente en el Ecuador 009:2012 leche y requisitos, sin embargo en la norma de calidad de la Unión Europea no cumplimos con el límite mínimo de aflatoxinas para entrar en el mercado, cabe mencionar que este estudio estuvo dirigido a pequeños productores de la zona.

5.4. Estadísticos descriptivos:

Tabla 9.

Estadística descriptiva. Resultados de la presencia de aflatoxina M1 a nivel nacional.

| Muestra | n | Media | DE | Varianza | EE | CV | Min | Max | Mediana |
|----------|-----|--------|--------|----------|--------|--------|-------|------|---------|
| Nacional | 100 | 0,0344 | 0,0138 | 0,002 | 0,0014 | 40,273 | 0,019 | 0,07 | 0,032 |

Dentro de los datos analizados y resultados obtenidos se demostró que la media es de 0,034 ppb en las provincias de Pichincha, Azuay, Chimborazo, Cotopaxi y Tungurahua, con un mínimo de 0,019 ppb y un máximo de 0,07 ppb.

5.5. Estadística descriptiva por provincia

Tabla 10.

Estadística descriptiva. Resultados de la presencia de aflatoxina M1.

| Provincia | n | Media | DE | Varianza | EE | CV | Min | Max | Mediana |
|------------|----|---------|---------|----------|---------|----------|-------|-------|---------|
| Azuay | 12 | 0,03258 | 0,00935 | 0,00009 | 0,0027 | 28,68475 | 0,019 | 0,045 | 0,0335 |
| Chimborazo | 26 | 0,02323 | 0,00459 | 0,00002 | 0,0009 | 19,75664 | 0,02 | 0,031 | 0,02 |
| Cotopaxi | 16 | 0,04725 | 0,01337 | 0,00018 | 0,00334 | 28,30498 | 0,021 | 0,065 | 0,0485 |
| Pichincha | 32 | 0,03119 | 0,01135 | 0,00013 | 0,00201 | 36,40817 | 0,019 | 0,055 | 0,0315 |
| Tungurahua | 14 | 0,04907 | 0,01082 | 0,00012 | 0,00289 | 22,04215 | 0,037 | 0,07 | 0,0445 |

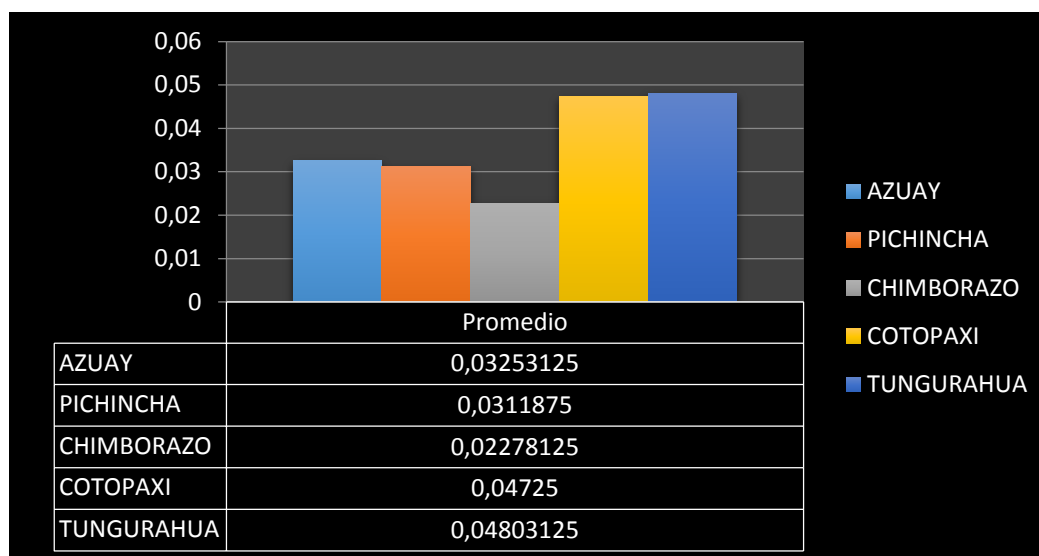


Figura 45. Sobre la estadística descriptiva por provincia

Tomado de: Programa INFOSTAT

Dentro de los datos analizados y resultados obtenidos se puede indicar lo siguiente:

Estos datos se analizaron bajo la presencia cuantificable de aflatoxinas en leche en las 5 provincias con mayor producción de leche en el Ecuador, a continuación el número de la media de aflatoxinas en los resultados obtenidos.

- Azuay tiene una media de 0,032 ppb
- Pichincha tiene una media de 0,031 ppb
- Chimborazo tiene una media de 0,023 ppb
- Cotopaxi tiene una media de 0,047 ppb
- Tungurahua tiene una media de 0,049 ppb

Se concluye que en todas las provincias están dentro del límite de aflatoxinas según la norma INEN vigente 009:2012 leche y requisitos, cabe mencionar que este estudio solo se realizó a pequeños productores de la zona.

Tabla 11.

Análisis de la Varianza total (SC tipo III)

| F.V. | SC | gl | CM | F | p-valor |
|-------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------------|
| Modelo. | 0,009269 | 4 | 0,002317 | 22,721315 | <0,0001 |
| Provincia | 0,009269 | 4 | 0,002317 | 22,721315 | <0,0001 |
| Error | 0,009688 | 95 | 0,000102 | | |
| Total | 0,018957 | 99 | | | |

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00951

Error: 0,0001 gl: 95

| Provincia | Medias | n | E.E. | |
|------------------|---------------|----------|-------------|---|
| Chimborazo | 0,023231 | 26 | 0,001981 | A |
| Pichincha | 0,031188 | 32 | 0,001785 | A |
| Azuay | 0,032583 | 12 | 0,002915 | A |
| Cotopaxi | 0,047250 | 16 | 0,002525 | B |
| Tungurahua | 0,049071 | 14 | 0,002699 | B |

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

En el análisis de varianza permite conocer que los datos analizados no son significativamente diferentes ya que los resultados sobre la presencia de aflatoxinas en las muestras de leche se encontraban entre 0,023 ppb hasta 0,049 ppb, lo cual no existe un rango amplio del valor mínimo al valor máximo, sin embargo los datos de las provincias de Chimborazo, Pichincha y Azuay son relativamente similares, mientras que en las provincias de Cotopaxi y Chimborazo tienen mayor presencia de aflatoxinas que en las anteriores provincias antes mencionadas.

Cabe mencionar que las Provincias de Cotopaxi y Tungurahua, tienen indígena, sin educación y dedicada a la producción agrícola y ganadera, donde hay poca información sobre buenas prácticas de ordeño e higiene en centros de acopio de leche.

Tabla 12.

Análisis de datos Anova

| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|-------------|---------------------|-----------------------------|
| Entre grupos | 0,01398625 | 5 | 0,00279725 | 1138,529825 | 7,1349E-131 | 2,266061706 |
| Dentro de los grupos | 0,0004275 | 174 | 2,4569E-06 | | | |
| Total | 0,01441375 | 179 | | | | |

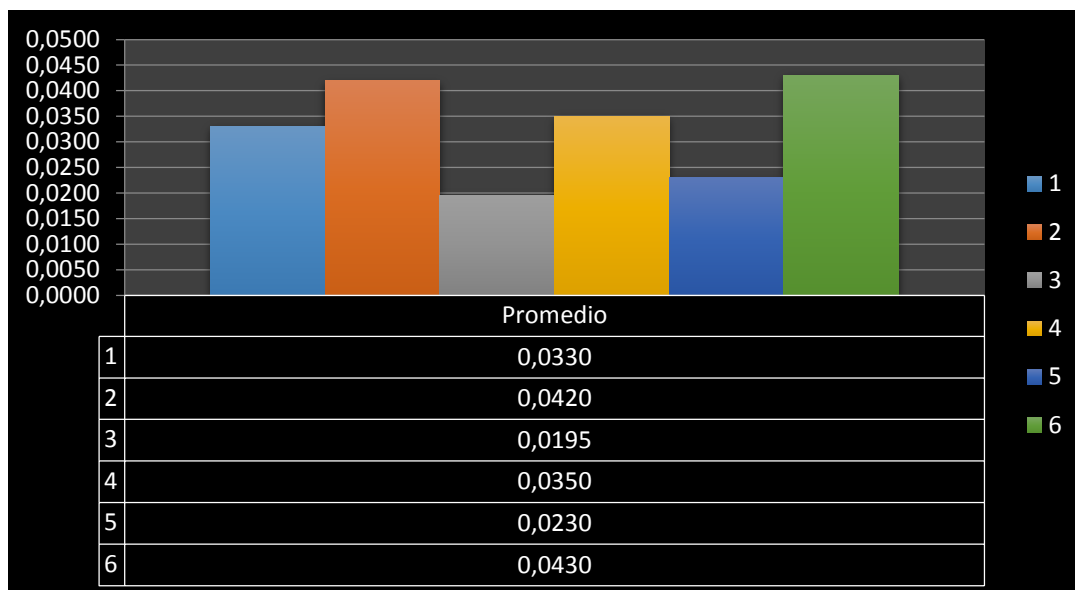


Figura 46. Análisis de Varianza (Provincia de Azuay)

En el análisis de varianza indica el índice de variabilidad de los datos obtenidos en la presente investigación, el promedio de los cuadrados en la provincia de Azuay es de 0,0027 en las muestras recolectadas en la provincia de Azuay sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche cruda de vaca y el total del origen de las variaciones de la suma de cuadrados es de 0,014, esto se define como: mientras mayor es la presencia de aflatoxina M1 en leche, menor es la calidad de leche cruda de vaca.

La desviación estándar, tiene una media de dispersión de 1138,07 de los datos obtenidos.

En la figura 46 muestra los resultados cuantitativos de los seis centros de acopio de leche, en la provincia de Azuay las muestras si se encuentran en el límite permitido de la FDA, la norma INEN 009:2012 Leche y Requisitos y en la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

En la muestra con código 3 y 6 se encuentran dentro del límite, sin embargo sus resultados fueron de 0,042 y 0,043 que están próximos a pasar el límite permitido.

Tabla 13.

Análisis de varianza (Provincia de Pichincha)

| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|------------|---------------------|-----------------------------|
| Entre grupos | 0,059338 | 14 | 0,004238429 | 3841,07589 | 0 | 1,714558206 |
| Dentro de los grupos | 0,00048 | 435 | 1,10345E-06 | | | |
| Total | 0,059818 | 449 | | | | |

En el análisis de varianza indica el índice de variabilidad de los datos obtenidos en la presente investigación, el promedio de los cuadrados obtenidos en la recolección de muestras sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche cruda de vaca en la provincia de Pichincha es de 0,0042, esto quiere decir que se encontró dentro del parámetro permitido por la FDA (0,5 ppb), la norma INEN 009:2012 Leche y Requisitos (0,5 ppb) y la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (0,05 ppb) y el total del origen de las variaciones de la suma de cuadrados es de 0,059.

La desviación estándar, tiene una media de dispersión de 3841,07 de los datos obtenidos.

En la figura 46 sobre el número calculado de presencia de aflatoxina M1 por cada centro de acopio de leche se encontró que en dos de estos (código 9 y 16), presentaron mayor al límite permitido por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, ya que presentaron estas dos muestras con 0,054 ppb y 0,52 ppb.

En conclusión estos dos centros de acopio no pueden exportar la leche debido a que no cumple con la norma de la Unión Europea, sin embargo si es posible para la FDA que corresponde al país de Estados Unidos.

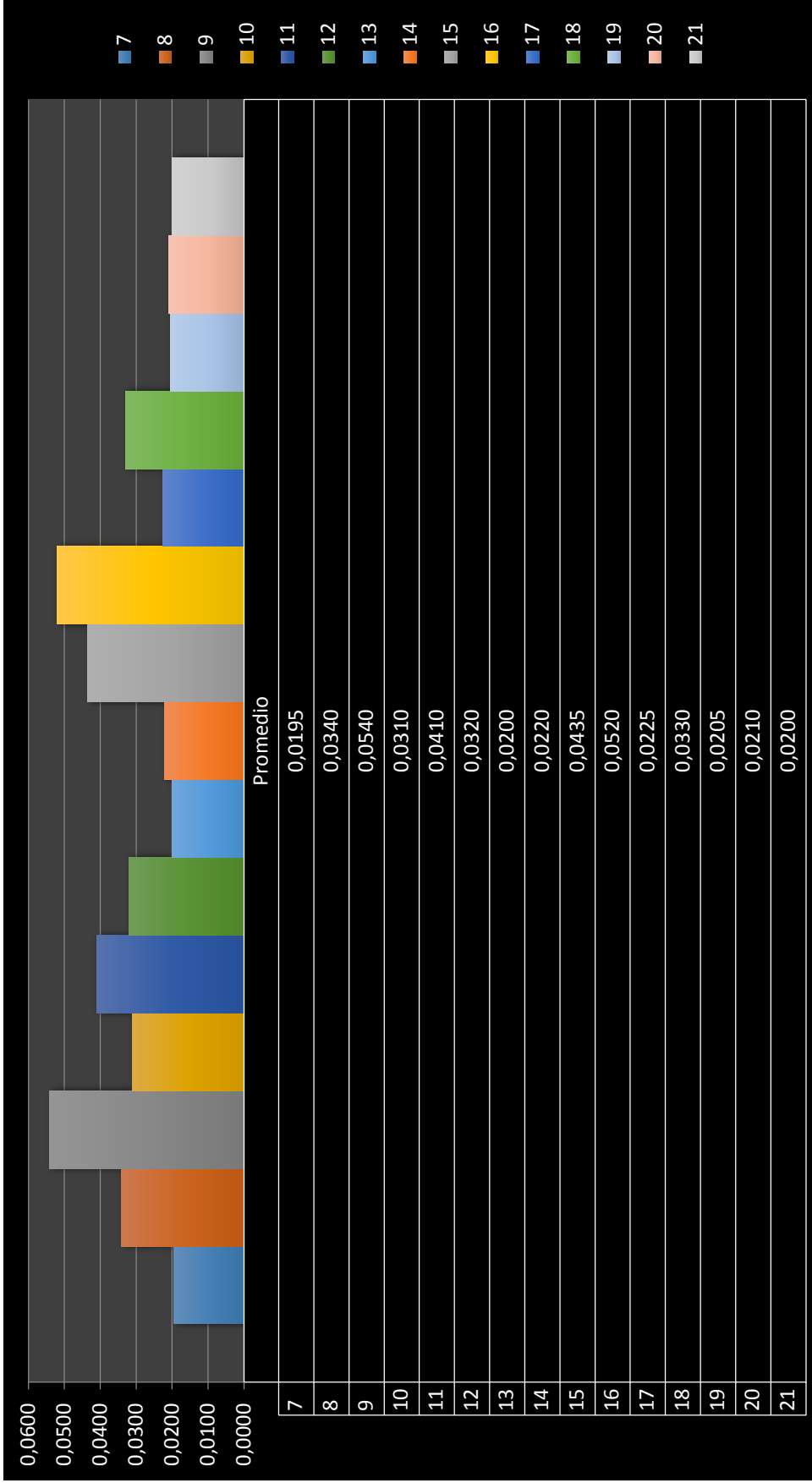


Figura 47. Análisis de varianza (Provincia de Pichincha)

Tabla 14.
Análisis de Varianza (Provincia de Chimborazo)

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|-------------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 0,007689231 | 12 | 0,000640769 | 1150,333333 | 2,075E-288 | 1,777896783 |
| Dentro de los grupos | 0,00021 | 377 | 5,57029E-07 | | | |
| Total | 0,007899231 | 389 | | | | |

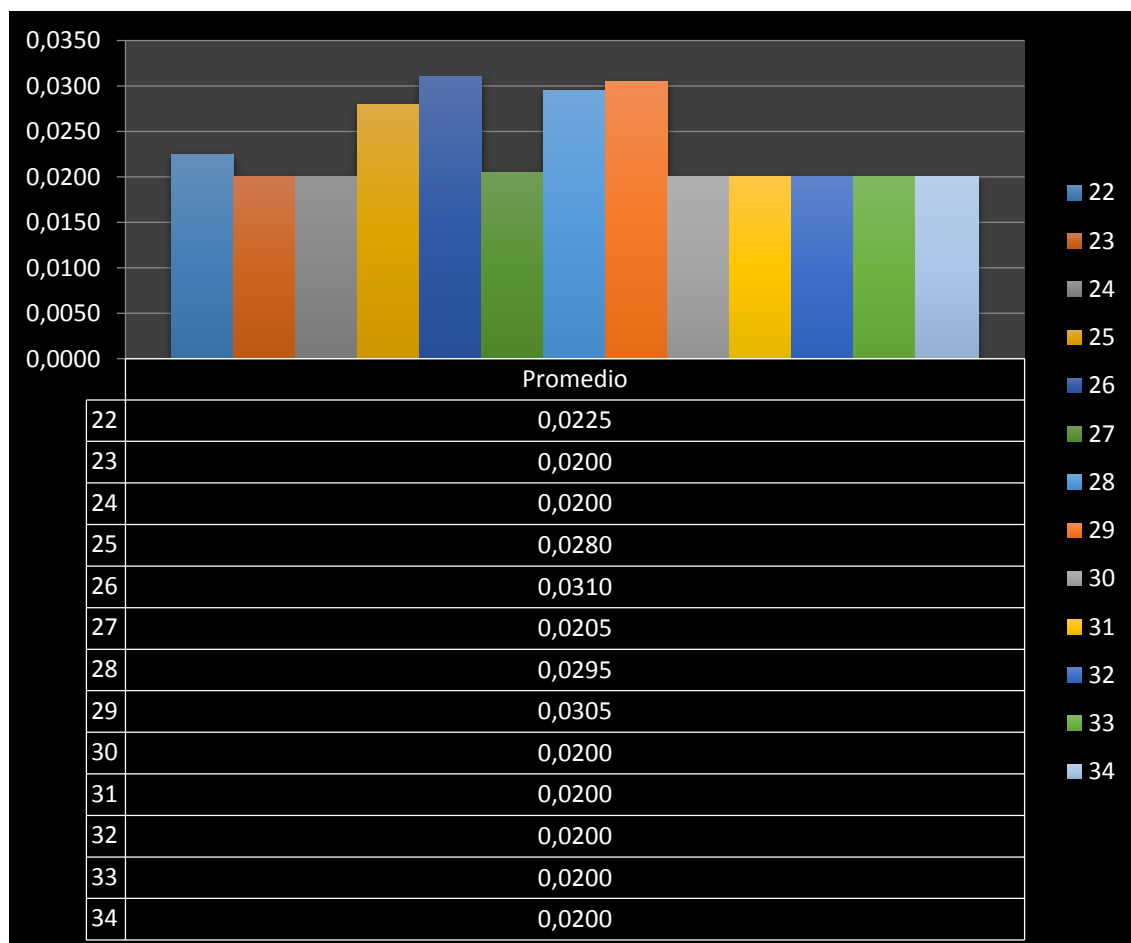


Figura 48. Análisis de Varianza (Provincia de Chimborazo)

En el análisis de varianza indica el índice de variabilidad de los datos obtenidos en la presente investigación, el promedio de los cuadrados en la provincia de Chimborazo de los resultados obtenidos de las muestras de leche cruda de vaca sobre la presencia de aflatoxina M1 es de 0,0006 y el total del origen de las variaciones de la suma de cuadrados es de 0,007, esto se define como: mientras mayor es la presencia de aflatoxina M1 en leche, menor es la calidad de leche cruda de vaca.

La desviación estándar, tiene una media de dispersión de 1150,33 de los datos obtenidos.

En la figura 48 se observa los resultados cuantitativos de las muestras analizadas en la provincia de Chimborazo, estos datos indican que todos los centros de acopio se encuentran dentro del límite máximo permitido.

Tabla 15.
Análisis de varianza (Provincia de Cotopaxi)

| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------|--------------|----------------------|
| Entre grupos | 0,039375 | 7 | 0,005625 | 1500 | 2,9508E-189 | 2,049195201 |
| Dentro de los grupos | 0,00087 | 232 | 0,00000375 | | | |
| Total | 0,040245 | 239 | | | | |

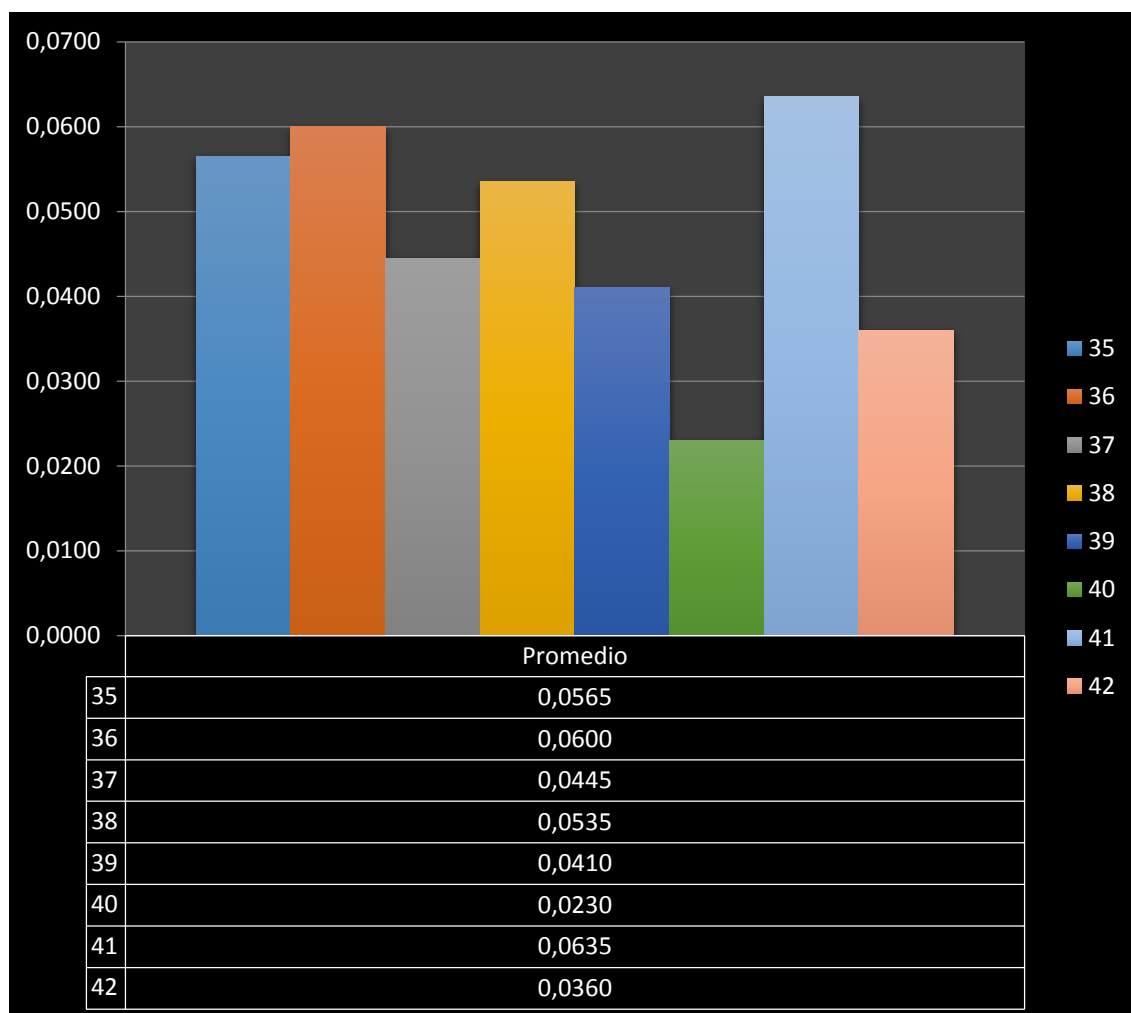


Figura 49. Análisis de varianza (Provincia de Cotopaxi)

En el análisis de varianza indica el índice de variabilidad de los datos obtenidos en la presente investigación, el promedio de los cuadrados en la provincia de Cotopaxi sobre los resultados de las muestras sobre la presencia de aflatoxina M1 en leche cruda de vaca es de 0,0056 y el total del origen de las variaciones de la suma de cuadrados es de 0,040, esto se define como: mientras mayor es la presencia de aflatoxina M1 en leche, menor es la calidad de leche cruda de vaca.

La desviación estándar, tiene una media de dispersión de 1500 de los datos obtenidos.

En la figura 49 se observa que los tres centros de acopio con códigos 35, 56 y 41 pasaron el límite máximo permitido para la presencia de aflatoxina M1 en la norma europea (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria EFSA), con un valor de 0,56 ppb para el código 35, 0,060 ppb para el código 56 y 0,063 ppb para el código 41, sin embargo en la FDA y la norma INEN 009:2012 Leche y Requisitos si están dentro de los límites permitidos.

Tabla 16.

Análisis de varianza (Provincia de Tungurahua)

| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>Grados de libertad</i> | <i>Promedio de los cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
|----------------------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------------|-------------|---------------------|-----------------------------|
| Entre grupos | 0,022251429 | 6 | 0,003708571 | 1338,382222 | 3,0429E-160 | 2,143452883 |
| Dentro de los grupos | 0,0005625 | 203 | 2,77094E-06 | | | |
| Total | 0,022813929 | 209 | | | | |

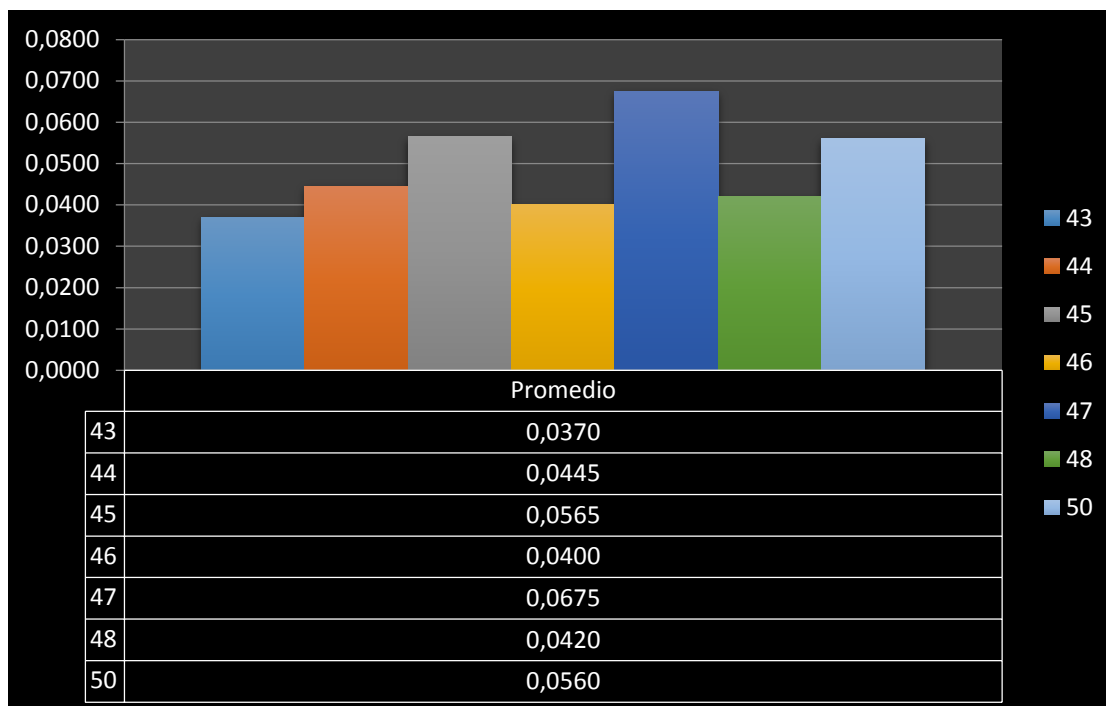


Figura 50. Análisis de varianza (Provincia de Tungurahua)

En el análisis de varianza indica el índice de variabilidad de los datos obtenidos en la presente investigación, el promedio de los cuadrados en la provincia de Cotopaxi sobre los resultados de las muestras de leche cruda con presencia de aflatoxina M1 en leche es de 0,0037 y el total del origen de las variaciones de la suma de cuadrados es de 0,022, esto se define como: mientras mayor es la presencia de aflatoxina M1 en leche, menor es la calidad de leche cruda de vaca.

La desviación estándar, tiene una media de dispersión de 1338,38 de los datos obtenidos.

En la figura 50 se observa los resultados cuantitativos de las muestras recolectadas en la provincia de Tungurahua, los tres centros de acopio con código 45, 47 y 50 sobre pasan el límite máximo permitido de la norma Europea (EFSA), ya que el código 45 tiene un valor de 0,056 ppb, código 47 con un valor de 0,067 ppb y el código 50 tiene un valor de 0,056 ppb, sin embargo estos centros de acopio si se encuentran dentro del límite permitido en la FDA (Estados Unidos) y la norma INEN (Ecuador).

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones

En el estudio realizado a los centros de acopio de leche cruda de pequeños productores, ubicados en las cinco provincias de la región sierra (Azuay, Pichincha, Cotopaxi, Chimborazo y Tungurahua), existe presencia de aflatoxina M1 en un promedio de 0,034 ppb, lo cual está dentro del límite permitido en la Norma INEN vigente 009:2012 leche y requisitos.

A pesar de que no exceda los límites permitidos de aflatoxina M1 en el Ecuador, existe la preocupación de que la acumulación de este tóxico en el organismo humano provoque enfermedades a largo plazo según estudios consultados

Según los resultados de las encuestas realizadas, se puede concluir que existe desconocimiento del daño que puede provocar la aflatoxina M1 en el ser humano, cuál es el origen de este metabolito y las causas que provocan que la aflatoxina M1 contamine a la leche.

No existe trazabilidad en la cadena agroalimentaria de la leche, lo cual al momento de detectar niveles por encima de los límites establecidos en la mezcla de leches de los centros de acopio, imposibilita conocer su procedencia

No existe un control de aflatoxina M1 en la leche cruda de vaca en finca, salvo los realizados por Agrocalidad de forma puntual, ya que los productores de leche no cuentan con los recursos necesarios para realizar esta prueba con la frecuencia adecuada. El test de aflatoxinas es muy costoso y requiere de implementos (estufa de incubación, lector) que normalmente no existen en campo.

La alternativa para este problema es capacitar a los productores de leche cruda en finca, sobre el buen almacenamiento del alimento de los animales en producción.

No existen Buenas Prácticas Pecuarias, puesto que el manejo del terreno de los pequeños productores es muy empírico ya que la falta de educación y el poco conocimiento, hace que su trabajo en el campo no sea el adecuado para el manejo de ganado bovino, tomando en cuenta que no existe una alimentación adecuada, un control veterinario constante y tampoco exista buenas prácticas de ordeño favorables para obtener un alimento inocuo.

6.2. Recomendaciones

Ejecutar un proyecto de aseguramiento de la trazabilidad público-privado, para los puntos más críticos donde se pierde la rastreabilidad de la recolección de leches en las explotaciones (especialmente actividades de transporte y centros de acopio), y poder verificar de forma completa la procedencia de los productos lácteos que van ser comercializados.

El gobierno de España en el año 2012 hizo un modelo de trazabilidad en la cadena agroalimentaria de la leche, este proyecto se llama “letra Q”

Este proyecto consiste en:

- Tener comunicación con los productores de leche

Esto se hizo mediante acuerdos del Estado con la comunidad, donde se debe reportar a la entidad pertinente los datos de sanidad animal, estos datos deben tener la siguiente información:

- a) **Operador lácteo:** datos personales (domicilio, teléfono, código postal, nombre)
- b) **Centro de transformación:** (quesos, yogurt, leche fluida): (nombre, dirección, registro sanitario, teléfonos), datos del responsable de calidad
- c) **Lista de productores:** a quién se compre leche cruda: este listado contendrá los siguientes datos: nombre y apellidos del productor, número de registro ganadero, especie animal, número de tanques o lecheras de están explotación así como la capacidad de cada uno de estos recipientes. En este listado, también debe contener los datos de

la explotación de la que es titular esta quesería o centro lácteo (*Real Decreto*1600/2011).

- d) **Vehículos o cisternas que se dediquen al transporte de leche cruda:** Los datos mínimos deben ser: matrícula del camión, nº de depósitos de la cisterna y capacidad total de ésta. En caso de otro tipo de vehículo, tipo de vehículo, matrícula (en caso de poseerla), si es isotermo, nº de cántaras y capacidad de éstas.
- e) **Listado de transportistas y conductores de dichos vehículos:** nombres y matrícula, permiso de transporte de leche.
- f) Laboratorios a los que se envían las muestras de leche para su posterior analítica.
- g) Instalaciones autorizadas de lavado de cisternas (alta en Letra Q)
- h) **Actuación de los órganos competentes:** Dicha aplicación originará unos códigos (de centro lácteo, de cisternas de tanques de centros de lavado). Estos códigos serán comunicados desde el órgano competente a los operadores lácteos.
Solicitud de claves de acceso a Letra Q de los responsables de los centros de transformación.
- i) **Actuación de los centros transformación:** Comunicación de los datos y códigos entregados por el Servicio de Sanidad Animal y Laboratorio de la Consejería de Agricultura al Laboratorio acreditado de muestras (además de otros datos que le sean solicitados desde el Laboratorio) para la emisión de etiquetas identificativas de muestras.
- j) Comunicación de los datos y códigos entregados al Servicio de Sanidad Animal y Laboratorio de la Consejería de Agricultura para la impresión de etiquetas de identificación “in situ” de tanques.
- k) Una vez recibida la clave de acceso a Letra Q del responsable, se debe poner en contacto con el Servicio de Sanidad Animal y Laboratorio de la Consejería de Agricultura, para proceder a una breve explicación de la aplicación informática Letra Q. (Gobierno de España, 2012).

Con este modelo del Gobierno de España “Letra Q”, el Ecuador implementará para el año 2018 este modelo de trazabilidad como se menciona en el segundo ejemplo que realizará el Ministerio de Agricultura y Ganadería para el Ecuador. Otro ejemplo de trazabilidad es el que se implementará en el Ministerio de Agricultura y Ganadería, puesto que el Ecuador no cuenta con un Sistema de Trazabilidad y Retiro de Productos agropecuarios que le permita tener una respuesta contundente y rápida ante los eventos sanitarios y de inocuidad que puedan presentarse en el territorio nacional y afectar la salud de los consumidores ecuatorianos, si bien es cierto se ha avanzado en pasos cortos sobre la identificación animal, guías de movilización de animales electrónicas, certificaciones de mataderos, registro de transportistas de leche y carne, aún no cuenta con un sistema informático que le permita digitalizar y trazar éstos avances.

Dada esta necesidad se está desarrollando un proyecto que permita diseñar e implementar un Sistema de Identificación y Trazabilidad Ganadera para garantizar la inocuidad de los alimentos de producción nacional para el consumo local y la exportación. Para lo cual se va a desarrollar la identificación bovina individual y única para garantizar el control de los animales a partir de su nacimiento. Se creará un sistema informático que permita recoger toda la información del Sistema Nacional de Identificación y Trazabilidad Ganadera. Finalmente se implementará el sistema a todos los actores del sector ganadero, lo cual permitirá tener una línea base sobre parámetros productivos y reproductivos de bovinos de carne y leche a nivel nacional (MAG, 2017).

Es necesario desarrollar un programa de capacitaciones informativas sobre la aflatoxina M1, su causa y efecto en los seres humanos para prevenir enfermedades graves en el organismo, además es importante realizar congresos sobre Buenas Prácticas de Ordeño, Buenas Prácticas Pecuarias, análisis de leche, almacenamiento del alimento para garantizar la inocuidad del producto final, además es necesario que los productores de leche sepan

aplicar medidas de prevención, en específico el buen almacenamiento del alimento.

Es un ejemplo de capacitación que se realizaría a los productores de leche cruda de vaca:

Tabla 17.

Ejemplo de Capacitación para los productores de leche cruda

| HORARIO | TEMA |
|---------------|--|
| 08:00 – 08:30 | INAGURACIÓN |
| 08:30 – 09:15 | Socialización del Instructivo Acuerdo interinstitucional No. 036 |
| 09:15 – 10:00 | Programa de Asociatividad |
| 10:00 – 10:45 | Plan Nacional del Buen Vivir |
| 10:45 – 11:00 | RECESO |
| 11:00 – 12:00 | Estrategia de la Agricultura Familiar |
| 12:00 – 13:00 | ALMUERZO |
| 13:30 – 14:30 | Escuela Nacional de Irrigación Productiva |
| 14:30 – 15:15 | Exportación e importación de productos lácteos |
| 14:30 – 15:30 | AGROSEGUROS |
| 15:30 – 16:30 | Líneas de crédito para el sector ganadero |
| 08:00 – 09:00 | Importancia de los minerales en la nutrición de ganado de leche y de carne |
| 09:00 – 09:45 | Visión científica de la Brucelosis bovina en el Ecuador |
| 09:45 – 10:00 | RECESO |
| 10:45 – 11:30 | Mejoramiento genético |
| 11:30 – 12:30 | Biotecnologías de la Reproducción |
| 12:30 – 13:30 | ALMUERZO |
| 13:30 – 14:30 | Buenas prácticas de ordeño |
| 14:30 – 15:30 | Calidad de leche |
| 15:30 – 16:30 | Administración de Centros de Acopio |
| 08:00 – 08:30 | Proyecto Ganadería Climáticamente Inteligente |
| 9:30 – 10:30 | Resiliencia al cambio climático en sistemas ganaderos del Ecuador |
| 10:30 – 10:45 | RECESO |
| 10:45 – 11:30 | Construcción de planes provinciales en el marco del PGCI |
| 11:30 – 13:00 | Estrategias de capacitación |
| 13:00 – 14:00 | ALMUERZO |
| 14:00 – 15:30 | Diagnóstico de sistemas producción pecuaria |
| 15:30 – 16:30 | Currículos de capacitación / Herramientas de aprendizaje |
| 16:30 – 17:00 | Cierre de la jornada y compromisos |

Tomado de: MAG, 2017

Se debe realizar estrategias para fortalecer la relación entre los actores de la cadena, es fundamental que el productor y la industria lleguen acuerdos de calidad, esto se refiere que la industria debería hacer pruebas de la presencia de aflatoxina M1 al momento de la recepción de la materia prima, además realizar alianzas entre productores e industria para fortalecer por medio de capacitaciones el conocimiento de este tóxico.

Extender el estudio a grandes productores de leche, dependiendo el número de cabezas de ganado en producción para investigar la presencia de aflatoxina M1 en leche, puesto que los sistemas de explotación de ganado vacuno en grandes superficies utilizan el alimento ensilado y balanceado en mayor medida que las explotaciones de pequeño tamaño, objeto de este estudio, y a mayor disponibilidad de alimento ensilado y balanceado de consumo diario, existe mayor riesgo de presencia de aflatoxina M1 en la leche.

REFERENCIAS

- AGAG, H., 2004. Detección de *Aflatoxina M1* en leches frescas comercializadas en la zona del valle de Cauca, Colombia. Recuperado el 12 de noviembre de 2017 de http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0253570X2012000100006&script=sci_arttext&tlng=pt.
- Ali, D., Gonzalez, P., 2013. Aflatoxina M1 en productos lácteos. Recuperado el 17 de diciembre de 2017 de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=951878>.
- Abulu, K., Glosaime, W., 1998. Production of Aflatoxins B1 and G1 by *Aspergillus flavus* in a Semisynthetic Medium. Recuperado el 15 de diciembre de 2017 de <http://aem.asm.org/content/14/3/378>.
- AGROCALIDAD, 2016. *Aflatoxinas en el Ecuador*. Recuperado el 10 de Enero de 2018 de <http://www.agrocalidad.gob.ec/inocuidad-de-los-alimentos/>
- AGROCALIDAD, 2013. *Aflatoxinas en el Ecuador*. Recuperado el 9 de enero de 2018 de <http://www.agrocalidad.gob.ec/inocuidad-de-los-alimentos/>
- AGROCALIDAD, 2017. *Aflatoxinas en el Ecuador*. Recuperado el 15 de Octubre de 2017 de <http://www.agrocalidad.gob.ec/inocuidad-de-los-alimentos/>
- Andes Kinkuna., 2017. *Producción de Suero de Leche en el Ecuador*. Recuperado el 12 de febrero de 2018 de <https://anfab.com/wp/?s=suero+de+leche>.
- Anfonssi, L., 2008. *Ocurrence of aflatoxin M1 in Dairy Products. Italia*. Department of analytical Chemistry, University of Turin. Recuperado el 8 de febrero de 2018 de <https://www.scielosp.org/article/rsp/1997.v31n4/417-424/pt/>
- Aranguren, E., 2009. Detección de Aflatoxina M1 en quesos frescos comercializados en el municipio de Yopal mediante la técnica de ELISA. Pontificia Universidad Javeriana. Recuperado el 5 de marzo de 2018 de <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis350.pdf>

- Asamblea Nacional, 2017. *Ley Orgánica de Sanidad Agropecuaria*. Recuperado el: 14 de febrero de 2018 de <http://www.pudeleco.com/files/a17027i.pdf>
- Assiut, F., 2013. *Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges. Malaysia*. Recuperado el 24 de febrero de 2018 de <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2016.1152599>.
- Awad, H., 2012. *A follow-up study of urinary markers of aflatoxin exposure and liver cancer risk in Shanghai, People's Republic of China*. Recuperado el 17 de abril de 2018 de <http://cebp.aacrjournals.org/content/3/1/3.short>.
- Awasthi, W., 2012., *Presence of aflatoxin M1 in milk for human consumption in Argentina*. Recuperado el 15 de abril de 2018 de [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(02\)00049-X](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(02)00049-X).
- Brasel, S., Bammler, TK, Hayes, JD and Eaton, DL. 2001. Oltipraz-mediated changes in aflatoxin B1 biotransformation in rat liver: implications for human chemointervention. *Cancer Res*, 56: 2306–13. Recuperado el 20 de Abril de 2018 de <https://www.tandfonline.com/doi/ref/10.1080/01652176.1999.9695005?scroll=top>.
- Bwibo, R., Neumann, H., 2003. Aflatoxin B1 induces the transversion of G-->T in codon 249 of the p53 tumor suppressor gene in human hepatocytes. Recuperado el 1 de marzo de 2018 de <http://www.pnas.org/content/90/18/8586>.
- Brown, G., 2013. *Aflatoxin M1 in Milk*. Department of Animal Science 2Department of Plant Pathology and Plant Microbe Biology 3 Department of Food Science Cornell University. Recuperado el 13 de octubre de 2017 de [file:///Users/MAC/Downloads/4c1dffe15a40fee4fe4e22fe963659d5%20\(1\).pdf](file:///Users/MAC/Downloads/4c1dffe15a40fee4fe4e22fe963659d5%20(1).pdf)
- Brown, L., 2013. *Aflatoxin M1 in Milk*. New York. Department of food science Cornell University. Recuperado el 23 de noviembre de 2017 de <https://www.scielosp.org/article/rsp/1997.v31n4/417-424/pt/>

- Cattaneo, D., Santino, A., 2013. *Recent aflatoxin survey data in milk and milk products: A review*. Faculty of Agricultural Sciences, Food Industry and Environmental Protection, 'Lucian Blaga' University of Sibiu, Bulevardul Victoriei 10, Sibiu 550024, Romania, and 2 Department of Pharmacy, University of Napoli Federico II, Via D. Montesano, Napoli, Italy.
- Campo, A., 2011. *Química Orgánica*. Departamento de Ciencias Básicas – Facultad de Ciencias Naturales e Ingeniería Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Recuperado el 23 de marzo de 2018 de http://avalon.utadeo.edu.co/servicios/ebooks/quimica_organica/files/assets/basic-html/page5.html
- Centro de Industrias Lácteas., 2017. *Producción de Leche en el Ecuador y Productos Lácteos*. Recuperado el 15 de abril de 2018 de <http://cilecuador.org/index.php/servicios/foro-lechero-ecuadoriano/>
- Chase, W., Bergstrom, L., Murphy, S., 2013. Aflatoxins in dairy cow feed, raw milk and milk products from Turkey. *Food Additives & Contaminants: Part B*, DOI:10.1080/19393210.2016.1152599 Recuperado el 12 de marzo de 2018 de <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2016.1152599>.
- Chávez, A., 2001. *Detección de leche cruda en la ciudad de Guadalajara, mediante la técnica de Elisa*. Recuperado el 29 de marzo de 2018 de https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/32183830/tesis202.pdf?AWSAccessKeyId=AKIAIWOWYYGZ2Y53UL3A&Expires=1526310212&Signature=LfNxZqmCr92MXNOzzJHkusAmoDs%3D&response-content-disposition=inline%3B%20filename%3DDETECCION_DE_AFLATOXIN_A_M_1_EN_LECHES_FR.pdf.
- Crowther J. 2001. *The ELISA guidebook*. Humana Press. Totowa New Jersey. 415p Recuperado el 19 de mayo de 2018 de https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_III/CIII-35.pdf

- Delavenne, G., Baggiani, C., Giovannoli F., 2011. *Occurrence of Aflatoxin M1 in Dairy Products*. Italy. Department of Analytical Chemistry, University of Turin.
- Deveci, A., 2007. *Ocurrence of aflatoxin M1 in Dairy Products. Italia*. Department of analytical Chemistry, University of Turin. Recuperado el 14 de enero de 2018 de <https://www.scielosp.org/article/rsp/1997.v31n4/417-424/pt/>
- ELIKA, 2013. *Aflatoxina M*. recuperado el 23 de diciembre de 2018 de http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5303/Hernandez_Gallardo_Margarita.pdf?sequence=1
- ESPAC, 2016. *Producción de leche del Ecuador*. Recuperado el 6 de enero de 2018 de <http://www.espac.org.mx/es/>
- FAO, 2003. *El reglamento a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos*. Recuperado el 20 de diciembre de 2017 de https://books.google.com.ec/books?id=uUYmxAMIJL4C&pg=PA11&lpg=PA11&dq=el+reglamento+a+nivel+mundial+para+las+micotoxinas+en+los+alimentos&source=bl&ots=k3AGnIZqVZ&sig=DoxP5r4GQNW74d_ZNtj9g6kxdg&hl=es&sa=X&redir_ec=y#v=onepage&q=el%20reglamento%20a%20nivel%20mundial%20para%20las%20micotoxinas%20en%20los%20alimentos&f=false.
- FAO., 2015. *Consumo Per cápita de leche fluida y productos lácteos*. Recuperado el 20 de diciembre de 2017 de https://books.google.com.ec/books?id=uUYmxAMIJL4C&pg=PA11&lpg=PA11&dq=el+reglamento+a+nivel+mundial+para+las+micotoxinas+en+los+alimentos&source=bl&ots=k3AGnIZqVZ&sig=DoxP5r4GQNW74d_ZNtj9g6kxdg&hl=es&sa=X&redir_ec=y#v=onepage&q=el%20reglamento%20a%20nivel%20mundial%20para%20las%20micotoxinas%20en%20los%20alimentos&f=false.
- FAO., 2016. *Situación de la lechería en América Latina y el Caribe en 2016*. Recuperado el 22 de diciembre de 2017 de http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONIT

ORING/Dairy/Documents/Paper_Lecher%C3%ADa_AmLatina_2016.pdf.

- Fleet, G., 1990. *Aflatoxin in Raw milk and Yogurth*. Food Additives & Contaminants: Part B, DOI:10.1080/19393210.2016.1152599
Recuperado el 20 de febrero de 2018 de <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2016.1152599>.
- Govaris, T., Applebaum, R. S., Brackett, R. E., Wiseman, D. W., Marth, E. H. 2002. Aflatoxin: Toxicity to dairy cattle and occurrence in milk and milk products. *J. of Food Prot.* 45(8):752-777.
- Gobierno de España, 2012. *Letra Q, Trazabilidad de la Cadena de la leche*. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Aguas.
- Grisales, L., 2017. *Potencialidades del género Bacillus en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos*. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, Recuperado el 20 de febrero de 2018 de <http://www.redalyc.org/comocitar.aa?id=181222321004>.
- Guerzoni, L., Baggiani, C., Giovannoli F., 1998. Occurrence of Aflatoxin M1 in Dairy Products. Italy. Department of Analytical Chemistry, University of Turin.
- Gran, L., Parker, G., Freeman, S., 2003. The combined effect of high pressure and nisin on inactivation of microorganisms in milk. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2003.04.005>.
- Grimaud, T., Jhonson, J., 2009. Microorganisms in raw Milk. Recuperado el 20 de febrero de 2018 de <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.04.005>
- Gurbay, 2010., *Aflatoxin M1 in milk and dairy products, occurrence and recent challenges.Malaysia*. Recuperado el 27 de febrero de 2018 de <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2016.1152599>.
- Hallo, F., 2016. *Si hay que preguntar ¿Cómo se hace?, ¿Qué se pregunta?*. Recuperado el 20 de Abril de 2018 de http://www2.udla.edu.ec/maestrias/pluginfile.php/122428/mod_resource/content/1/Cap%207.pdf

- Hernandez, M., 2016. *Aflatoxinas presentes en los alimentos*. Universidad de Guadalajara. Recuperado 23 de Abril de 2018 de <https://wdg.biblio.udg.mx/index.php/publicacion-tesis>.
- Hernandez, R., 1992. Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*, 46(4), 174-178. Retrieved May 07, 2018, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022004000400004&lng=en&tlng=es. <https://naturaleza.paradais-sphynx.com/fungi/reproduccion-de-los-hongos.htm>
- Ikins, W. 2004. *Aflatoxin in Milk and Dairy Products*. Recuperado el 22 de Octubre de 2017 de <https://www.scielosp.org/article/rsp/1997.v31n4/417-424/pt/>
- INEN, 2012. *Leche cruda y requisitos*. Recuperado el 17 de Octubre de 2017 de http://www.normalizacion.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_009_6r.pdf
- INEC. 2010. *Resultados del Censo Educativo 2010*. Recuperado el 13 de Octubre de 2017 de http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Presentaciones/capitulo_educacion_censo_poblacion_vivienda.pdf
- Instituto Nacional de Normalización INEN, 2008. *Leche cruda y requisitos*. Recuperado el 2 de Octubre de 2017 de http://www.normalizacion.gob.ec/wpcontent/uploads/downloads/2015/07/nte_inen_009_6r.pdf.
- Jakobsen, M., Narvhus, S., 1996. *Aflatoxin M1, in Cheese*. PortionsofthisfactsheetwereadaptedfromFS907, *Aflatoxins: Hazards in Grain/Aflatoxicosis and Livestock*, SouthDakotaStateUniversity, Brookings; Figures1-3arefrom *Aflatoxin in Corn* byJ.AllenWratherandLauraE.Sweets, MissouriAgriculturalExperimentStation, DeltaResearchCenter, Portage.
- Jach, A., 2015. *Tabla de Números Aleatorios*. Recuperado el 20 de Octubre de 2017 de :

<http://halweb.uc3m.es/esp/Personal/personas/aarribas/esp/docs/NumerosAleatorios.pdf>

- Jodie, A., 2005. *Aflatoxin M1 in Milk*. Arkansas. University of Arkansas. Recuperado el 10 de Octubre de 2017 de <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639209007>>
- Kang, L., 2003. *Aflatoxin B1 and M1 contamination of animal feeds and milk from urban centers in Kenya*. Kenya. Ministry of Health. Recuperado el 22 de Octubre de 2017 de <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639209007>>
- Kav, D., Huff, P., 2011. Effects on aflatoxin M1 residues in milk by addition of hydrated sodium calcium aluminosilicate to aflatoxin-contaminated diets of dairy cows. Recuperado el 22 de Noviembre de 2017 de <http://europepmc.org/abstract/med/1659263>.
- Lavoie, D., Jacobson, W., Harmeyer, K., 2012. *Determination of Aflatoxins and in Milk*. Division of Veterinary Research, Food and Drug Administration U.S. Department of Health, Education, and Welfare Beltsville, Maryland 20204.
- López, Laura B, Baroni, Andrea V., Rodríguez, Viviana G, Greco, Carola B, Costa, Sara Macías, Rodríguez de Pece, Silvia, & Ronayne de Ferrer, Patricia. (2005). Desarrollo y validación de un método por HPLC para la determinación de niveles de vitamina A en leche materna. Su aplicación a una población rural de Argentina. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55(2), 140-143. Recuperado el 18 de abril de 2018, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000200006&lng=es&tlng=es.
- López, D., 2018. *Desarrollo y validación de un método por HPLC para la determinación de niveles de vitamina A en leche materna. Su aplicación a una población rural de Argentina*. Recuperado el 22 de Noviembre de 2017 de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000200006.

- Makarem, H., 2003. Aflatoxin M1 levels in milk and some dairy products in Alexandria city. Alexandria. Department of food hygiene. Recuperado el 12 de Noviembre de 2017 de <<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639209007>>
- Malekinejad, H., 2014. *Aflatoxin M1 Concentration in various Dairy Products.Iran*. Urmia Medical Sciences University. Recuperado el 14 de Noviembre de 2017 de <https://www.scielosp.org/article/rsp/1997.v31n4/417-424/pt/>
- Maxwell, T., 1989. Mycotoxins in food and feed: extraction, analysis and emerging technologies for rapid and on-field detection. Recuperado el 22 de Noviembre de 2017 de <https://www.tandfonline.com/doi/ref/10.1080/19440049.2014.979888?scroll=top>.
- Makun, H., Langlois, G., 2012. XRCC1 Polymorphisms: Effects on Aflatoxin B1-DNA Adducts and Glycophorin A Variant Frequency. Recuperado el 27 de Noviembre de 2017 de <http://cancerres.aacrjournals.org/content/59/11/2557>.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería., 2013. *Acuerdo Ministerial 394*. Recuperado el 26 de Noviembre de 2017 de http://balcon.magap.gob.ec/mag01/pdfs/aministerial/2013/2013_394.pdf
- Ministerio de Agricultura y Ganadería., 2017. *Producción de Leche en el Ecuador*. Subsecretaría de Ganadería. Recuperado el 29 de Noviembre de 2017 de <https://www.agricultura.gob.ec/>.
- Ministerio de Agricultura y Ganadería., 2016. *Producción de Leche en el Ecuador*. Subsecretaría de Ganadería. Recuperado el 22 de Noviembre de 2017 de <https://www.agricultura.gob.ec/>
- Mohammadi, H., 2003. *Review of Aflatoxin M1, Milk, and Milk Products. Iran*. Kurdistan General Department of Standards and Industrial Research. Recuperado el 22 de Diciembre de 2017 de <http://www.redalyc.org/html/613/61312116009/>
- Nanu, J., Hassan, M., Fahimi, S., 2007. *Aflatoxin M1 Concentration in Various Dairy Products: Evidence for Biologically Reduced Amount of AFM1 in*

- Yoghurt and Raw Milk*. Recuperado de Research center for Food & Nutrition, Urmia Medical Sciences University, Urmia, Iran.
- Ortiz, L., 2014. *Potencialidades del género Bacillus en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos*. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42 (3), 131-138. Recuperado el 22 de Diciembre de 2017 de <http://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=181222321004>.
- Organización Mundial de la salud., 2008. *Toxicidad y Consecuencias para la salud humana de la aflatoxina M*. recuperado el 22 de Diciembre de 2017 de <http://www.who.int/topics/cancer/es/>
- Pérez, M., 2008. *Aflatoxinas en leche cruda y productos lácteos. Turquía*. *Food Additives & Contaminants: Part B*, DOI: 10.1080/19393210.2016.1152599. Recuperado el 11 de Diciembre de 2017 de <http://dx.doi.org/10.1080/19393210.2016.1152599>.
- Portable Network Graphics., 2013. Distribución Gráfica de productores del Ecuador. Recuperado el 11 de Diciembre de 2017 de <https://www.google.com/search?q=PNGS+productores+de+leche+del+ecuador&client=firefox-b&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ved=0ahUKEwiNssv8ooXbAhWhdN8KHbhSD9wQsAQIJA&biw=1366&bih=654#imgrc=TnUpK0iZZVILnM>:
- Peraica, M., 2013. *Efectos tóxicos de las micotoxinas en el ser humano*. Recuperado el 23 de Diciembre de 2017 de : http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/57586/RA_2013_2_80-92_spa.pdf;jsessionid=5BFD2C1473A130585B8DF5891FEA2D63?sequence=1
- Rajeev, S., Moss, M., 2010. *Secondary metabolism and food intoxication-moulds*. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.*, 73: 80–88. Recuperado de <https://www.tandfonline.com/doi/ref/10.1080/10408390500436185?scroll=top>.
- Spanavberg, C., Mclean, H., 2004. *Method of making a dairy products*. Recuperado el 25 de Diciembre de 2017 de

<https://patentimages.storage.googleapis.com/21/52/0c/fa87e9fb2da7f3/US4968512.pdf>

- Shelton, I., 2003. *Analysis of Aflatoxin M1 in Raw Milk by HPLC with Fluorescence Detection*. New York. Arkansas University. Recuperado el 12 de Diciembre de 2017 de <http://www.redalyc.org/html/613/61312116009/>.
- Shundo, B., Sabino, R., Espíndola Figueroa, S., 2006. MICOTOXINAS Y MICOTOXICOSIS EN EL GANADO BOVINO LECHERO. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, V (1), 89-94.
- Urban, H., 2010. Analysis of Aflatoxin M1 in Raw Milk by HPLC with Fluorescence Detection. Recuperado de Commission Regulation (EU) No 165/2010. Amending Regulation (EC) No 1881/2006 Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs as Regards Aflatoxins. Official Journal of the European Union, Feb 26, 2010, pp L 50/8 – L 50/12.
- Urbina, A., 2014. Cadena de frío en Productos Lácteos. Recuperado el 22 de Diciembre de 2017 de <https://doorfrigo.com/la-importancia-la-cadena-frigo-lacteos/>.
- Usaid, I., 2012. Evaluation of the lee-white modified technique and three blood clotting time techniques in leghorn chicks. Recuperado el 27 de Diciembre de 2017 de <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2001000100011>.
- Vergust, K., 2008. *Applications of high-hydrostatic pressure on milk and dairy products*. Recuperado el 22 de Enero de 2017 de [https://doi.org/10.1016/S1466-8564\(02\)00049-8](https://doi.org/10.1016/S1466-8564(02)00049-8)
- Watkinson, A., Carlile, V, Gooday, F., 2001. *Production of Aflatoxins B1 and G1 by Aspergillus flavus in a Semisynthetic Medium*. Recuperado el 14 de Enero de 2017 de <http://aem.asm.org/content/14/3/378.short>.
- Wagacha, S., Muthomi, M., 2008. *Enzymatic formation of the bisfuran structure in aflatoxin biosynthesis*. Recuperado el 17 de Enero de 2017 de <http://aem.asm.org/content/39/1/109.short>.

ANEXOS

A continuación tabla sobre la ubicación de los centros de acopio en las zonas con mayor producción en el Ecuador.

| ETAPA | PROVINCIA | CANTÓN | PARROQUIA | CÓDIGO DE ASOCIACIÓN |
|---------|------------|--------------------------|-------------------|----------------------|
| PRIMERA | Cotopaxi | Sigchos | Sigchos | 1 |
| PRIMERA | Chimborazo | Chunchi | Capsol | 2 |
| PRIMERA | Chimborazo | Chunchi | Compud | 3 |
| PRIMERA | Pichincha | Quito | Gualea | 4 |
| PRIMERA | Tungurahua | Quero | La Matriz | 5 |
| PRIMERA | Chimborazo | Chunchi | Llagos | 6 |
| PRIMERA | Pichincha | Rumiñahui | Rumiñahui | 7 |
| SEGUNDA | Cotopaxi | Limón Indaza | Alaquez | 8 |
| SEGUNDA | Pichincha | Cayambe | Ayora | 9 |
| SEGUNDA | Pichincha | Cayambe | Cangahua | 10 |
| SEGUNDA | Cotopaxi | Salcedo | Cusubamba | 11 |
| SEGUNDA | Pichincha | Pacto | Guayabillas | 12 |
| SEGUNDA | Azuay | Sigsig | Jima | 13 |
| SEGUNDA | Chimborazo | Chunchi | La Matriz | 14 |
| SEGUNDA | Pichincha | Quito | Lloa | 15 |
| SEGUNDA | Pichincha | San Miguel de los Bancos | Los Bancos | 16 |
| SEGUNDA | Azuay | Nabón | Nabón | 17 |
| SEGUNDA | Pichincha | Cayambe | Olmedo | 18 |
| SEGUNDA | Chimborazo | Pallatanga | Pallatanga | 19 |
| SEGUNDA | Tungurahua | Ambato | Pilahuín | 20 |
| SEGUNDA | Azuay | Pucará | Pucará | 21 |
| SEGUNDA | Cotopaxi | La Mana | Pucayacu | 22 |
| SEGUNDA | Tungurahua | Píllaro | San Andrés | 23 |
| SEGUNDA | Pichincha | | | 24 |
| SEGUNDA | Tungurahua | Santiago de Píllaro | San Miguelito | 25 |
| SEGUNDA | Cotopaxi | Latacunga | Toacazo | 26 |
| SEGUNDA | Pichincha | Mejía | Uyumbicho | 27 |
| TERCERA | Tungurahua | Quero | Yanayacu | 28 |
| TERCERA | Tungurahua | Ambato | Pilahuin | 29 |
| TERCERA | Chimborazo | Guamote | Guamote | 30 |
| TERCERA | Pichincha | Quito | Atahualpa | 31 |
| TERCERA | Azuay | Cuenca | San Joaquin | 32 |
| TERCERA | Cotopaxi | Latacunga | Belisario Quevedo | 33 |

| | | | | |
|---------|------------|-------------------------|-------------------------|----|
| TERCERA | Pichincha | Cayambe | Cangahua | 34 |
| TERCERA | Pichincha | | | 35 |
| TERCERA | Chimborazo | Riobamba | Licto | 36 |
| TERCERA | Tungurahua | Patate | El Sucre | 37 |
| TERCERA | Chimborazo | Guamote | Guamote | 38 |
| TERCERA | Cotopaxi | Latacunga | Belisario Quevedo | 39 |
| TERCERA | Cotopaxi | Latacunga | Mulaló | 40 |
| TERCERA | Pichincha | Quito | Lloa | 41 |
| TERCERA | Pichincha | Quito | Nanegalito | 42 |
| TERCERA | Chimborazo | Guano | Olmedo | 43 |
| TERCERA | Pichincha | Cayambe | Olmedo | 44 |
| TERCERA | Pichincha | Cayambe | Olmedo | 45 |
| TERCERA | Tungurahua | Mocha | El Atillo | 46 |
| TERCERA | Cotopaxi | Latacunga | Pastocalle | 47 |
| TERCERA | Pichincha | Pedro Vicente Maldonado | Pedro Vicente Maldonado | 48 |
| TERCERA | Azuay | | | 49 |
| TERCERA | Chimborazo | Riobamba | Quimiag | 50 |
| TERCERA | Azuay | Sigsig | Serrag | 51 |
| TERCERA | Azuay | Sevilla de Oro | Las Palmas | 52 |
| CUARTA | Chimborazo | Penipe | Candelaria | 53 |
| CUARTA | Chimborazo | Riobamba | Quimiag | 54 |
| CUARTA | Chimborazo | Alausí | Achupallas | 55 |
| CUARTA | Chimborazo | Alausí | Achupallas | 56 |
| CUARTA | Chimborazo | Riobamba | Licto | 57 |

A continuación tabla sobre las variables de muestras obtenidas en los centros de acopio de leche en las zonas productoras del país.

| Muestra | Submuestra | Provincia | Variable | Asociación |
|---------|------------|-----------|----------|------------|
| 1 | 1,1 | Azuay | 0,032 | 1 |
| | 1,2 | Azuay | 0,034 | 1 |
| 2 | 2,1 | Azuay | 0,044 | 2 |
| | 2,2 | Azuay | 0,040 | 2 |
| 3 | 3,1 | Azuay | 0,020 | 3 |
| | 3,2 | Azuay | 0,019 | 3 |
| 4 | 4,1 | Azuay | 0,037 | 4 |
| | 4,2 | Azuay | 0,033 | 4 |
| 5 | 5,1 | Azuay | 0,024 | 5 |

| | | | | |
|----|------|------------|-------|----|
| | 5,2 | Azuay | 0,022 | 5 |
| 6 | 6,1 | Azuay | 0,045 | 6 |
| | 6,2 | Azuay | 0,041 | 6 |
| 7 | 7,1 | Pichincha | 0,032 | 7 |
| | 7,2 | Pichincha | 0,034 | 7 |
| 8 | 8,1 | Pichincha | 0,020 | 8 |
| | 8,2 | Pichincha | 0,019 | 8 |
| 9 | 9,1 | Pichincha | 0,036 | 9 |
| | 9,2 | Pichincha | 0,032 | 9 |
| 10 | 10,1 | Pichincha | 0,055 | 10 |
| | 10,2 | Pichincha | 0,053 | 10 |
| 11 | 11,1 | Pichincha | 0,030 | 11 |
| | 11,2 | Pichincha | 0,032 | 11 |
| 12 | 12,1 | Pichincha | 0,042 | 12 |
| | 12,2 | Pichincha | 0,040 | 12 |
| 13 | 13,1 | Pichincha | 0,033 | 13 |
| | 13,2 | Pichincha | 0,031 | 13 |
| 14 | 14,1 | Pichincha | 0,020 | 14 |
| | 14,2 | Pichincha | 0,020 | 14 |
| 15 | 15,1 | Pichincha | 0,024 | 15 |
| | 15,2 | Pichincha | 0,020 | 15 |
| 16 | 16,1 | Pichincha | 0,044 | 16 |
| | 16,2 | Pichincha | 0,043 | 16 |
| 17 | 17,1 | Pichincha | 0,052 | 17 |
| | 17,2 | Pichincha | 0,052 | 17 |
| 18 | 18,1 | Pichincha | 0,024 | 18 |
| | 18,2 | Pichincha | 0,021 | 18 |
| 19 | 19,1 | Pichincha | 0,033 | 19 |
| | 19,2 | Pichincha | 0,033 | 19 |
| 20 | 20,1 | Pichincha | 0,020 | 20 |
| | 20,2 | Pichincha | 0,021 | 20 |
| 21 | 21,1 | Pichincha | 0,020 | 21 |
| | 21,2 | Pichincha | 0,022 | 21 |
| 22 | 22,1 | Pichincha | 0,020 | 22 |
| | 22,2 | Pichincha | 0,020 | 22 |
| 23 | 23,1 | Chimborazo | 0,025 | 23 |
| | 23,2 | Chimborazo | 0,020 | 23 |
| 24 | 24,1 | Chimborazo | 0,020 | 24 |
| | 24,2 | Chimborazo | 0,020 | 24 |
| 25 | 25,1 | Chimborazo | 0,020 | 25 |

| | | | | |
|----|------|------------|-------|----|
| | 25,2 | Chimborazo | 0,020 | 25 |
| 26 | 26,1 | Chimborazo | 0,028 | 26 |
| | 26,2 | Chimborazo | 0,028 | 26 |
| 27 | 27,1 | Chimborazo | 0,031 | 27 |
| | 27,2 | Chimborazo | 0,031 | 27 |
| 28 | 28,1 | Chimborazo | 0,020 | 28 |
| | 28,2 | Chimborazo | 0,021 | 28 |
| 29 | 29,1 | Chimborazo | 0,029 | 29 |
| | 29,2 | Chimborazo | 0,030 | 29 |
| 30 | 30,1 | Chimborazo | 0,030 | 30 |
| | 30,2 | Chimborazo | 0,031 | 30 |
| 31 | 31,1 | Chimborazo | 0,020 | 31 |
| | 32,2 | Chimborazo | 0,020 | 31 |
| 32 | 32,1 | Chimborazo | 0,020 | 32 |
| | 32,2 | Chimborazo | 0,020 | 32 |
| 33 | 33,1 | Chimborazo | 0,020 | 33 |
| | 33,2 | Chimborazo | 0,020 | 33 |
| 34 | 34,1 | Chimborazo | 0,020 | 34 |
| | 34,2 | Chimborazo | 0,020 | 34 |
| 35 | 35,1 | Chimborazo | 0,020 | 35 |
| | 35,2 | Chimborazo | 0,020 | 35 |
| 36 | 36,1 | Cotopaxi | 0,057 | 36 |
| | 36,2 | Cotopaxi | 0,056 | 36 |
| 37 | 37,1 | Cotopaxi | 0,061 | 37 |
| | 37,2 | Cotopaxi | 0,059 | 37 |
| 38 | 38,1 | Cotopaxi | 0,046 | 38 |
| | 38,2 | Cotopaxi | 0,043 | 38 |
| 39 | 39,1 | Cotopaxi | 0,056 | 39 |
| | 39,2 | Cotopaxi | 0,051 | 39 |
| 40 | 40,1 | Cotopaxi | 0,043 | 40 |
| | 40,2 | Cotopaxi | 0,039 | 40 |
| 41 | 41,1 | Cotopaxi | 0,021 | 41 |
| | 41,2 | Cotopaxi | 0,025 | 41 |
| 42 | 42,1 | Cotopaxi | 0,065 | 42 |
| | 42,2 | Cotopaxi | 0,062 | 42 |
| 43 | 43,1 | Cotopaxi | 0,039 | 43 |
| | 43,2 | Cotopaxi | 0,033 | 43 |
| 44 | 44,1 | Tungurahua | 0,037 | 44 |
| | 44,2 | Tungurahua | 0,037 | 44 |

| | | | | |
|----|------|------------|-------|----|
| 45 | 45,1 | Tungurahua | 0,045 | 45 |
| | 45,2 | Tungurahua | 0,044 | 45 |
| 46 | 46,1 | Tungurahua | 0,059 | 46 |
| | 46,2 | Tungurahua | 0,054 | 46 |
| 47 | 47,1 | Tungurahua | 0,041 | 47 |
| | 47,2 | Tungurahua | 0,039 | 47 |
| 48 | 48,1 | Tungurahua | 0,070 | 48 |
| | 48,2 | Tungurahua | 0,065 | 48 |
| 49 | 49,1 | Tungurahua | 0,040 | 49 |
| | 49,2 | Tungurahua | 0,044 | 49 |
| 50 | 50,1 | Tungurahua | 0,055 | 50 |
| | 50,2 | Tungurahua | 0,057 | 50 |

A continuación el formato que se utilizó en la encuesta

Tabla sobre la muestra para la selección de personas que realizaran la muestra aleatoria simple.

| NÚMERO | CÓDIGO | REALIZA LA ENCUESTA O NO LA REALIZA |
|--------|--------|-------------------------------------|
| 1 | A1 | SI |
| 2 | A2 | SI |
| 3 | A3 | NO |
| 4 | A4 | NO |
| 5 | A5 | SI |
| 6 | A6 | SI |
| 7 | A7 | SI |
| 8 | A8 | SI |
| 9 | A9 | NO |
| 10 | A10 | NO |
| 11 | A11 | SI |
| 12 | A12 | SI |
| 13 | A13 | NO |
| 14 | A14 | NO |
| 15 | A15 | SI |
| 16 | A16 | SI |
| 17 | A17 | SI |
| 18 | A18 | SI |
| 19 | A19 | NO |
| 20 | A20 | NO |

| | | |
|----|-----|----|
| 21 | A21 | NO |
| 22 | A22 | SI |
| 23 | A23 | NO |
| 24 | A24 | SI |
| 25 | A25 | SI |
| 26 | A26 | SI |
| 27 | A27 | SI |
| 28 | A28 | NO |
| 29 | A29 | NO |
| 30 | A30 | NO |
| 31 | A31 | SI |
| 32 | A32 | NO |
| 33 | A33 | SI |
| 34 | A34 | SI |
| 35 | A35 | NO |
| 36 | A36 | SI |
| 37 | A37 | SI |
| 38 | A38 | NO |
| 39 | A39 | SI |
| 40 | A40 | SI |
| 41 | A41 | SI |
| 42 | A42 | SI |
| 43 | A43 | NO |
| 44 | A44 | SI |
| 45 | A45 | SI |
| 46 | A46 | SI |
| 47 | A47 | NO |
| 48 | A48 | NO |
| 49 | A49 | NO |
| 50 | A50 | SI |

Evaluación sobre la presencia de AFLATOXINAS en leche cruda

La siguiente encuesta es para verificar el conocimiento sobre la presencia de aflatoxinas en leche cruda de vaca, sus respuestas serán estrictamente confidenciales.

Marque la respuesta que elija con un círculo o una X

- 1. Que piensa Ud. que es una aflatoxina**

- a.- Un microorganismo patógeno que afecta a la salud del animal
- b.- un metabolito producido por hongos que afecta a la salud del animal
- c.- no sé qué es una aflatoxina

2. Ud. porque razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en el alimento

- a.- Mal almacenamiento del alimento
- b.- porque el alimento se caducó
- c.- por el mal proceso de higienización

3. Ud. sabía que las aflatoxinas pueden estar presentes en la leche?

- a.- SI
- b.- NO

4. Ud. Porque razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en la leche cruda de vaca

- a.- por que el animal ingirió alimento contaminado por hongos
- b.- por que el animal ingirió alimento contaminado por microorganismos patógenos
- c.- ninguna de las anteriores

5. Sabía Ud. Que el ser humano al ingerir leche con aflatoxinas causa cáncer hepático.

- a.- SI
- b.- NO

Tabla de resultados de la encuesta a los pequeños productores de leche cruda

| PREGUNTAS | AZUAY | | | COTOPAXI | | | TUNGURAHUA | | | CHIMBORAZO | | | PICHINCHA | | |
|--|-------|-----|-----|----------|-----|-----|------------|-----|-----|------------|-----|-----|-----------|-----|-----|
| | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C | A | B | C |
| Que piensa Ud. que es una aflatoxina | | | | | | | | | | | | | | | |
| RESPUESTA (# DE PERSONAS) | 10 | 5 | 35 | 8 | 5 | 37 | 20 | 18 | 12 | 13 | 27 | 10 | 6 | 20 | 24 |
| % | 4% | 2% | 14% | 3% | 2% | 15% | 8% | 7% | 5% | 5% | 11% | 4% | 2% | 8% | 10% |
| Ud. porque razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en el alimento | | | | | | | | | | | | | | | |
| RESPUESTA (# DE PERSONAS) | 11 | 20 | 19 | 10 | 18 | 22 | 8 | 25 | 17 | 9 | 11 | 30 | 8 | 10 | 32 |
| % | 4% | 8% | 8% | 4% | 7% | 9% | 3% | 10% | 7% | 4% | 4% | 12% | 3% | 4% | 13% |
| Ud. sabía que las aflatoxinas pueden estar presentes en la leche? | | | | | | | | | | | | | | | |
| RESPUESTA (# DE PERSONAS) | 33 | 17 | 0 | 28 | 22 | 0 | 33 | 17 | 0 | 38 | 12 | 0 | 21 | 29 | 0 |
| % | 13% | 7% | 0% | 11% | 9% | 0% | 13% | 7% | 0% | 15% | 5% | 0% | 8% | 12% | 0% |
| Ud. Porque razón piensa que existe la presencia de aflatoxina en la leche cruda de vaca | | | | | | | | | | | | | | | |
| RESPUESTA (# DE PERSONAS) | 33 | 7 | 10 | 12 | 21 | 17 | 12 | 8 | 30 | 23 | 14 | 13 | 27 | 14 | 9 |
| % | 13% | 3% | 4% | 5% | 8% | 7% | 5% | 3% | 12% | 9% | 6% | 5% | 11% | 6% | 4% |
| Sabía Ud. Que el ser humano al ingerir leche con aflatoxinas causa cáncer hepático. | | | | | | | | | | | | | | | |
| RESPUESTA (# DE PERSONAS) | 21 | 29 | 0 | 25 | 25 | 0 | 43 | 7 | 0 | 31 | 19 | 0 | 27 | 23 | 0 |
| % | 8% | 12% | 0% | 10% | 10% | 0% | 17% | 3% | 0% | 12% | 8% | 0% | 11% | 9% | 0% |

A continuación el formato que se utilizó en la segunda encuesta.

Evaluación sobre la presencia de AFLATOXINAS en leche cruda

La siguiente encuesta es para verificar el conocimiento sobre la presencia de aflatoxinas en leche cruda de vaca, sus respuestas serán estrictamente confidenciales.

Marque la respuesta que elija con un círculo o una X

1.- ¿Ud. sabía que la leche puede contaminarse con hongos procedentes de la alimentación de las vacas?

SI
NO

2.- ¿Cuáles piensa Ud. que son los problemas para la salud humana que pueden causar las leches contaminadas por hongos?

- A.- Causan salmonelosis por la bacteria *Salmonella*
- B.- Causan Brucelosis por la bacteria *Brucella mellitensis*
- C.- Daños por Aflatoxinas causadas por hongos
- D.- Desconozco

3.- ¿Qué es una Aflatoxina?

- A.- Un microorganismo patógeno que afecta a la salud del animal
- B.- Un metabolito producido por hongos que afecta a la salud del animal
- C.- No sé qué es una aflatoxina

4.- ¿Cuál cree Ud. que es la causa que pueda provocar la presencia de aflatoxinas en la leche?

- A.- Los animales ingirieron alimento mal almacenado o dañado
- B.- Por no enfriar la leche tras el ordeño.
- C.- Desconozco la causa.

5.- ¿Ud. conoce el daño que puede causar las aflatoxinas de la leche en la salud humana?

- A.- Produce un efecto beneficioso sobre la salud.
- B.- Produce la enfermedad de la diabetes.
- C.- Produce cáncer hepático.
- D.- Desconozco el efecto.

Tabla de resultados de la segunda encuesta a los pequeños productores de leche cruda

| PREGUNTAS | AZUAY | | | | COTOPAXI | | | | TUNGURAHUA | | | | CHIMBORAZO | | | | PICHINCHA | | | |
|---|-------|----|-----|-----|----------|----|-----|-----|------------|----|-----|-----|------------|-----|-----|-----|-----------|----|-----|-----|
| ¿Ud. sabía que la leche puede contaminarse con hongos procedentes de la alimentación de las vacas? | SI | NO | | | SI | NO | | | SI | NO | | | SI | NO | | | SI | NO | | |
| # de personas | 28 | 22 | 0 | | 30 | 20 | 0 | | 29 | 21 | 0 | | 23 | 27 | 0 | | 41 | 9 | 0 | |
| % | 11% | 9% | 0% | | 12% | 8% | 0% | | 12% | 8% | 0% | | 9% | 11% | 0% | | 16% | 4% | 0% | |
| ¿Cuáles piensa Ud. que son los problemas para la salud humana que pueden causar las leches contaminadas por hongos? | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D |
| # de personas | 8 | 10 | 3 | 29 | 5 | 4 | 2 | 39 | 7 | 13 | 5 | 25 | 7 | 5 | 3 | 35 | 2 | 5 | 16 | 27 |
| % | 3% | 4% | 1% | 12% | 2% | 2% | 1% | 16% | 3% | 5% | 2% | 10% | 3% | 2% | 1% | 14% | 1% | 2% | 6% | 11% |
| ¿Qué es una Aflatoxina? | A | B | C | | A | B | C | | A | B | C | | A | B | C | | A | B | C | |
| # de personas | 12 | 5 | 33 | | 4 | 3 | 43 | | 15 | 9 | 25 | | 7 | 6 | 38 | | 12 | 10 | 28 | |
| % | 5% | 2% | 13% | 0% | 2% | 1% | 17% | 0% | 6% | 4% | 10% | 0% | 3% | 2% | 15% | 0% | 5% | 4% | 11% | 0% |
| ¿Cuál cree Ud. que es la causa que pueda provocar la presencia de aflatoxinas en la leche? | A | B | C | | A | B | C | | A | B | C | | A | B | C | | A | B | C | |
| # de personas | 3 | 2 | 45 | | 12 | 21 | 17 | | 12 | 8 | 30 | | 23 | 14 | 13 | | 27 | 14 | 9 | |
| % | 1% | 1% | 18% | 0% | 5% | 8% | 7% | 0% | 5% | 3% | 12% | 0% | 9% | 6% | 5% | 0% | 11% | 6% | 4% | 0% |
| ¿Ud. conoce el daño que puede causar las aflatoxinas de la leche en la salud humana? | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D | A | B | C | D |
| # de personas | 3 | 5 | 2 | 40 | 2 | 2 | 3 | 43 | 2 | 9 | 15 | 34 | 3 | 2 | 4 | 31 | 5 | 3 | 10 | 32 |
| % | 1% | 2% | 1% | 16% | 1% | 1% | 1% | 17% | 1% | 4% | 6% | 14% | 1% | 1% | 2% | 12% | 2% | 1% | 4% | 13% |

Carta de Calibración del equipo para la lectura de aflatoxina en Leche



UNISENSOR READSENSOR APP038/APP039

CERTIFICATE OF CONFORMITY

TO VALIDATE AND TO AUTOMATICALLY START THE WARRANTY OF THIS UNIT, THIS DOCUMENT HAS TO BE FILED BY YOU AND SENT BACK TO THE ATTENTION OF UNISENSOR - QA DEPARTMENT

SERIES EQUIPMENT

AP-1939

INITIAL CALIBRATION

1 Mau03-09:53 23 -621
CHECK_VS_AGC090
Sample ID: 211
X27 0 Result:OK
AKIS GOOD 0 0:1016

The READSENSOR / UNISENSOR system complies with the parameters stipulated by the Belgian regulations.

QC signature

Date: 13 Aug 2017

A handwritten signature in black ink that reads "Martin Ester".

