



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA AGROINDUSTRIA**

**“EVALUACIÓN DE LA OCURRENCIA NATURAL DE  
OCRATOXINA A EN QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.)  
CULTIVADA EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR:**

**JIMMY JERKOF PALMA VILLARROEL**

Riobamba – Ecuador

2022



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA AGROINDUSTRIA**

**“EVALUACIÓN DE LA OCURRENCIA NATURAL DE  
OCRATOXINA A EN QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.)  
CULTIVADA EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”**

**Trabajo de Titulación**

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR: JIMMY JERKOF PALMA VILLARROEL**

**DIRECTORA: Ing. PAOLA FERNANDA ARGUELLO HERNÁNDEZ Msc.**

Riobamba – Ecuador

2022

**©2022, Jimmy Jerkof Palma Villarroel**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, JIMMY JERKOF PALMA VILLARROEL, declaro que el presente Trabajo de Titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 09 de agosto de 2022.

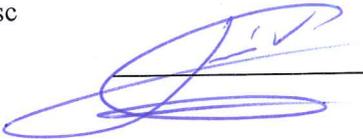


**Jimmy Jerkof Palma Villarroel**

**050413142-6**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA AGROINDUSTRIA**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El Trabajo de Titulación: Tipo: Trabajo Experimental: “EVALUACIÓN DE LA OCURRENCIA NATURAL DE OCRATOXINA A EN QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd.) CULTIVADA EN LA PROVINCIA DE CHIMBORAZO”, realizado por el señor: **JIMMY JERKOF PALMA VILLARROEL**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
Ing. Wilson Javier Villagrán Cáceres. Msc <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>		2022-08-09
Ing. Paola Fernanda Arguello Hernández. Msc <b>DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN</b>		2022-08-09
Dr. Juan Marcelo Ramos Flores <b>MIEMBRO DE TRIBUNAL</b>		2022-08-09

## **DEDICATORIA**

A Dios y a la virgen santísima por darme la salud en este tiempo de pandemia, también por todos los buenos y malos momentos pasados ya que gracias a ellos se formó mi personalidad y carácter. A mis padres Jimmy Patricio Palma Mena y Karla Alexandra Villarroel Scotland que son el pilar fundamental de mi vida; que guiaron mis pasos enseñándome que el éxito y las buenas recompensas son el resultado de un trabajo constante, honesto y arduo; por dedicar su tiempo en enseñarme que lo sentimental es mejor que lo material especialmente por formarme para ser una buena persona en cualquier circunstancia de la vida. Finalmente, esto va dedicado a ellos por su esfuerzo diario que en ocasiones eran noches de angustia y preocupación. Este logro es suyo. A mis tíos, tías, primos, primas, hermanas y amigos que por medio del apoyo incondicional me ayudaron a superarme y a salir de los momentos más difíciles de la vida. A mis abuelos terrenales Margot Mena y Wilfrido Palma, así como también a mis abuelos celestiales Martha Scotland y Walter Villarroel, por los pequeños y grandes consejos de vida que algún día me supieron manifestar.

*Jerkof*

## AGRADECIMIENTO

A Dios y a la Virgen Santísima por todas sus bendiciones en estas épocas tan difíciles de pandemia. Agradezco al Dr. Iván Samaniego Maigua director del Departamento de Nutrición y Calidad del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias “INIAP” estación Experimental Santa Catalina, **COTUTOR**, del presente trabajo de integración curricular. A la Ing. Paola Arguello, al Ing. Javier Álvarez y al Ing. Bladimir Ortiz quienes aportaron conocimientos y consejos fundamentales para lograr culminar este proyecto de una manera impecable, a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y a los docentes de la Facultad de Ciencias Pecuarias, por abrirme las puertas de sus instalaciones, aulas y áreas recreativas; por ejercer su trabajo de forma paciente, honesta y responsable. Al Comité Europeo para la Formación y Agricultura (CEFA) organización la cual financió la investigación por medio del proyecto de investigación interinstitucional “Evaluación de la ocurrencia de Ocratoxina A en quinua, procedente de las principales zonas productoras de la provincia de Chimborazo” convenio ejecutado en conjunto con ESPOCH, INIAP y los principales productores chimboracenses de quinua. A mis padres por su apoyo económico, emocional y su amor constante a pesar de cualquier tipo de circunstancias que transcurrieron a lo largo del tiempo, por siempre estar en los momentos difíciles y erráticos. A todas las personas que directa o indirectamente intervinieron dentro de este proyecto, permitiendo así que se lo desarrolle de una forma rápida, correcta y sin ninguna interferencia

*Jerkof*

## TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPITULO I

1.	REVISION DE LITERATURA.....	4
1.1.	Quinoa.....	4
1.2.	Origen y Descripción Botánica de la Quinoa.....	5
1.3.	Importancia de la Quinoa.....	6
1.4.	Producción de Quinoa en Ecuador.....	7
1.5.	Exportaciones de Quinoa.....	9
1.6.	Manejo Cosecha y Poscosecha de Quinoa.....	9
1.6.1.	<i>Siega</i> .....	9
1.6.2.	<i>Emparve</i> .....	10
1.6.3.	<i>Trilla</i> .....	11
1.6.4.	<i>Limpieza (Venteo)</i> .....	12
1.6.5.	<i>Desaponificación</i> .....	12
1.6.6.	<i>Secado</i> .....	13
1.6.7.	<i>Limpieza</i> .....	13
1.6.8.	<i>Clasificación</i> .....	14
1.6.8.1.	<i>Clasificado tradicional</i> .....	14
1.6.8.2.	<i>Clasificado mejorado</i> .....	14
1.6.9.	<i>Almacenamiento</i> .....	15
1.7.	Normativa de Quinoa.....	16
1.8.	Micotoxinas.....	18
1.8.1.	<i>Definición</i> .....	18
1.8.2.	<i>Impacto a la Salud</i> .....	19
1.8.3.	<i>Principales Micotoxinas en Cereales</i> .....	19
1.9.	Ocratoxina A.....	20
1.9.1.	<i>Toxicidad</i> .....	20

1.9.1.1.	<i>Toxicidad Aguda</i> .....	21
1.9.1.2.	<i>Toxicidad Crónica</i> .....	21
1.10.	<b>Métodos de detección</b> .....	22
1.10.1.	<b>Método ELISA</b> .....	22
1.10.1.1.	<i>ELISA competitivo directo</i> .....	22
1.10.1.2.	<i>ELISA competitivo indirecto</i> .....	23
1.11.	<b>Cromatografía</b> .....	23
1.12.	<b>Tipos de Cromatografía</b> .....	23
1.13.	<b>Cromatografía Líquida de Alta Resolución</b> .....	24
1.13.1.	<i>Equipo para Cromatografía de Alta Resolución</i> .....	25

## CAPITULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	27
2.1.	<b>Localización y Duración Del Experimento</b> .....	27
2.2.	<b>Unidades Experimentales</b> .....	27
2.3.	<b>Plan de muestreo</b> .....	28
2.4.	<b>Muestreo</b> .....	30
2.5.	<b>Materiales, Reactivos y Equipos</b> .....	31
2.5.1.	<i>Materiales</i> .....	31
2.5.2.	<i>Reactivos</i> .....	32
2.5.3.	<i>Equipos</i> .....	32
2.6.	<b>Mediciones Experimentales</b> .....	33
2.7.	<b>Análisis Estadísticos</b> .....	33
2.8.	<b>Procedimiento Experimental</b> .....	33
2.8.1.	<i>Preparación de reactivos</i> .....	34
2.8.1.1.	<i>Solución de sulfacrómica</i> .....	34
2.8.1.2.	<i>Solución de Buffer Fosfato Salino PBS 0,1%</i> .....	34
2.8.1.3.	<i>Solución de Bicarbonato de Sodio al 3%</i> .....	34
2.8.1.4.	<i>Solución de extracción</i> .....	34
2.8.1.5.	<i>Solución de la fase móvil</i> .....	34
2.8.2.	<i>Preparación de estándares</i> .....	35
2.8.2.1.	<i>Solución estándar de calibración (50 ng/mL)</i> .....	35
2.8.3.	<i>Preparación de la muestra</i> .....	35
2.8.4.	<i>Contaminación de la muestra</i> .....	36
2.8.5.	<i>Extracción de la muestra</i> .....	36
2.8.6.	<i>Purificación de la muestra</i> .....	36

2.8.7.	<i>Cuantificación por HPLC</i> .....	36
2.8.8.	<i>Lavado y desinfección de materiales</i> .....	37
2.8.9.	<i>Lavado del equipo HPLC</i> .....	37
2.8.10.	<i>Determinación de Humedad</i> .....	37
2.8.11.	<i>Determinación de Actividad de Agua</i> .....	38
2.9.	<b>Metodología de Evaluación</b> .....	38
2.9.1.	<i>Ocurrencia natural de Ocratoxina A en quinua</i> .....	38
2.9.2.	<i>Humedad</i> .....	38
2.9.3.	<i>Actividad de agua</i> .....	39

### **CAPITULO III**

3.	<b>MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS</b> .....	40
3.1.	<b>Humedad</b> .....	40
3.2.	<b>Actividad de agua</b> .....	41
3.3.	<b>Ocurrencia de Ocratoxina A</b> .....	42
3.3.1.	<i>Ocurrencia de Ocratoxina A en quinua a nivel de Provincia</i> .....	44

	<b>CONCLUSIONES</b> .....	47
--	---------------------------	----

	<b>RECOMENDACIONES</b> .....	48
--	------------------------------	----

### **BIBLIOGRAFIA**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Contenido nutricional de la quinua .....	7
<b>Tabla 2-1:</b>	Minerales de la quinua .....	7
<b>Tabla 3-1:</b>	Producción de quinua en el Ecuador, año 2019.....	8
<b>Tabla 4-1:</b>	Ranking de producción de quinua en el Ecuador. ....	8
<b>Tabla 5-1:</b>	Clasificación del grano de quinua según el diámetro .....	15
<b>Tabla 6-1:</b>	Requerimientos generales de la norma CXS 333-2019 .....	17
<b>Tabla 7-1:</b>	Requerimientos sobre micotoxinas norma CXS 193-1995.....	17
<b>Tabla 8-1:</b>	Principales especies, metabolitos y efectos de micotoxinas en alimentos .....	19
<b>Tabla 9-1:</b>	DL50 de OTA en diferentes especies.....	21
<b>Tabla 1-2:</b>	Muestras utilizadas en el estudio de ocurrencia natural de OTA.....	28
<b>Tabla 2-2:</b>	Número de muestras elementales y peso de la muestra global .....	30
<b>Tabla 3-2:</b>	Valores en $\mu\text{L}$ para la preparación de estándares .....	35
<b>Tabla 1-3:</b>	Análisis de humedad en quinua de Chimborazo .....	40
<b>Tabla 2-3:</b>	Análisis de $a_w$ en quinua de Chimborazo .....	41
<b>Tabla 3-3:</b>	Análisis de Ocratoxina A en quinua.....	42
<b>Tabla 4-3:</b>	Cuantificación de muestras contaminada .....	44
<b>Tabla 5-3:</b>	Comparación de la muestra 12-2104 con la norma CXS 193-1995 .....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b>	Cultivo de quinua .....	4
<b>Figura 2-1:</b>	Grano de quinua .....	5
<b>Figura 3-1:</b>	Corte de la planta de quinua .....	10
<b>Figura 4-1:</b>	Emparvado de quinua .....	11
<b>Figura 5-1:</b>	Características de la quinua en el emparvado .....	11
<b>Figura 6-1:</b>	Trilladora de quinua .....	12
<b>Figura 7-1:</b>	Venteo tradicional de quinua .....	12
<b>Figura 8-1:</b>	Clasificador semi-industrial de quinua .....	15
<b>Figura 9-1:</b>	Almacenamiento de la quinua .....	16
<b>Figura 10-1:</b>	Formulas químicas de algunas micotoxinas .....	18
<b>Figura 11-1:</b>	Estructura química de la Ocratoxina A .....	20
<b>Figura 12-1:</b>	Esquema del equipo ELISA .....	22
<b>Figura 13-1:</b>	Esquema del equipo para cromatografía de alta resolución .....	26
<b>Figura 1-2:</b>	Departamento de Nutrición y Calidad (laboratorio LSAIA) .....	27
<b>Figura 2-2:</b>	Muestras empacadas de quinua .....	28
<b>Figura 3-2:</b>	Cromatógrafo Aglient 1100 series .....	37

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1-1:</b> Exportaciones de quinua al mundo. ....	9
<b>Gráfico 1-3:</b> Porcentajes de la Ocurrencia de OTA en quinua en Chimborazo.....	44

## **ÍNDICE DE ANEXOS**

- ANEXO A:** AREAS DE TRABAJO UTILIZADAS
- ANEXO B:** ESTÁNDAR MADRE (1.65  $\mu\text{g/mL}$ ) Y ESTÁNDAR (50  $\text{ng/mL}$ )
- ANEXO C:** MOLIENDA MUESTRAS DE QUINUA
- ANEXO D:** PROCESO DE CUANTIFICACIÓN DE OTA EN QUINUA
- ANEXO E:** DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y ACTIVIDAD DE AGUA
- ANEXO F:** MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS DE OCRATOXINA A
- ANEXO G:** RESULTADOS DE HUMEDAD EN QUINUA DE CHIMBORAZO
- ANEXO H:** RESULTADOS DE  $a_w$  EN QUINUA DE CHIMBORAZO
- ANEXO I:** RESULTADOS DE OCRATOXINA A EN QUINUA
- ANEXO J:** CROMATOGRAMAS DE MUESTRA 21-1204

## RESUMEN

El objetivo de estudio fue determinar la ocurrencia natural de Ocratoxina A en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivada en la provincia de Chimborazo, para esto se establecieron 3 cantones en función de las necesidades de cada organización exportadora, considerando las condiciones climáticas de cada zona (Riobamba, Guamote y Colta). En base a la regulación (EC) N° 401/2006; se estimó un tamaño de unidad de análisis de 2 kg teniendo una cantidad total de 49 muestras. Una vez obtenidas las muestras fueron enviadas al laboratorio L-SAIA para realizar los análisis correspondientes. El análisis de OTA se basó el método validado por (Moreno, 2022 pp. 41 – 46), el cual está basado en el método oficial AOAC 2004.10; el análisis de humedad se realizó siguiendo el método oficial NTE INEN 1235 (1987, pp.2-3) y para el análisis de actividad de agua se utilizó el método “punto de rocío”. En base a los resultados de los análisis, la humedad y la aw de las muestras de quinua no presentaron diferencias significativas ( $P$  menor que 0.05), obteniendo para la humedad y la aw valores promedio menores al 8% y a 0,4. En el análisis de OTA se obtuvo únicamente en el cantón Colta una muestra contaminada con 51,38  $\mu\text{g}/\text{kg}$  siendo superior al nivel máximo permitido (5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), estableciendo una incidencia natural de OTA del 2% para la provincia de Chimborazo, por lo que se recomienda realizar un análisis microbiológico además del análisis de ocurrencia de OTA en la producción y procesamiento de la quinua de Chimborazo.

**Palabras clave:** <CROMATOGRAFÍA>, <OCRATOXINA A>, <QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd)>, <OCURRENCIA>, <FLUORESCENCIA>.



  
Ing. Cristian Castillo

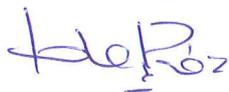
1837-DBRA-UTP-2022

## ABSTRACT

The objective of the study was to determine the natural occurrence of Ochratoxin A in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) grown in the province of Chimborazo in three cantons according to the needs of each exporting organization and the climatic conditions of each zone. They were Riobamba, Guamote and Colta. Based on the regulation (EC) N° 401/2006, an analysis unit size of 2 kg was estimated for a total of 49 samples. Once the samples were obtained, they were sent to the L-SAIA laboratory for analysis. The OTA analysis was based on the method validated by Moreno (2022 pp. 41 - 46), which is based on the official method AOAC 2004.10. The moisture analysis was carried out following the official method NTE INEN 1235 (1987, pp.2-3) and for the water activity analysis the "dew point" method was used. Based on the results of the analyses, the moisture and aw of the quinoa samples did not show significant differences (P less than 0.05), obtaining for moisture and aw average values of less than 8% and 0.4. In the OTA analysis, only one contaminated sample was obtained in the canton of Colta with 51.38 µg/kg which is higher than the maximum level allowed (5 µg/kg). A natural incidence of OTA of 2% for the province of Chimborazo was established, therefore it is recommended to perform a microbiological analysis in addition to the analysis of occurrence of OTA in the production and processing of quinoa from Chimborazo.

**Keywords:** <CHROMATOGRAPHY>, <OCRATOXIN A>, <QUINOA (*Chenopodium quinoa* Willd)>, <OCURRENCE>, <FLUORESCENCE>.

1837-DBRA-UTP-2022



**Dra. Gloria Isabel Escudero Orozco**  
**0602698904**

## INTRODUCCIÓN

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es un pseudocereal que tiene su origen en el Imperio Incaico (Colombia, Argentina, Chile, Ecuador, Perú). En Ecuador, la quinua se produce en su totalidad en la región Interandina o Sierra, específicamente en provincias como: Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura y Pichincha; generando una superficie plantada de 2215 hectáreas y una superficie cosechada de 2048 hectáreas, dando como resultado una producción de 2146 toneladas métricas, de las cuales se comercializaron 2039 toneladas métricas (INEC, 2018, p. 65).

Estudios realizados por la FAO en el año 2013, reportaron que el mercado de la quinua está en crecimiento en países europeos y en Estados Unidos, su producción se ha expandido en países como Francia, Inglaterra, Suecia, Dinamarca, Holanda e Italia. El precio de la quinua según el (Sistema de Información Pública Agropecuaria del Ecuador, 2020, p. 32) se estableció en diciembre en \$1,95 el kilogramo a nivel nacional, mientras que en mercados internacionales en el año 2019 el precio por kilogramo de quinua fue de \$3,58. En este periodo se observó un notable incremento del precio del grano en el mercado internacional con relación al precio local, lo que permite a un exportador cobrar el doble por su producto.

Según la (Organización Mundial de la Salud, 2018, p. 28) uno de los parámetros más estudiados es la presencia de micotoxinas, las cuales se producen de forma natural y es muy común encontrarlas en alimentos que no han sido manipulados de forma correcta, ya sea por parte de los productores, operarios de las empresas o por los mismos consumidores; al momento de procesarlos, consumirlos y especialmente al almacenarlos (Santillán et al., 2017: p.4), menciona que la mayoría de micotoxinas son producidas por cuatro géneros de hongos: *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Alternaria*. A excepción de las fumonisinas, las micotoxinas tienden a acumularse en la zona grasa de animales y plantas, debido a que presentan una gran afinidad con los lípidos; además tienen la capacidad de fijarse con las proteínas plasmáticas (Ravelo et al. 2011: p.1216).

Los alimentos que presentan con mayor frecuencia este tipo de toxinas naturales son: los cereales (quinua), frutos secos, especias, frutas desecadas, manzanas y granos de café, los cuales generalmente se encuentran en entornos cálidos y húmedos (Organización Mundial de la Salud, 2018). Reportes de la (Organización Mundial de la Salud, 2018, 34), afirman que la Ocratoxina A; es una de las micotoxinas más frecuentes y tóxicas presentes en los alimentos, la cual fue descubierta en 1965 como un metabolito secundario de la cepa de *A. ochraceus* (Brera et al., 2008, pp.363-427).

Según Ravelo et al. (2011, pp.1216-1220) la Ocratoxina A, es soluble en agua y disolventes orgánicos, y es producida principalmente por 2 especies de hongos (*Aspergillus* y *Penicillium*); así mismo este metabolito es considerado como un contaminante natural que ocasiona efectos negativos para la salud. Una vez ingerida, esta tóxica es absorbida por el intestino delgado, posteriormente es transportada por la sangre y llega hasta los riñones y en menor grado al hígado, grasa y músculos. Se ha comprobado que la Ocratoxina A, es nefrotóxica y hepatotóxica, es decir; puede ocasionar daños renales llegando a afectar considerablemente a las personas a tal punto de necesitar diálisis de forma permanente; también afectan al desarrollo fetal y al desarrollo del sistema inmunitario.

Según Guarniz y Valdez (2019, pp.333-334), afirma que los cereales son uno de los productos mayormente consumidos en Europa. Varios registros de datos aseguran que la contaminación por OTA afecta en mayor porcentaje a los cultivos orgánicos, puesto que; al no utilizar insecticidas, plaguicidas o cualquier otro insumo químico que evite la proliferación de hongos y otros organismos vivos, permite que los cultivos sirvan de sustrato para el desarrollo de microorganismos, ocasionando que el producto pierda su inocuidad y calidad.

Según Guarniz y Valdez (2019, pp.333-334) mencionan que los hongos de la cepa *A. ochraceus* pueden llegar a generar de 1,0 a 18,1 ppb de OTA mientras que los hongos de cepas de *Penicillium* pueden generar como máximo 2 ppb de OTA, durante 7 días a temperaturas de 25 °C a 27°C; estos valores dependerán de las condiciones climáticas a la que esté sometido dicho microorganismo.

Según Ravelo et al. (2011, pp. 1216-1218), afirma que la población está en constante crecimiento, por lo cual; se exporta este pseudocereal desde la zona andina de América, estableciendo normativas extremadamente estrictas como el Codex Alimentarius. Varias organizaciones han establecido parámetros obligatorios a cumplir por parte de los productos relacionados con micotoxinas, una de estos parámetros es el límite máximo de contaminación. La Unión Europea en el Reglamento (CE) No 1881/2006, ha establecido un límite máximo de ingesta semanal tolerable para OTA en cereales no procesados de 5 µg/kg.

El contemporáneo trabajo busca determinar y cuantificar el contenido de Ocratoxina A presente en el pseudocereal quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) producido en la provincia de Chimborazo, debido a que dicha micotoxina además de presentar una gran incidencia en los cereales, genera efectos negativos para la salud de los consumidores y dificulta la exportación de este producto. Las mencionadas exportaciones se ven controladas por parte de organizaciones internacionales descritas en los antecedentes, los cuales sustentan el planteamiento del problema. Los cultivos de quinua están expuestos constantemente a cambios climáticos y precipitaciones

constantes que se dan en los campos de la Sierra Ecuatoriana, debido a este factor pueden llegar a formarse hongos; los cuales son precursores de Ocratoxina A.

Según el INEC (2018, 48), en la provincia de Chimborazo existe una producción de quinua elevada, la cual se comercializa en dicha provincia y en algunos sectores del país a precios considerablemente bajos, en este sentido; los productores corren el riesgo en ocasiones de quedarse con el producto no comercializado; el cual es utilizado como alimento para sus hogares. Debido a estos acontecimientos MAQUITA, SUMAK T y COPROBICH pretenden exportar este pseudocereal que es producido en los cantones de la provincia de Chimborazo. Para lograr el objetivo de las organizaciones, la quinua cultivada debe cumplir con parámetros establecidos dentro de normativas internacionales, destacándose principalmente la presencia de micotoxinas (OTA).

Determinar la presencia de OTA en los cultivos de quinua en la provincia de Chimborazo, es un trabajo de investigación indispensable; debido a que su producción es una de las más representativas del país. Según datos del INEC para el año 2018, en esta provincia existió una superficie plantada de 774 hectáreas y una superficie cosechada de 737 hectáreas, dando una producción anual de 610 toneladas métricas de quinua. Al tener una producción tan elevada, es necesario llevar verificaciones confiables de la contaminación por OTA en sus cultivos, lo cual; permitirá a los productores de la provincia acceder a nuevos nichos de mercado y mejorar sus ingresos económicos, puesto que; según (Medina, 2018, pp. 2-17) se ha reportado que más del 80% de familias ubicadas en el cantón Colta se dedica a la producción y comercialización de quinua, generando de 100 a 300 quintales anuales, los mismo que son producidos de forma tradicional con abonos orgánicos y con una baja utilización de fertilizantes químicos; dicha producción es destinada a la comercialización y consumo propio de los productores

En este contexto, el presente trabajo de investigación tiene como objetivo principal determinar la ocurrencia natural de Ocratoxina A en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivada en la provincia de Chimborazo; lo cual permitirá asegurar la inocuidad del producto y evitar pérdidas económicas para los productores y exportadores de la provincia, así como asegurar su acceso a mercados internacionales y evitar problemas que afecten a la salud de los consumidores. Para cumplir con el propósito planteado se establecen los siguientes objetivos específicos: extraer la OTA de las muestras de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) usando columnas de inmunoafinidad, purificar la OTA empleando la recomendación del fabricante y finalmente cuantificar la presencia natural de OTA en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) por medio de un método analítico validado (HPLC – fluorescencia).

## CAPÍTULO I

### 1. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 1.1. Quinoa

Según FAO (1995, p. 78) la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) es un cereal generalmente explotado como un cultivo andino que presenta una gran ventaja en su producción ya que posee un alto potencial productivo en las exportaciones de la zona agrícola, debido a que este cereal andino contiene una alta cantidad de proteínas en comparación a otros cereales, de tal forma que permite utilizarlo en la alimentación diaria para reemplazar el consumo de carne e incluso de otros alimentos de origen animal altos en aminoácidos.



**Figura 1-1.** Cultivo de quinoa.

**Fuente:** El mundo, 2017.

Según Vega et al. (2010, pp. 2541 - 2547) afirma que, por dicha razón alimenticia, por la facilidad que presenta este grano para acostumbrarse en lugares hasta los 4500 msnm en suelos con pH de 6 a 8,5 y por la resistencia que presenta su producción en zonas con precipitaciones considerablemente bajas con temperaturas altas y suelos altamente salino; el cultivo y explotación de este rubro ya sea de forma artesanal, especializada o industrial, representa una de las actividades más importantes dentro de varios países latinoamericanos como europeos (Villacrés et al., 2011, pp.7-8). Expresa que debido al fácil proceso de aclimatación de la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), tiempo de producción y la estacionalidad, la cantidad de hectáreas cosechadas o producidas variara en cuestión a las regiones en donde esta haya sido cultivada; es decir determinadas regiones con una estacionalidad específica producirán una mayor o menor cantidad de quinoa que otras regiones productoras de este cultivo andino. Generalmente en Ecuador se da una producción y distribución tradicional poco capacitada.

Según Pando y Aguilar (2016, p.121) la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) al ser considerada como un grano integral andino por un grupo de autores, esta posee epispermo, embrión y perisperma. La capa que representa a la parte más superficial del grano es el epispermo el cual

está unida al pericarpio rodeando al embrión. El embrión representa el 30 % de la semilla y está formado por 2 cotiledones y radícula. La reserva de almidón más importante se realiza en el perisperma que comprende el 60% de la semilla, sustituyendo al endospermo. La pigmentación de este grano andino puede ser púrpura, rojo o verde dependiendo de su variedad ya que está sumamente relacionado con la cantidad de perigonio sepaloide que contengan. Al momento de realizar el lavado de quinua para retirar las saponinas del mismo, se retira también el epispermo el cual puede presentar colores blancos, cremas, amarillos, naranjas, rojos, rosados, púrpuras, marrones, grises y negros, el vigor que presenten estos colores depende netamente del proceso de secado y de lavado de la quinua. La envoltura o pericarpio posee una pigmentación diferente a la coloración del epispermo.



**Figura 2-1.** Grano de quinua.

**Fuente:** Eltiempo.com, 2021.

Según Pando y Aguilar (2016, pp.7-10) mencionan también que como el nombre del cereal lo indica este se obtiene de una planta que lleva su mismo nombre. La planta de quinua pertenece al género *Chenopodium* y a la Familia *Amaranthaceae*, es dicotiledónea, goza de hojas anchas y puede llegar a medir de 1 a 2 metros de alto, son conocidas por su característica bisexual y a su autofertilización. El lugar por donde se alimenta la planta son por medio de la raíces pivotantes y fasciculadas, estas se insertan en la tierra generando canales por donde circula el alimento (pueden medir entre 20 a 25 cm de largo).

## **1.2. Origen y Descripción Botánica de la Quinua**

Según Guaminga (2014, pp.3-4) al igual que otros cultivos de cereales, el de quinua nace con la sedentarización de los pueblos, este cultivo data unos 2000 a 3000 años de utilización en lugares como Colombia, Ecuador, Bolivia, Perú, norte de Chile y Argentina. En la actualidad este cereal está formando parte de platos exóticos principalmente de lugares del corredor andino. A pesar que el autor (Guaminga, 2014, pp.3-4) definió el origen de este grano en los lugares ya mencionados aun es un tema de debate la procedencia de la quinua, los lugares más comúnmente debatidos para definir el origen de este grano son: el altiplano Gandarillas, centros de origen en los valles

interandinos y el Lago Titicaca, siendo el último lugar el más fundamentado para considerarlo como el centro de origen de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd).

Según Mujica y Jacobsen (2006, pp 449-450) define la clasificación botánica de la quinua de la siguiente forma:

- **Reino:** Plantae
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Magnoliopsida
- **Orden:** Caryophyllales
- **Familia:** Amaranthaceae
- **Subfamilia:** Chenopodioideae
- **Tribu:** Chenopodieae
- **Género:** *Chenopodium*
- **Especie:** *Chenopodium quinoa* Willd

### 1.3. Importancia de la Quinua

Según Villacrés et al. (2011: pp. 7-9) una de las características por la que destaca la quinua es por su contenido nutricional, este es muy diverso y en relación a los otros cereales el contenido nutricional de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) es abundante. El contenido de carbohidratos, lípidos y proteínas se encuentra estable. Dentro de los carbohidratos se destaca el almidón como una fuente de energía. Dentro de las proteínas el autor define a los aminoácidos esenciales pues están formando parte de este cereal alrededor de 16 a 24 aminoácidos esenciales dentro de los cuales destacan; lisina, arginina e histidina que generalmente se ven relacionados con el progreso intelectual de las personas. Los lípidos que se encuentran en la quinua están localizados en el embrión, obteniendo un aceite de quinua similar en características nutricionales al aceite de soya. En la siguiente tabla se muestra los nutrientes y el contenido nutricional del cultivo andino promedio.

**Tabla 1-1:** Contenido nutricional de la quinua.

NUTRIENTES	CONTENIDO NUTRICIONAL
<b>Proteína</b>	14% - 18%
<b>Carbohidratos</b>	69%
• <b>Almidón</b>	
• <b>Amilosa</b>	50% - 60%
• <b>Amilopectina</b>	20%
• <b>Azucares libres</b>	80%
• <b>Fibra bruta</b>	6,2%
• <b>Fibra soluble</b>	5%
	2,49%
<b>Lípidos</b>	10%
<b>Ácido linolenico y linoleico</b>	55% a 63%

Fuente: (Villacrés et al., 2011).

Realizado por: Palma, J. 2022.

Estudios de Apaza y Delgado (2005, pp.11-12) los contenidos de minerales de la quinua están sumamente relacionados con el contenido de minerales presentes en carnes, huevos y leche; mientras que en el contenido de vitaminas destacan la presencia de la vitamina B, C, E y F.

**Tabla 2-1:** Minerales de la quinua

MINERALES	(mg/g MS)
<b>Fosforo</b>	387
<b>Potasio</b>	697
<b>Calcio</b>	127
<b>Magnesio</b>	270
<b>Sodio</b>	11,5
<b>Hierro</b>	12
<b>Cobre</b>	3,7
<b>Manganeso</b>	7,5
<b>Zinc</b>	4,8

Fuente: (Apaza y Delgado, 2005).

Realizado por: Palma, J. 2022.

#### 1.4. Producción de Quinua en Ecuador

En la tabla 3-1, se puede identificar la producción de quinua en Ecuador, publicada por la Encuesta de superficie y producción agropecuaria continua (INEC, 2018, p. 47). Se puede destacar la participación de provincia de Chimborazo con un 43,70% del total de producción de quinua en el país; siendo esta la provincia que más produce en el Ecuador. Se debe tener en cuenta la amplia diferencia entre producir y comercializar ya que (Medina, 2018, pp.36-37) asegura que la mayor parte

de quinua producida en algunas provincias del Ecuador son destinadas al consumo de las mismas familias productoras; la provincia de Chimborazo lidero las ventas de quinua en el año 2019. En relación al total de quinua vendida en el país, Chimborazo comercializo 1811 Tm.

**Tabla 3-1:** Producción de quinua en el Ecuador, año 2019.

REGIÓN Y PROVINCIA	SUPERFICIE (Has.)		PRODUCCIÓN (Tm.)	VENTAS (Tm.)
	SEMBRADA	COSECHADA		
<b>Región sierra</b>	2,957	2,559	4,505	2,603
<b>Carchi</b>	69	69	197	195
<b>Cotopaxi</b>	634	634	1,778	499
<b>Chimborazo</b>	1,55	1,475	1,969	1,811
<b>Imbabura</b>	669	346	551	89
<b>Pichincha</b>	35	35	10	10
<b>Total nacional</b>	2,957	2,559	4,505	2,603

Fuente: (INEC, 2019).

Realizado por: Palma, J. 2022.

En el año 2020 según el resumen ejecutivo establecido por el (MAG, 2020, 60) menciona que la quinua se encuentra dentro de los productos orgánicos destacables en este año representando el 0,34% de la producción orgánica anual del país superando al café; concentrando el 37,98% de la producción la provincia de Chimborazo mostrando un decremento de la producción de este rubro en comparación al 2019; sin embargo, Chimborazo sigue manteniendo el liderato en el ranking de la producción de quinua del Ecuador siendo 10 veces mayor porcentualmente a Cotopaxi, provincia la cual se ubica en el último escalón del ranking de producción; el cual se muestra en la Tabla 4-1.

**Tabla 4-1:** Ranking de producción de quinua en el Ecuador.

RANKING	PROVINCIA	PRODUCCIÓN ANUAL
<b>1</b>	<b>Chimborazo</b>	37,98%
<b>2</b>	<b>Imbabura</b>	26,53%
<b>3</b>	<b>Tungurahua</b>	26,53%
<b>4</b>	<b>Pichincha</b>	5,29%
<b>5</b>	<b>Cotopaxi</b>	3,66%

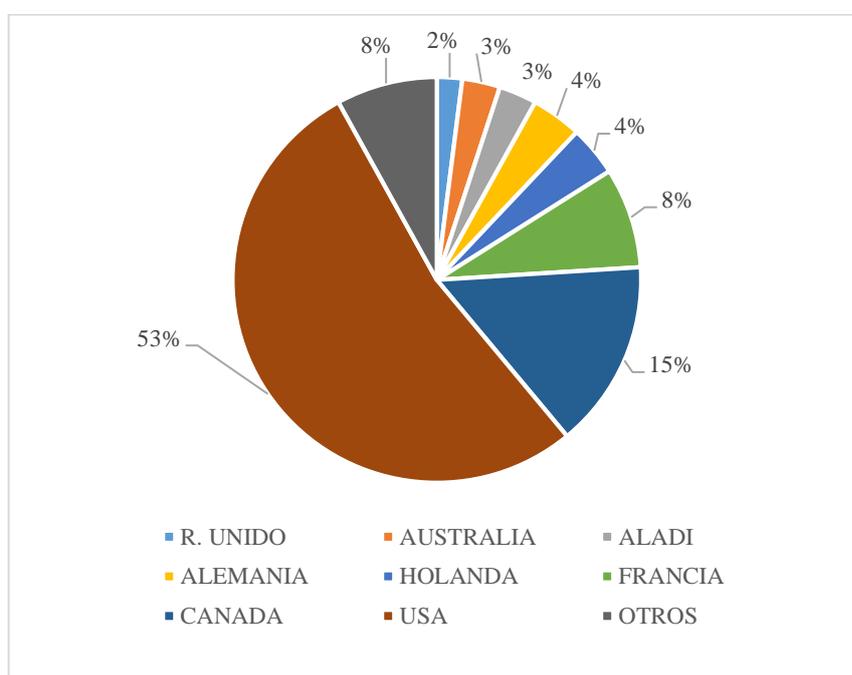
Fuente: (MAG, 2020).

Realizado por: Palma, J. 2022.

El precio ponderado para comercializar la quinua a nivel nacional mencionado por el (MAG, 2020, p. 18) es de 1,42 USD/kg.

## 1.5. Exportaciones de Quinua

Según FAO (2013, p. 82) menciona que la producción de quinua está enfocada en los Andes de América Latina teniendo como principales productores a países como Bolivia, Perú y Ecuador; siendo estos tres países los principales exportadores dirigiéndose a países como: Países Bajos 36%, Francia 21%, Alemania 17% y otros países europeos 26%. En los últimos 5 años ha incrementado el consumo y elaboración de snacks a base de harina de quinua generando una mayor circulación del producto por el mundo ya sea de forma industrializada o como quinua perlada (materia prima). Debido al crecimiento poblacional masivo países como Francia, Inglaterra, Suecia, Dinamarca, Holanda e Italia han comenzado a cultivar su propia quinua ya que muchos de los productores de la zona andina de América Latina no cumplen con las normativas establecidas. En el año 2012 se realizaron las siguientes exportaciones (Gráfico 1-1) desde América Latina según la (FAO y ALADI, 2014: pp7-8)



**Gráfico 1-1.** Exportaciones de quinua al mundo.

Fuente: (FAO Y ALADI, 2014).

Realizado por: Palma, J. 2022.

## 1.6. Manejo Cosecha y Poscosecha de Quinua

### 1.6.1. Siega

Según Casas (2016, pp.40-41) la siega es el proceso en el cual se corta la planta de quinua por medio de segaderas o haces a unos 5 o 6 centímetros de la base para evitar la contaminación de tierra, o

piedras. Es conocido también por algunos autores como la cosecha de la quinua, esta cosecha se da cuando la planta es considerada madura fisiológicamente (hojas amarillentas en la parte inferior de la planta), en esta etapa de la planta los granos de quinua contienen aproximadamente un 30% de humedad. Existen 3 factores principales que pueden ocasionar la pérdida del grano, estos son:

- Al realizar la siega de la planta de quinua en una etapa fisiológica más avanzada a la mencionada (160 a 180 días aproximadamente). Da una pérdida aproximada del 5% al 10% de grano, ya que este cae al suelo con mayor facilidad. (Casas, 2016, pp.41).
- Realizar la siega después del mediodía, debido a que la humedad de los granos se pierde por estar expuesta a la radiación solar. (Casas, 2016, pp.41).
- Pérdidas en transporte de 1% al 5%. (Casas, 2016, pp.41).



**Figura 3-1.** Corte de la planta de quinua.

Fuente: Laprensa.pe, 2015.

### ***1.6.2. Emparve***

Tanto Casas (2011, pp.41-42) como Veas y Cortés (2016: pp.29-30) afirman que debido a los cambios climáticos (precipitaciones) que pueden llegar a dañar el grano, se realiza el emparve o emparvado que es la formación de arcos o montículos de las panojas, las cuales son recubiertas con paja. La paja protege a los granos de quinua manteniendo una humedad adecuada para evitar la formación de hongos. El grano se mantiene en emparves hasta que llega a una humedad aproximada de 12% a 15% (aproximadamente 15 días). El objetivo principal de este proceso es facilitar el trillado que se lo realizara posteriormente.



**Figura 4-1.** Emparvado de quinua.

**Fuente:** Veas y Cortés, 2016.

Cuando el emparve se ha realizado de forma exitosa (Veas y Cortés, 2016: p.30) el grano debe presentar una característica dura evitando características inapropiadas como: pastosas y lechosas, ya que dichas características inadecuadas son ocasionadas por una humedad elevada, situación la cual afirma un mal emparvado.



**Figura 5-1.** Características de la quinua en el emparvado

**Fuente:** Veas y Cortés, 2016.

### **1.6.3. Trilla**

Proceso en el cual se retira la semilla (grano) de la planta; generalmente se utiliza procesos rústicos para la trilla como golpear las panojas para dejar caer el grano, generalmente se usan palos, animales, ruedas de automóviles o tractores, etc. Los avances tecnológicos han permitidos idealizar este proceso con ayuda de la trilladora la cual separa la semilla de la paja formando mistura de broza y semillas. Se puede dar una pérdida de un 5% a un 8% según (Casas, 2016, p.42).



**Figura 6-1.** Trilladora de quinua

**Fuente:** Veas y Cortés, 2016.

#### ***1.6.4. Limpieza (Venteo)***

Según Casas (2016, p.42) mencionan que al tener una mistura de broza y semillas luego del trillado es necesario la limpieza del grano por medio del venteo. El aplicar una corriente de aire a esta mezcla, permitirá separar los granos de quinua de las impurezas, debido a que dichos granos poseen una mayor densidad que la de sus despojos; los granos de quinua quedaran en la parte más baja de la mistura.



**Figura 7-1.** Venteo tradicional de quinua

**Fuente:** Casas, P. 2016.

#### ***1.6.5. Desaponificación***

La eliminación de la saponina es muy importante. Al eliminar los glicoalcaloides presentes en la parte más externa de la quinua se suprime el sabor amargo que puede ser un serio problema al momento de consumir este cereal de forma inmediata. La forma más eficaz y tradicionalmente utilizada para eliminar este compuesto químico es el lavado de la quinua, al ser un proceso que demanda mucho tiempo, las empresas han comenzado a buscar alternativas más eficientes, ya que luego del lavado se procede a secarla nuevamente para evitar la germinación del grano (Nieto y Vimos, 1992, pp.19-21).

(Nieto y Vimos, 1992, p.19) asegura que una alternativa planteada fue el mejoramiento genético desarrollado en las conocidas quinuas dulces en las que se logró disminuir la cantidad de saponinas; sin embargo, aún se debe eliminar la saponina restante de las quinuas dulces por lo que se puede aplicar los 3 procesos más comúnmente conocidos:

- Escarificación
- Lavado
- Método combinado

#### **1.6.6. Secado**

Según Nieto y Vimos (1992, p.9) Una vez que se tenga el producto final de la cosecha, es decir que se obtenga el grano trillado con una humedad del 15% al 20% (la cantidad de humedad dependerá de la etapa fisiológica de la planta y del entorno ambiental), lo sometemos a temperaturas de secado. El secado del grano genera cambios bioquímicos que se deben evitar como fermentaciones u oxidaciones, siendo estas perjudiciales para el proceso de perlado de la quinua; comúnmente estos cambios se dan de forma más apresurada si tenemos presencia de hojas, semillas de malas hierbas u otros cultivos. Este proceso causa un decremento en el peso del grano trillado. La cantidad de humedad que pierda también está netamente relacionada con el tipo de secado que se utiliza, dentro de los cuales tenemos:

- Secado natural → por medio de los rayos solares y el aire sobre una manta o lona (Nieto y Vimos, 1992, p.9).
- Secado artificial → por medio de secadores y corriente de aire caliente (Nieto y Vimos, 1992, p.9).

#### **1.6.7. Limpieza**

En este proceso se debe separar y eliminar cualquier tipo de impurezas que se encuentra en los granos cosechados; este punto de la poscosecha es el más relevante debido a que nos permite acceder a un producto final con una excelente calidad y una buena presentación, posibilitando un almacenamiento más prolongado, debido a que las impurezas eliminadas absorben humedad y son potenciadores para que se dé el fenómeno de los sistemas de adsorción por parte del producto a almacenar; dicho fenómeno ocasiona daños por microorganismos y con esto la formación de Ocratoxina A (Nieto y Vimos, 1992, p. 12).

### ***1.6.8. Clasificación***

Generalmente esta actividad es muy común observar en los productores ya sea que producen de forma tecnológica o tradicional; en consecuencia, a la aplicación de la clasificación se podrá alcanzar mejores rubros en cuanto a las ganancias por la venta de la quinua, ya que los granos clasificados como granos de primera calidad serán más costosos que los granos de segunda o tercera. Usualmente los granos de segunda y tercera calidad se utilizan como semillas (Nieto y Vimos, 1992, pp.12-14).

A continuación, se especifica el rendimiento porcentual de la quinua después del lavado y clasificado según Nieto y Vimos (1992, pp.12-14).

- Grano de primera → 85%
- Grano de segunda → 8%
- Polvo → 3%
- Desperdicios → 4%

Según Nieto y Vimos (1992, pp.12-14) mencionan que la quinua puede ser clasificada por su contenido de saponinas en dulces y amargas; también pueden clasificarse por su variedad teniendo en cuenta que color que posee dicho pseudocereal. Los autores a nivel industrial destacan 2 procesos de clasificación el tradicional y el mejorado

#### ***1.6.8.1. Clasificado tradicional***

Este método era el más utilizado en procesos de producción en años anteriores; se lo realizaba de forma manual por medio de tamices o zarandas (Nieto y Vimos, 1992: p.13).

#### ***1.6.8.2. Clasificado mejorado***

Este tipo de métodos es utilizado a nivel industrial para producciones elevadas; debido al costo de la maquinaria es muy poco utilizada por productores y/o pequeñas empresas. Se basa en la utilización de nuevas tecnologías, el equipo está compuesto por tamices que por medio de vibración clasifica a la quinua de acuerdo a su diámetro (Nieto y Vimos, 1992: p.13).



**Figura 8-1.** Clasificador semi-industrial de quinua

Fuente: Nieto y Vimos, 1992.

Los granos de quinua también pueden ser clasificados de acuerdo a su tamaño (tabla 5-1)

**Tabla 5-1:** Clasificación del grano de quinua según el diámetro.

TAMAÑO DE LOS GRANOS	DIÁMETRO PROMEDIO DE LOS GRANOS (mm)	MALLA
Extra Grande	Mayores a 2,0	85% retenido en la malla ASTM 10
Grandes	Entre 2,0 y 1,7	85% retenido en la malla ASTM 12
Medianos	Entre 1,7 y 1,4	85% retenido en la malla ASTM 14
Pequeños	Menores a 1,4	85% que pasa por la malla ASTM 14

Fuente: (IBNORCA, 2016).

Realizado por: Palma, J. 2022.

### 1.6.9. Almacenamiento

Según Pando y Aguilar (2016, pp.97-100) el almacenamiento debe ser bajo condiciones específicas de humedad (12%) y temperatura (0°C-10°C), no tendrá ningún sentido haber realizado un proceso cuidadoso y casi perfecto si se da un almacenamiento descuidado con humedades relativas altas y con presencia de plagas (insectos y roedores). En la provincia de Chimborazo al ser utilizado comúnmente un proceso tradicional de producción se puede observar el almacenado del grano en baldes plásticos, de barro, metálicos, de tela o polietileno; dejando el producto expuesto al polvo y plagas.

Para evitar problemas en el almacenamiento que conllevan al daño del producto (Pando y Aguilar, 2016: p.100) recomiendan almacenar en bolsas selladas de aluminio, polietileno, metal o tela; estas deben estar ubicadas en cuartos cerrados a una distancia de 80 cm de las paredes y de 150 cm del techo; generalmente se usa silos de metal. La temperatura y la humedad del cuarto definirá el tiempo de conservación de los granos, cuando dichos parámetros sean mayores al 12% y a 10°C

respectivamente, se realiza el proceso de venteo, con el fin de permitir la circulación del aire por el producto para disminuir y mantener valores específicos de humedad y temperatura. Se debe controlar también la presencia de plagas de forma constante para evitar que el grano se eche a perder.



**Figura 9-1.** Almacenamiento de la quinua

Fuente: MAG, 2014.

### **1.7. Normativa de Quinua**

Existe normativa para cada país en el cual se comercialice, se produzca o se procese este grano. Esta normativa tiene la finalidad de garantizar un producto inocuo y saludable a la población, de tal forma que al consumirlo no ocasione daños a la salud de los consumidores. Cada una de las normas vigentes de cada país están relacionadas o toman como base el CODEX ALIMENTARIUS, esta norma nace el 8 de marzo del 2016 en aposento Tiwanaku ubicado en Bolivia y es adoptada en el 2019, con una participación del Ministerio de Relaciones Exteriores de Bolivia, asociaciones, instituciones jurídicas y organismos internacionales. La norma de quinua fue elaborada por el comité técnico de quinua. (IIAC, 2016, p. 47).

Según la norma (CXS 333-2019, 2020, p.3) establecida por el Codex Alimentarius aplica netamente a la quinua en grano procesada mas no a los subproductos que se puede obtener de dicho grano, esta deberá estar libre de olores y sabores extraños, ser inocua e idónea para el consumo humano y no debe presentar insectos muertos o ácaros vivo. Dentro de los requisitos de calidad encontramos:

**Tabla 6-1:** Requerimientos generales de la norma CXS 333-2019.

REQUISITO DE CALIDAD	LÍMITE MÁXIMO %	MÉTODO DE DETERMINACIÓN
<b>Humedad</b>	13%	ISO 712 (gravimetría)
<b>Saponina</b>	0,12%	A determinar
<b>Materia extraña</b>	0,1%	-
<b>Granos quebrados</b>	3%	-
<b>Granos dañados</b>	2,5%	-
<b>Granos germinados</b>	0,5%	-
<b>Granos cubiertos</b>	0,3%	-
<b>Granos inmaduros</b>	0,9%	-
<b>Aditivos alimentarios</b>	-	-
<b>Plomo</b>	1	-
<b>Cadmio</b>	0,1	-
<b>Proteína</b>	10%	ISO 1871 (titrimetría, Kjeldahl)

Fuente: (CXS 333-2019, 2020).

Realizado por: Palma, 2022.

Uno de los parámetros que ha venido tomando fuerza con el paso de los años es la contaminación de alimentos por micotoxinas, como ya se mencionó estos metabolitos secundarios pueden estar presentes en cualquier alimento, ya sea este de origen animal como de origen vegetal. La Ocratoxina A en quinua como en otros cereales ha sido un aspecto de mucha preocupación para los consumidores; por lo que la norma (CXS 193-1995, 2019, p.49) establece los límites máximos de esta micotoxina en cereales ya sean estos procesados como no procesados.

**Tabla 7-1:** Requerimientos sobre micotoxinas norma CXS 193-1995

REGULACIÓN (EC) N° 1881/2006			
MATERIA PRIMA	NIVEL MÁXIMO µg/kg	PORCIÓN DE PRODUCTO	VALOR TOXICOLÓGICO
<b>Productos derivados de cereales no procesados, productos de cereales procesados y cereales de consumo directo</b>	3,0	-	<b>Consumo semanal tolerable (TWI): 120 ng/kg pc/semana</b>
<b>Cereales no procesados</b>	5,0	-	

Fuente: (CXS 193-1995, 2019).

Realizado por: Palma, 2022.

Dentro de Ecuador, (IBNORCA, 2016, p. 89) define las siguientes normativas vigentes para quinua:

### Ecuador

- NTE INEN 1672:2013 - QUINUA. Determinación del contenido de saponinas por medio del Método Espumoso (Método de Rutina), Quito 2013

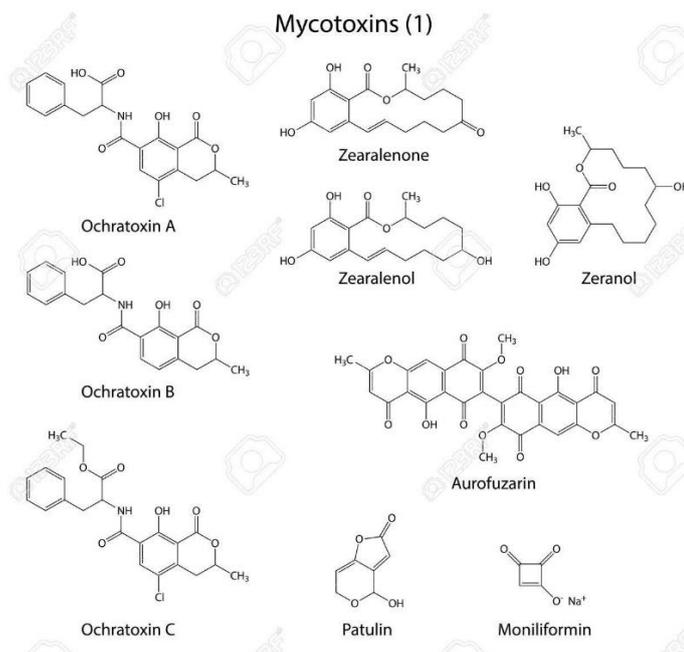
- NTE INEN 1673:2013 - QUINUA. Requisitos
- NTE INEN - CODEX 193:2013 - Norma general para los contaminantes y toxinas presentes en los alimentos y piensos

## 1.8. Micotoxinas

### 1.8.1. Definición

Los metabolitos secundarios generados por los organismos vivos del reino fúngico se conocen como micotoxinas, esta palabra nace del griego mikes (hongo) y toxina (veneno). Estas micotoxinas pueden ingresar al cuerpo, ya sea por vía oral, nasal o cutánea, al estar dentro del cuerpo de las personas o animales puede generar enfermedades o incluso ocasionar la muerte generando un efecto toxicológico agudo o crónico (Cameán y Repetto, 2006, p.7).

La micotoxinas son compuestos químicos altamente infecciosos y tóxicos generados por hongos y mohos, varios estudios han demostrado que las micotoxinas pueden infestar materia prima del campo antes o después de su cosecha; con estos estudios se ha determinado que alrededor del 25% de los cultivos del mundo están gravemente expuestos a ser afectados por estos metabolitos secundarios segregados por los Fito organismos (Bhat et al., 2009, pp.57-81).



**Figura 10-1.** Formulas químicas de algunas micotoxinas

Fuente: Carmean y Repetto, 2006.

### 1.8.2. Impacto a la Salud

Según FAO (2009, pp. 97-103) y Zain (2011, pp.131-132) un alimento puede ser infestado por hongos, setas y levaduras durante toda la cadena agroalimentaria ocasionando que estos microorganismos generen micotoxinas, las cuales presentan un impacto negativo en la salud de quienes consuman este alimento. Pudiendo ocasionar intoxicaciones alimentarias o incluso cáncer. Estos metabolitos secundarios lo podemos encontrar en la comida de los animales, generalmente piensos y pastos. Una vez que los animales ingieren estos alimentos contaminados por micotoxinas, los productos finales para la alimentación humana que se obtienen de los mismos (carne, leche, huevos, etc.) tendrán la presencia de micotoxinas.

### 1.8.3. Principales Micotoxinas en Cereales

Según la FAO (2009, pp. 97-103) los géneros de hongos más comunes que afectan a los cereales por la proliferación de micotoxinas son: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*. En la Tabla: 8-1 se muestra los principales especies, metabolitos y efectos negativos que causan dichas micotoxinas en los consumidores. Cabe mencionar que los cereales quedan mucho más expuestos a los géneros de hongos de dichas cepas, cuando estos son procesados particularmente como harinas; debido a que su capacidad higroscópica aumenta.

**Tabla 8-1.** Principales especies, metabolitos y efectos de micotoxinas en alimentos

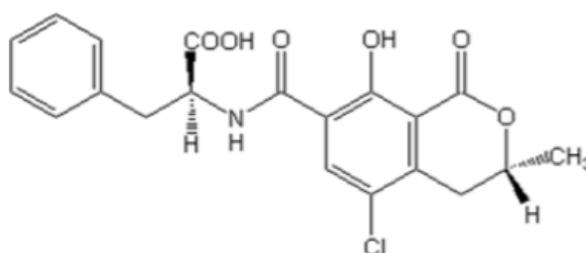
HONGOS	METABOLITO TÓXICO	EFEECTO
<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Aflatoxina B, M, G</i>	Carcinogénico y teratogénico
<i>A. parasiticu</i>	<i>Aflatoxina B, M</i>	Carcinogénico y teratogénico
<i>A. ochraceus</i>	<i>Ocratoxina A</i>	Neurotóxico, Hepatotóxica y Carcinogénico
<i>Fusarium tricenectum</i>	<i>T-2 toxina</i>	Neurotóxico y Hepatotóxica
<i>F. roseum</i>	<i>T-2 toxina</i>	Neurotóxico y Hepatotóxica
<i>F. moniliforme</i>	<i>Zearalenona (F-2 toxina)</i>	Estrogénico
<i>Gilerella zeac</i>	<i>2- Deoxinivalenol</i>	Dermatonecrosis
<i>Penicillium viridicatum</i>	<i>Ocratoxina A</i>	Neurotóxico, Hepatotóxica y Carcinogénico
<i>P. vyclopium</i>	<i>Ocratoxina A</i>	Neurotóxico, Hepatotóxica y Carcinogénico

Fuente: (FAO, 2009).

Realizado por: Palma, J. 2022.

## 1.9. Ocratoxina A

La Ocratoxina A conocida por su abreviatura “OTA” fue explorada y exhibida en 1965 en África al observar muestras de maíz. Esta es la sustancia más tóxica que conforma el grupo de las micotoxinas, teniendo cualidades teratogénicas, carcinogénicas, hepatotóxicas, inmunotóxicas y neurotóxicas sobre las personas o animales que consuman alimentos infestados por este metabolito secundario. Químicamente es representado por el 3-4-dihidrometillisocumarina este se une a un grupo amino mediante un enlace amida de la *L*-β-fenilalanina; este compuesto químico es generado por hongos filamentosos del género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Mallmann et al., 2007, p.198).



**Figura 11-1.** Estructura química de la Ocratoxina A

Fuente: Serrano y Cardona, 2015.

Varios estudios han demostrado que la OTA es soluble en agua por lo que su extracción, cuantificación y detección se realiza por medio de una dilución del alimento en agua (FAO, 2009, pp. 97-103).

Al ser la micotoxina se ha planteado un límite máximo de consumo a la semana teniendo en cuenta el peso corporal del consumidor, siendo este definido por (CXS 193-1995, 2019, p.49) en un valor de 120 ng/kg pc/semana; y al día es de 0,00012 mg/kg pc/día, estableciendo el límite de consumo por ración de 5 µg/kg (ppb).

### 1.9.1. Toxicidad

Según Serrano y Cardona (2015, pp. 145-146) mencionan que la Ocratoxina A es altamente tóxica. El mecanismo toxicológico de la Ocratoxina A, esta mediada por la inhibición del factor nuclear eritroide-2 (NrF2) y la transcripción del gen precursor del mismo, provocando un “estrés oxidativo”, de esta forma se dificulta la síntesis de proteínas, la respiración mitocondrial, produce alteraciones en la motilidad y viabilidad del espermatozoide y se genera daños en el ADN. Debido a estas razones en la tabla 9-1 se muestra el límite máximo de ingesta tolerable en algunos animales y los humanos.

**Tabla 9-1:** DL50 de OTA en diferentes especies

ESPECIE	DL <sub>50</sub>
Humano	112 ng/kg/semana
Cerdo	1,0 mg/kg de peso corporal
Perro	0,2 mg/kg de peso corporal
Pato	0,5 mg/kg de peso corporal
Ratón	46 – 58,3 mg/kg de peso corporal
Rata	20 – 30,3 mg/kg de peso corporal
Pollo	3,3 mg/kg de peso corporal

Fuente: (Mallmann et al., 2007).

Realizado por: Palma, J. 2022.

La toxicidad de la OTA según (Serrano y Cardona, 2015, p.146) se divide en: toxicidad aguda y toxicidad y toxicidad crónica.

#### 1.9.1.1. Toxicidad Aguda

Los principales problemas por toxicidad aguda que muestra esta micotoxina son hemorragias interfocales, trombos de fibrina, nefrosis y necrosis hepática como en el tejido linfoide; afectando a órganos como el cerebro, bazo, hígado, corazón y riñón; la DL<sub>50</sub> por vía oral está establecido en un intervalo de 0,2-1 mg/kg en canes, porcinos y aves y de 20 a 50 mg/kg en ratas y ratones (Soriano, 2007, p. 203).

#### 1.9.1.2. Toxicidad Crónica

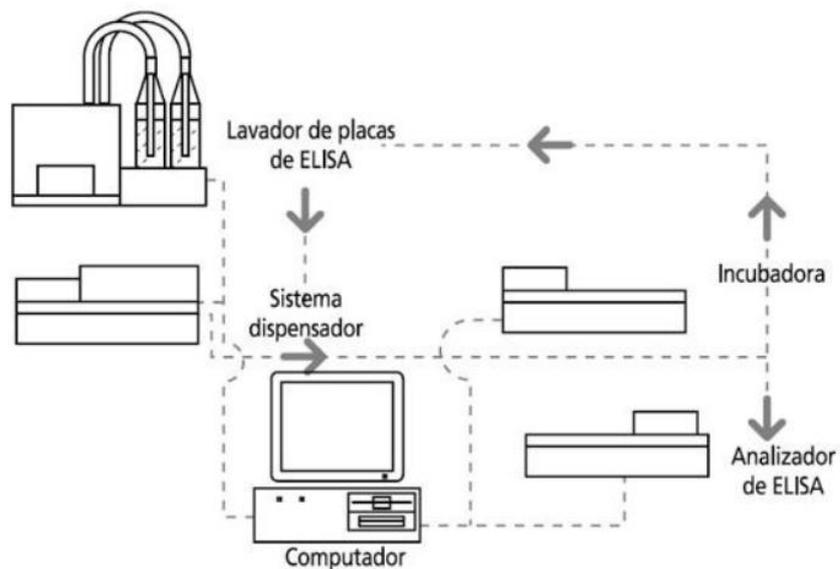
Una de las principales características que posee la Ocratoxina A es la toxicidad crónica que afecta a las personas y a los animales generando grandes pérdidas económicas por parte de los afectados. Las principales especies afectadas por esta toxina son los animales de granja entre estos encontramos a los cerdos y aves. Esta micotoxina causa daños renales toxicocineticamente diferentes a una variedad de especies de animales como de humanos independientemente del sexo o género; cabe mencionar que las más afectadas por este efecto crónico de las micotoxinas son las hembras en el caso de animales y las mujeres en el caso de los humanos. Los efectos negativos de este metabolito son muy notables ya que genera tumores agresivos no benignos en el tracto urinario. Dentro de los efectos crónicos de la OTA encontramos su característica teratogénica, hepatotóxica, inmunotóxica y neurotóxica; siendo considerado también como una cancerígena clase 2B por parte del IARC (Agencia Internacional de Investigación del Cáncer); debido a que genera tumores renales en las especies de ensayo (Soriano, 2007, p.203).

## 1.10. Métodos de detección

Los métodos de detección son métodos estandarizados y validados los cuales nos permiten identificar las micotoxinas presentes en un producto, ya sea este industrializado o no. Al ser cantidades sumamente pequeñas los métodos están regulados para determinar la concentración de micotoxinas en mg/kg (ppm),  $\mu\text{g}/\text{dL}$  y en  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ppb). Los métodos más conocidos y más utilizados en laboratorios certificados para detectar micotoxinas son: la cromatografía líquida de alta resolución y el método ELISA (Bernal et al., 2010, p.14).

### 1.10.1. Método ELISA

Es conocido como el método de ensayo inmunoabsorbente relacionado con enzimas, es netamente utilizado para detectar micotoxinas como: Aflatoxinas B1, aflatoxinas M1, Ocratoxina A, Fomonisinas, toxina T-2, deoxinivalenol y zearalenona. El ensayo ELISA se ejecuta comúnmente como: ensayo directo, ensayo competitivo directo (más utilizado) y ensayo competitivo indirecto; generalmente las unidades de medidas después de la lectura son  $\mu\text{g}/\text{dL}$  (decilitros) (Kos et al., 2016: p.748).



**Figura 12-1.** Esquema del equipo ELISA.

**Fuente:** Instrumentosdelaboratorio.net, 2012.

#### 1.10.1.1. ELISA competitivo directo

Mediante este método es posible determinar la cantidad de micotoxinas presentes en una muestra mediante la intensidad de color, esta intensidad de color está definida por la relación existente

entre la cantidad de conjugado, anticuerpos y micotoxinas de dicha muestra. Los resultados son interpretados mediante la intensidad de color, la cual es inversamente proporcional a la concentración de micotoxinas en una muestra ya que la concentración del concentrado y los anticuerpos es constante; se debe tener en cuenta la longitud de onda a medir. Para marcar la micotoxina se utilizan enzimas como: peroxidasa, fosfatasa y  $\beta$  – galactosidasa, siendo la más comúnmente utilizada la peroxidasa. Es considerado como un método semi-cuantitativo el cual puede facilitar los resultados en periodos de 5 a 10 minutos (Yao et al., 2015: p.185).

#### *1.10.1.2. ELISA competitivo indirecto*

Al igual que el tipo competitivo directo en el indirecto se utilizan enzimas unidas al anticuerpo, utilizando un anticuerpo primario, un anticuerpo secundario unido a una enzima y un conjugado. Las micotoxinas a detectar de la muestra se juntan a las enzimas unidas al anticuerpo primario los cuales se encuentran en solución. Este método es más complejo de utilizarlo debido a que necesita mayor tiempo para conseguir los resultados (2 a 3 horas), un mejor manejo y una considerable especialización en comparación al método directo; cabe destacando la sensibilidad y las ventajas económicas del método indirecto. Generalmente es aplicado y utilizado en laboratorios de investigación, (Ochoa et al., 2000: pp.16-21).

### **1.11. Cromatografía**

Según García (2016, p.21) Método de análisis de sustancias por medio del cual se separa los componentes de la solución o mezcla a ser analizada; tal es el caso de los pigmentos de las plantas aislados por primera vez por medio de una columna de aluminio en el año 1906 por Tswett. Con el paso de los años se fueron desarrollando la cromatografía de gases en 1952 y la cromatografía líquida.

### **1.12. Tipos de Cromatografía**

Según García (2016, pp.22-23) La cromatografía se clasifica según el tipo de fase estacionaria y fase móvil en:

- Cromatografía de adsorción
- Cromatografía de reparto/adsorción
- Cromatografía de intercambio iónico
- Cromatografía de exclusión molecular
- Cromatografía de Fase Normal

- Cromatografía de Fase Inversa

### 1.13. Cromatografía Líquida de Alta Resolución

Este proceso es conocido comúnmente por sus siglas en inglés (HPLC), se basa en un conjunto de técnicas analíticas que divide los componentes de una solución sea esta homogénea o heterogénea para posteriormente identificar y cuantificar los componentes de dicha solución. Los constituyentes de actúan con estas soluciones son: una fase móvil y una fase estacionaria. Los compuestos son analizados por el detector pudiendo ser este de fluorescencia, Uv vis y de índice de refracción; siendo el detector más específico el de fluorescencia. Cuando no se usa un detector selectivo los analitos serán analizados de forma creciente dependiendo de su tiempo de retención una vez entren en contacto con la columna cromatografía (fase estacionaria), dependiendo netamente de la solubilidad, adsorción, volatilidad, tamaño de partícula, etc. circulando la fase móvil en la que viaja el analito a una velocidad determinada (García, 2016, p.21).

Según García (2016, pp.25-33) los parámetros a tener en cuenta en el HPLC son:

- **Tamaño del poro del filtrado:** Menor tamaño garantiza una considerable superficie mientras que un tamaño superior garantiza una mayor cinética. Generalmente se utilizan filtros Millipore de 45  $\mu\text{m}$ , esto con la finalidad de que la muestra esté libre de la mayor cantidad de impurezas posibles y de esta forma evitar que el equipo HPLC pueda llegar a taparse (García, 2016, p.31).
- **Diámetro interno de la columna:** La parte primordial del equipo HPLC es la columna ya que aquí se da la separación de los analitos a estudiar por medio de la fase móvil. Es muy importante y estará muy relacionando en cuanto a la dependencia de la cantidad de muestra y de la sensibilidad de columna a utilizarse. Diámetro de 10 mm (purificación) y diámetro de 5  $\mu\text{m}$  (cuantificación de muestra) (García, 2016, pp.28-29).
- **Presión:** Tiene relación con el tamaño de las partículas ya que a un menor tamaño mayor presión y viceversa. La presión está definida por la bomba que contiene el equipo trabajando generalmente a presiones de 45 a 80 bares; pudiendo alcanzar presiones máximas de 200 bares. La finalidad de la presión es mantener el caudal del HPLC estable evitando que ingresen burbujas de aire al equipo (García, 2016, pp.25-26).
- **Volumen inyectado:** La cantidad de volumen inyectado es un parámetro a destacar dentro del equipo HPLC ya que al ser un equipo muy exacto y preciso si no se inyecta la cantidad

requerida, establecida en los métodos de análisis, los resultados pueden ser erróneos. El equipo utiliza válvulas a presión que pueden funcionar de dos formas ya sea esta de forma manual o automatizada; esta consta de una aguja la cual asegura de que el analito llegue al comienzo de la columna en un periodo de tiempo corto evitando interferir el régimen de circulación (García, 2016, p.27).

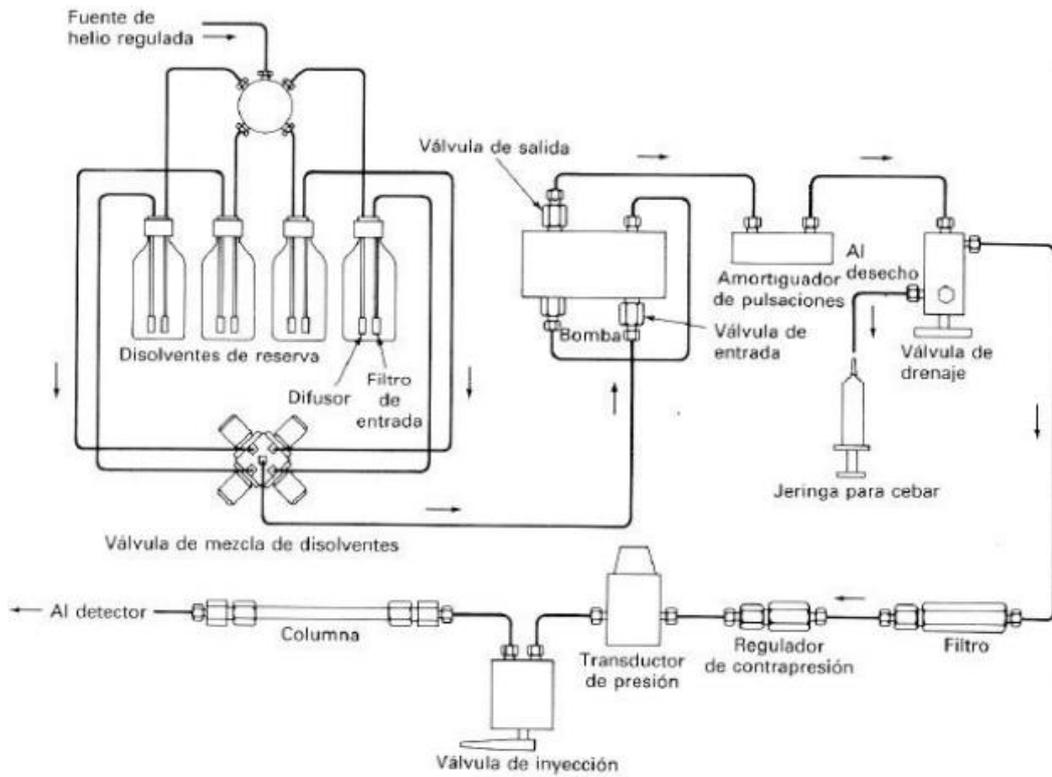
### ***1.13.1. Equipo para Cromatografía de Alta Resolución***

Según García (2016, pp.25-33) Dentro del equipo utilizado en la cromatografía HPLC encontramos las siguientes partes:

- Conducciones y conexiones
- Bomba y mezclado de eluyentes
- Columna
- Dispositivos de inyección
- Detector (Absorbancia ultravioleta, fluorescencia y de índice de refracción)
- Registrador.

Según García (2016, pp.25-33) menciona que es útil en ocasiones acoplar dispositivos para potenciar positivamente la actividad del equipo y estos son:

- Hornos termostatzados para columnas
- Sistema de tratamiento de datos
- Colectores de fracciones
- Inyectores automáticos.



**Figura 13-1.** Esquema del equipo para cromatografía de alta resolución.

**Fuente:** Bernal et al., 2010.

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

El presente trabajo es de tipo experimental, ya que se analiza y se controla los problemas a evaluar, por medio de la obtención y determinación de resultados, los cuales posteriormente en el caso de ser necesario serán contrastados con bibliografía ya existente y veraz.

#### 2.1. Localización y Duración Del Experimento

La investigación se desarrolló durante 8 semanas en el Laboratorio de Servicios Analíticos e Investigación en Alimentos (LSAIA) del Departamento de Nutrición y Calidad (DNC), en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias “INIAP” - Estación Experimental Santa Catalina, ubicado en la parroquia Cutuglahua dentro del cantón Diego Mejía de la provincia de Pichincha. Así como también en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias perteneciente a las Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH) ubicada en el cantón Riobamba. Cabe mencionar que el trabajo de integración curricular forma parte del proyecto del grupo de investigación “IDEA”.



**Figura 1-2.** Departamento de Nutrición y Calidad (laboratorio LSAIA).

Realizado por: Palma, 2022.

#### 2.2. Unidades Experimentales

Las unidades experimentales corresponden a 49 muestras de quinua en total, cada una de las muestras llegaron al laboratorio L-SAIA con un peso de 2 kg, Estas fueron obtenidas de lotes de quinua ubicados en 3 cantones de la provincia de Chimborazo (Riobamba, Guamote y Colta), cuyos dueños son socios de 3 organizaciones procesadoras y comercializadoras de quinua (MAQUITA, SUMAK T y COPROBICH), las cuales se ubican en la provincia ya mencionada.



**Figura 2-2.** Muestras empacadas de quinua

Realizado por: Palma, 2022.

### 2.3. Plan de muestreo

Con la colaboración de las 3 organizaciones MAKITA, SUMAK T y COPROBICH, se seleccionó y designó las parroquias, cantones y comunidades en las cuales se realizó el muestreo. Esta designación se llevó a cabo en función de las necesidades de cada organización exportadora, considerando las condiciones climáticas de cada zona. En la tabla 1-2, se presenta el listado de muestras tomadas en las diferentes localidades de la provincia de Chimborazo.

**Tabla 1-2:** Muestras utilizadas en el estudio de ocurrencia natural de OTA

N°	CANTÓN	PARROQUIA	COMUNIDAD	ALTITUD (MSNM)	UBICACIÓN GEOGRÁFICA
1	Colta	Sicalpa	Cochaloma Centro cívico Benedicto	3533	S 1°49'7.3542"W 78°45'29.50272"
2	Colta	Sicalpa	Comunidad los Ángeles	3349	S 1°46'32.82492"W 78°45'3.8646"
3	Colta	Sicalpa	Quizhuar María Elena	3351	S 1°49'44.75208"W 78°44'32.98452"
4	Colta	Sicalpa	Ocpotillo Chico	3341	S 1°45'31.97592"W 78°45'12.4758"
5	Colta	Sicalpa	San Rafael Alto	3488	S 1°50'13.59024"W 78°45'1.98648"
6	Colta	Sicalpa	Majipamba	3335	S 1°44'08.0"W 78°46'00.0"
7	Colta	Sicalpa	Majipamba	3314	S 1°44'06.9"W 78°45'46.5"
8	Colta	Sicalpa	Majipamba	3310	S 1°43'57.67248"W 78°45'48.94704"
9	Colta	Sicalpa	Los Angeles	3178	S 1°51'49.60656"W 78°43'39.5958"
10	Colta	Sicalpa	Leonpud- Rosario	3420	S 1°43'21.29556" W 78°46'24.3174"
11	Colta	Sicalpa	Ocpotillo Chico	3287	S 1°43'24.43836"W 78°46'12.40464"
12	Colta	Sicalpa	Quishuar Ma. Elena	3169	S 1°52'3.288"W 78°43'37.092"
13	Colta	Sicalpa	Tabla Rumi	3401	S 1°47'7.25352"W 78°45'6.32916"
14	Colta	Columbe	Balda Bajo	3159	S 1°52'25.1"W 1°52'25.1"S 78°42'53.5"

15	Colta	Columbe	Tanquis	3203	S 1°54'10.5714"W 78°42'57.26088"
16	Colta	Columbe	San Bartolo	3387	S 1°48'30.7"W 78°42'49.5"
17	Colta	Columbe	Troje Chico	3251	S 1°50'19.1022"W 78°43'57.25848"
18	Colta	Columbe	San Martín Bajo	3425	S 1°51'18.15012"W 78°41'38.29812"
19	Colta	Columbe	La Merced	3310	S 1°50'40.47576"W 78°42'54.79884"
20	Colta	Columbe	San Martín Bajo	3176	S 1°51'33.12252"W 78°42'37.12176"
21	Colta	Columbe	Troje Chico	3266	S 1°50'23.2"W 78°43'54.4"
22	Colta	Columbe	San Martín Bajo	3168	S 1°51'56.25108"W 78°43'15.54744"
23	Colta	Columbe	Tanquis	3203	S 1°54'10.5714"W 78°42'57.26088"
24	Colta	Columbe	Miraflores Quishuarpamba	3293	S 1°52'20.0406"W 78°44'57.07032"
25	Colta	Columbe	San Jorge Bajo	3364	S 1°49'29.84988"W 78°44'46.59"
26	Colta	Columbe	La Merced	3176	S 1°51'15.64416" W 78°43'22.9062"
27	Colta	Columbe	Balda Lupaxi Bajo	3208	S 1°52'22.5894"W 78°42'41.1012"
28	Colta	Columbe	San Martín Bajo	3197	S 1°51'47.34144"W 78°43'14.44656"
29	Colta	Columbe	Troje Chico	3264	S 1°50'06.4"W 78°44'03.8"
30	Colta	Columbe	Calancha	3275	S 1°50'40.2"W 78°43'20.2"
31	Colta	Santiago de Quito	Ushapamba	3447	S 1°42'56.8"W 78°44'15.6"
32	Colta	Santiago de Quito	Santo Domingo	3212	S 1°42'41.0"W 78°45'52.0"
33	Colta	Santiago de Quito	Santo Domingo	3451	S 1°43'24.8"W 78°43'55.0"
34	Colta	Santiago de Quito	Santiago de Quito	3362	S 1°44'24.9"W 78°44'42.8"
35	Colta	Santiago de Quito	Ocpote San Vicente	3287	S 1°47'18.726"W 78°44'12.36588"
36	Colta	Santiago de Quito	Lupaxi Central	3433	S 1°49'9.97212"W 78°43'43.86612"
37	Colta	Santiago de Quito	Pardo Troje	3309	S 1°43'18.36984"W 78°45'28.3878"
38	Colta	Santiago de Quito	Colta-San Jose	3305	S 1°44'3.84792"W 78°45'3.23064"
39	Colta	Santiago de Quito	Ugshapamba	3471	S 1°43'7.96152"W 78°44'31.49484"
40	Riobamba	Cacha	Amolag Cashaloma	3395	S 1°42'41.84676"W 78°43'0.7464"
41	Riobamba	Flores	Pulugsa Sumark	3398	S 1°49'46.9"W 78°40'24.6"
42	Riobamba	Flores	Pulugsa Sumark k	3352	S 1°49'45.0"W 78°40'11.6"

43	Riobamba	Calpi	San Francisco	3441	S 1°37'29.2"W 78°46'08.6"
44	Riobamba	Calpi	Cunuguachay	3440	S 1°37'30.3" W 78°46'06.8"
45	Guamote	La Matriz	Mercedes Cadena	3047	S 1°53'26.5"W 78°41'34.3"
46	Guamote	La Matriz	Mercedes Cadena	3030	S 1°54'02.7"W 78°41'55.4"
47	Guamote	La Matriz	Sanancahuan Grande	3490	S 1°50'57.1"W 78°41'21.0"
48	Guamote	La Matriz	Achullay	3262	S 1°51'13.8" W 78°42'12.3"
49	Guamote	La Matriz	Sanancahuan Grande	3514	S 1°50'59.6"W 78°40'09.4"

**Fuente:** Proyecto interinstitucional INIAP-ESPOCH-CEFA-Exportadoras de quinua de Chimborazo

**Realizado por:** Palma, J. 2022.

## 2.4. Muestreo

En colaboración con INIAP -ESPOCH, los técnicos del CEFA y las organizaciones exportadoras, se tomó las muestras de quinua directamente del campo de los productores, utilizando el método descrito en la regulación (EC) N° 401/2006 “Métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en productos alimenticios”; inciso B “Método de muestreo para cereales y productos a base de cereales”, el cual indica el número de muestras incrementales a tomar en función del peso de muestra total que se espera cosechar del lote (tabla 2-2).

**Tabla 2-2.** Número de muestras elementales y peso de la muestra global

PESO DEL LOTE (TONELADAS)	NUMERO DE MUESTRAS ELEMENTALES	PESO DE LA MUESTRA GLOBAL (kg)
≤ 0,05	3	1
> 0,05-≤ 0,5	5	1
> 0,5-≤ 1	10	1
> 1-≤ 3	20	2
> 3-≤ 10	40	4

**Fuente:** (Commission Regulation, 2006).

**Realizado por:** Palma, J. 2022.

En base a la tabla 2-2, se estableció el número de muestras elementales y el peso de la muestra global a tomar, considerando que en los lotes seleccionados se proyectó una producción de 1 a 3 toneladas. En cada lote se tomó las muestras elementales, se homogeneizó y se formó una muestra compuesta, la cual fue colocada en una superficie limpia y seca. Posteriormente se dividió en 4 partes iguales, se tomó 500 gramos de cada una de las partes en una funda de papel y se envió al laboratorio de Bromatología de la facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH.

En el laboratorio, las muestras fueron secadas a una temperatura de  $33 \pm 2$  °C por 24 horas y envasadas al vacío para su transporte hacia el Laboratorio LSAIA del INIAP, en donde fueron sometidas a un proceso de molienda hasta obtener un tamaño de partícula < 1mm, se colocaron en fundas de polietileno y se almacenaron a -20°C hasta el momento de los análisis.

## **2.5. Materiales, Reactivos y Equipos**

Para la realización de la presente investigación se requirió:

### **2.5.1. Materiales**

- Membrana de fibra de vidrio Millipore o su equivalente
- Papel filtro de 12,5 cm de diámetro Whatman 4 o equivalente.
- Jeringuillas de polipropileno de 10 ml
- Jeringuillas de polipropileno de 60 ml
- Papel filtro Whatman N° 4 o equivalente
- Balón volumétrico de 1000 mL.
- Balón volumétrico de 100 mL
- Balón volumétrico de 200 mL
- Embudos de vidrio
- Probeta 1000 mL
- Pipetas volumétricas 4 mL
- Vasos de precipitación de 50 mL.
- Vasos de precipitación de 1000 mL.
- Vasos de precipitación de 250 mL
- Vasos de precipitación de 500 mL
- Tubos de ensayo de vidrio con punta cónica de 15 mL
- Micropipeta automática de 100 a 1000 µL.
- Micropipeta automática de 10 a 100 µL.
- Vasos de vidrio para licuadora 500mL
- Espátula de metal
- Puntas de micropipeta automática
- Frascos de vidrio tapa rosca de 125 mL
- Columnas de inmovilización para purificación de OTA OCHRAPREP
- Viales capacidad 330 µL y 2 mL
- Frascos ámbar de 4 L

- Desecador
- Crisol

### **2.5.2. Reactivos**

- Gas Nitrógeno 99,9% de pureza
- Acetonitrilo grado HPLC
- Metanol grado HPLC
- Metanol grado p.a. pureza 99,8%
- Estándar Ocratoxina A Sigma O186 (1,65 µL/mL)
- Estándar Ocratoxina A (50 ng/mL)
- Ácido Acético pureza 99%
- Bicarbonato de sodio grado p.a.
- Agua purificada conductividad 18,2 MΩ/Cm
- Cloruro de potasio p.a.
- Cloruro de sodio p.a.
- Dihidrogeno fosfato de potasio anhidro
- Hidrogeno fosfato disódico dihidratado
- Tolueno

### **2.5.3. Equipos**

- Molino RETSCH
- Estufa
- Balanza de capacidad para 4200 g y precisión  $\pm 0,01$ g
- Balanza analítica capacidad de 220 g y precisión de 0,1 mg
- Baño María Memmert WNB 7-45
- Bomba de vacío
- Evaporador de muestras
- Equipo de Extracción en fase sólida al vacío
- Agitador de Tubos, Maxi Mix II M37615
- Baño Ultrasonido Cole Parmer 8892-MTH
- Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución Agilent 1100 series.
- Licuadora
- Bomba de vacío

- Plancha Agitadora / calentadora. Cole Parmer 4658
- Cronómetro digital
- Equipo “novasina”

## 2.6. Mediciones Experimentales

- Ocurrencia natural de Ocratoxina A en quinua
- Humedad
- Actividad de agua

## 2.7. Análisis Estadísticos

En el presente trabajo se aplicó un análisis de varianza ANOVA en conjunto con una estadística descriptivas (límite mínimo, límite máximo, promedio y desviación estándar); para determinar la incidencia u ocurrencia natural de la Ocratoxina A en quinua ecotipo Chimborazo de forma porcentual se aplicará la (ecuación 1.2):

$$\text{Ec. 1.2} \quad \% \text{ INCIDENCIA} = \frac{\text{N}^\circ \text{ de muestras contaminadas}}{\text{N}^\circ \text{ total de muestras}} * 100$$

## 2.8. Procedimiento Experimental

### 2.8.1. Determinación de OTA

Para la determinación de OTA en quinua se utilizó el método validado por (Moreno, 2022 pp. 41 – 46), el cual está basado en el método oficial AOAC 2004.10 “Determinación de Ocratoxina A en café verde utilizando columnas de inmunoafinidad y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)” (AOAC, 2005, pp. 61-63).

Los pasos se describen a continuación:

## **2.8.2. Preparación de reactivos**

### *2.8.2.1. Solución de sulfacromica*

Para preparar esta solución desinfectante de característica acida, se pesó 25 gramos de Dicromito de Potasio, posteriormente se diluyo el Dicromito de Potasio en 50ml de agua bidestilada y finalmente se transfirió esta solución a 1 litro de ácido sulfúrico concentrado.

### *2.8.2.2. Solución de Buffer Fosfato Salino PBS 0,1%*

Se pesó en un vaso de precipitación de 500 ml de forma secuencial 0,2 g de Di hidrogeno fosfato de potasio, 1,5 g de hidrogeno fosfato di sódico di hidratado, 8,0g de cloruro de sodio y 0,2 g de cloruro de potasio, estas sales se diluyeron en 500 ml de agua purificada llevando a la plancha de agitación por 5 min aproximadamente, finalmente se aforó en un balón volumétrico de 1000 ml con agua purificada

### *2.8.2.3. Solución de Bicarbonato de Sodio al 3%*

En un vaso de precipitación de 500 ml se pesó 30 g de bicarbonato de sodio, posteriormente se diluyo en 500 ml de agua purificada llevando a la plancha de agitación por 5 min aproximadamente, por último, se transfirió a un balón volumétrico de 1000 ml y aforar con agua purificada

### *2.8.2.4. Solución de extracción*

Se adiciono y homogeneizo 1000 ml de metanol p.a. a 1000 ml de solución de bicarbonato de sodio al 3%

### *2.8.2.5. Solución de la fase móvil*

Acetonitrilo: Metanol: Ácido Acético 0,2%: Agua bidestilada. 40:30:30 (v/v/v). Se añadió 400 ml de Acetonitrilo grado HPLC, 300 ml de metanol grado HPLC, 200 ml de agua purificada, 600 µL de Ácido Acético y 100 ml de agua purificada a una probeta de 1000 ml. Por medio de la membrana Millipore de 0,45 µm se filtró la fase móvil para terminar sometiendo la solución a baño ultrasonido por 10 min para eliminar el gas

### 2.8.3. Preparación de estándares

#### 2.8.3.1. Solución estándar de calibración (50 ng/ml)

Se calculó el volumen a utilizar de la solución estándar madre según la siguiente fórmula:

$$\text{Ec. 2.2} \quad V1 = \frac{C2V2}{C1}$$

**Donde:**

C1= Concentración 1

V1= Volumen 1

V2= Volumen 2

C2= Concentración 2

Se tomó el volumen calculado en un balón de 100 ml y se secó con Nitrógeno en un baño maría a 50 °C, se añadió en 50 mL de metanol grado HPLC, finalmente se aforó con 100 ml de metanol grado HPLC y se colocó a baño de ultrasonido por 5 min

Una vez preparado el estándar de 50 ng/mL, se procede a preparar e inyectar cuidadosamente en el equipo HPLC el estándar validado que se establece en la tabla 3-2:

**Tabla 3-2:** Valores en  $\mu\text{L}$  para la preparación de estándares

Contaminación (PPB)	Concentración OTA ng/MI	Volumen total ( $\mu\text{L}$ )	Volumen de metanol ( $\mu\text{L}$ )	Volumen de Estándar 50 ng/mL ( $\mu\text{L}$ )
5	8,83	2000	1666	334

Fuente: (Moreno, 2022).

Realizado por: Palma, 2022.

### 2.8.4. Preparación de la muestra

La muestra se preparó moliendo y tamizando 2 kg de quinua hasta obtener partículas de 1mm de tamaño, posteriormente se codificó y se colocó la muestra molida en una funda ziploc. La muestra molida se almacenó en un cuarto frío a  $-18^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su análisis; por último, se lavaron y se desinfectaron las partes del molino.

Para el análisis se sacó la muestra molida del cuarto frío y se dejó temperar por una hora a 20 °C. Se codificó el frasco de la licuadora y se colocó encima de la balanza de 4200 g para pesar 25 g de muestra homogeneizada.

#### **2.8.5. Contaminación de la muestra**

Se tomó 76 µL del estándar (1,65 µg/ml) con la micropipeta y se inyectó cuidadosamente a los 25 gramos de muestra pesada.

#### **2.8.6. Extracción de la muestra**

Para la extracción se licuó 25 g de muestra (quinua molida) con 200 mL de solución de metanol: bicarbonato de sodio 3% (50:50 v/v) por 3 minutos a alta velocidad. El extracto se filtró a través de papel filtro cualitativo y membrana de fibra de vidrio. Se tomó una alícuota de 4 mL de filtrado y se diluyó con 100 mL de solución buffer fosfato salino 1% (PBS, por sus siglas en inglés).

#### **2.8.7. Purificación de la muestra**

La muestra diluida en PBS al 1% (100 mL) fue purificada en columnas de inmunoafinidad (OCHRAPREP, R-Biopharm Rhône Ltd. UK) a un flujo de 2 a 3 mL/min. La columna fue lavada con 10 mL de agua tipo I (18,2 MΩ.cm) y las toxinas se eluyeron desde la columna con 4 mL de metanol grado HPLC.

#### **2.8.8. Cuantificación por HPLC**

La identificación y cuantificación se realizó en un sistema HPLC (Agilent technologies 1100/1200 series. Waldbronn, Germany), constituido de una bomba binaria (G1312A), detector de fluorescencia (FLD G1321A) ( $\lambda$  excitación 330 nm y  $\lambda$  emisión de 445 nm), auto-inyector (G1329A) y controlado por el software Chemstation (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) (figura 3-2). La separación fue realizada en una columna de fase reversa C18 (150x4,6 mm, 5µm) (Agilent Zorbax SB C18, United States). Para la determinación se inyectó 20 µL de extracto en la columna a un flujo de 1 mL/min. La fase móvil estuvo constituida por una mezcla de acetonitrilo/metanol/ácido acético 2% (40:30:30 v/v/v). La cuantificación se realizó por comparación de áreas obtenidas para las muestras en una curva de calibración realizada con un estándar puro de Ocratoxina A. La incertidumbre del método establecida por (Moreno, 2022 p. 67) es de  $\pm 0.86$  ng/g.



**Figura 3-2.** Cromatógrafo Agilent 1100 series

Realizado por: Palma, J. 2022.

### ***2.8.9. Lavado y desinfección de materiales***

Se enjuagó los materiales con agua de la llave y se colocaron en baldes plásticos con cloro (solución de hipoclorito de sodio al 3%), en el caso de los tubos de ensayo se colocó en solución de sulfacrómica, se dejó reposar aproximadamente 24 horas, para posteriormente lavar con abundante agua y jabón líquido; al final se enjuagó con agua tipo I (18,2 M $\Omega$ .cm) para guardarlos en la estufa a 30 °C.

### ***2.8.10. Lavado del equipo HPLC***

Para el lavado del equipo HPLC se utilizó 2-propanol el cual debe fluir por todo el equipo durante aproximadamente 1 hora, retirando la columna de fase reversa C18 (150x4.6 mm, 5 $\mu$ m) (Agilent Zorbax SB C18, United States).

### ***2.8.11. Determinación de Humedad***

La determinación de humedad se realizó siguiendo el método oficial NTE INEN 1235 (1987, pp.2-3) “Granos y cereales. Determinación del contenido de humedad”. Para lo cual se realizó el siguiente procedimiento:

Se encendió la estufa a 130 °C - 133 °C por un lapso de 30 min para temperar los crisoles a dicha temperatura, una vez calentado el crisol se transfirió a un desecador para posteriormente pesarlo (anotar el peso del crisol) y colocar 5 gramos de muestra en el mismo, se introdujo nuevamente a

la estufa y se lo dejó por un lapso de 24 horas. Una vez transcurrido el tiempo se sacó el crisol de la estufa, se enfrió en el desecador por 30 min y se pesó nuevamente anotando el peso del crisol con el peso de la muestra seca. Finalmente se aplicó las siguientes ecuaciones para el cálculo de humedad.

$$\text{Ec. 3.2} \quad \% \text{ HUMEDAD} = \frac{m_t - m_s}{m_t} \times 100$$

**Donde:**

mt: Masa de la muestra triturada en gramos

ms: Masa de la muestra seca en gramos

$$\text{Ec. 4.2} \quad m_s = P_{ms} - P_c$$

**Donde:**

Pms: Peso de la muestra seca en gramos

Pc: Peso del crisol

### ***2.8.12. Determinación de Actividad de Agua***

La actividad de agua fue determinada por la técnica de punto de rocío en la que se utilizó el equipo “novasina”; la muestra no es pesada únicamente se introduce una porción pequeña de ella dentro de la capsula del equipo y se procede a la lectura encendiendo dicho equipo.

## **2.9. Metodología de Evaluación**

### ***2.9.1. Ocurrencia natural de Ocratoxina A en quinua***

La ocurrencia natural de Ocratoxina A se evaluó en función al método validado establecido por (Moreno, 2022 p. 41-46), el cual está basado en el método oficial AOAC 2004.10; dicho método presenta parámetros establecidos de: Temperatura de columna, presión y tipo de columna, longitud de onda, fase móvil, tiempo de cromatografía, flujo y volumen de muestra.

### ***2.9.2. Humedad***

La humedad se determinó en base a la norma NTE INEN 1235 (1987, pp.2-3) “Granos y cereales. Determinación del contenido de humedad”. Es un proceso gravimétrico que determina el

porcentaje de humedad teniendo en cuenta la cantidad de agua en los granos que se elimina, al someterlos a una temperatura de  $33 \pm 2$  °C; estableciendo una diferencia de pesos en una misma muestra.

### ***2.9.3. Actividad de agua***

La actividad de agua se determinó mediante la técnica punto de rocío establecida en la norma (ISO 18787:2017). Este proceso se basa en la medición de la temperatura a la que se condensa el vapor de agua a tal punto de que la humedad relativa dentro de la cámara y la actividad de agua del producto son iguales.

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Las 49 muestras analizadas de la provincia de Chimborazo fueron: 39 muestras del cantón Colta, 5 muestras del cantón Riobamba y 5 del cantón Guamote. En el ANEXO F se presenta el listado de las muestras analizadas

#### 3.1. Humedad

Según Mallmann et al. (2007: pp.191-192) asegura que la humedad es uno de los factores más importante dentro del desarrollo de microorganismos junto a la temperatura. Al estar sometidos a factores adecuados para alcanzar un estado fisiológico determinado pueden estos organismos llegar a generar metabolitos benéficos o perjudiciales para la salud tanto humana como de animales; en el caso de los hongos estos pueden generar esporas las cuales son conocidas como micotoxinas.

**Tabla 1-3:** Análisis de humedad en quinua de Chimborazo

	CANTÓN		
	COLTA	GUAMOTE	RIOBAMBA
<b>MINIMO</b>	5,12%	6,29%	5,41%
<b>MAXIMO</b>	8,59%	7,50%	8,06%
<b>MEDIA</b>	6,75% (a)	7,03% (a)	6,31% (a)
<b>DESV. EST</b>	0,89%	0,50%	1,12%
<b>PROBABILIDAD</b>	0,4383		

Realizado por: Palma, 2022

Según los resultados obtenidos las medias presentan diferencias no significativas ( $P > 0,05$ ) obteniéndose una probabilidad de 0,4383; por lo tanto, las medias son estadísticamente iguales. Es importante mencionar que las muestras luego de someterse a un proceso de secado a una temperatura de  $33 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 horas, presentaron valores de humedad comprendidos en un rango de 5,12% a 8,59 %; obteniéndose una humedad promedio en el cantón Guamote de  $(7,03\% \pm 0,50\%)$ , en el cantón Colta de  $(6,745\% \pm 0,89\%)$  y finalmente en el cantón Riobamba de  $(6,314\% \pm 1,12\%)$ .

Según ELIKA (2013, p.1) el contenido de humedad que presenten las muestras dependerá netamente del proceso de secado al que ha sido expuesto el producto. Los valores de humedad determinados, están dentro de la norma (CXS 333-2019, 2020, p.2) definida por la FAO y la OMS; ya

que mencionan que la quinua posea un máximo de 13% de humedad y las muestras analizadas presentaron valores comprendidos entre 5,12% y 8,59%.

Estos resultados constituyen una información muy útil para los productores de la provincia de Chimborazo, puesto que; (ELIKA, 2013, p.1) y (Mallmann et al., 2007, p.191) asegura que el contenido de humedad de los granos influye directamente en el desarrollo de microorganismos, lo cuales; al estar expuestos a factores adecuados para alcanzar un estado fisiológico determinado pueden llegar a generar metabolitos benéficos o perjudiciales para la salud de humanos y animales. En este sentido, (ELIKA, 2013, p.1) afirma que la humedad favorece a la generación de hongos, que en condiciones atmosféricas determinadas pueden producir micotoxinas; por lo planteado el autor (Puerta, 2006, p.4) hace énfasis en que la Ocratoxina A puede desarrollarse idealmente a una humedad de grano mayor al 18%, a una humedad relativa del 70% al 90% y a una temperatura de 24 °C (cepas de *A. ochraceus*, *Penicillium* y *Alternaria*).

### 3.2. Actividad de agua

Los valores de  $a_w$  de agua en quinua analizada proveniente de la provincia de Chimborazo, están comprendidos en un rango de 0,255 a 0,428. Cabe mencionar que a nivel de cantón cuentan con un determinado valor promedio de  $a_w$ , los cuales son: Guamote con  $0,32 \pm 0,06$ ; Colta con  $0,35 \pm 0,04$  y Riobamba con  $0,38 \pm 0,03$ . Los valores estadísticos calculados se encuentran en la Tabla 2 - 3

**Tabla 2-3:** Análisis de  $a_w$  en quinua de Chimborazo

	CANTÓN		
	COLTA	GUAMOTE	RIOBAMBA
<b>MINIMO</b>	0,280	0,255	0,350
<b>MAXIMO</b>	0,428	0,383	0,405
<b>MEDIA</b>	0,351 (a)	0,317 (a)	0,375 (a)
<b>DESV. EST</b>	0,041	0,059	0,026
<b>PROBABILIDAD</b>	0,0995		

Realizado por: Palma, J. 2022

Según los resultados obtenidos las medias presentan diferencias no significativas ya que el valor de la probabilidad obtenida (0,0995) es mayor a 0,05; por lo tanto, las medias son iguales estadísticamente.

Según Puerta (2006, p.2) asegura que para el desarrollo de microorganismos (hongos, bacterias, levaduras o mohos) los principales factores son el sustrato del alimento, la cantidad de agua

disponible, temperatura y pH. El desarrollo más elevado de microorganismos se observa en alimentos con una  $a_w$  elevada, es decir alimentos con  $a_w$  cercanas a 1.

La  $a_w$  determinada es un dato informativo muy importante para los productores de quinua de Chimborazo, ya que de esto dependerá la estabilidad del alimento frente a factores microbiológicos que pueden afectar las características organolépticas y nutricionales del producto. Según la clasificación citada por (Puerta, 2006, p.2) se define a los alimentos con una  $a_w$  alta ( $>0,7$ ), media ( $0,6 - 0,7$ ) y baja ( $<0,6$ ); en base a la información expuesta se puede definir a las muestras de quinua analizadas, como un alimento con actividad de agua baja; es decir, es considerado un cereal muy estable en cuanto al desarrollo de microorganismos

Según Puerta (2006, p.3) y ELIKA (2013, p.1) afirman que las cepas responsables de una mayor generación de Ocratoxina A son las cepas de *A. ochraceus* y *P. verrucosum*, las cuales pueden llegar a desarrollarse en una actividad de agua mínima de 0,83 y máxima de 0,90; teniendo en cuenta esta afirmación se puede corroborar que las muestras analizadas de quinua, las cuales presentaron un valor mínimo de 0,255 y un valor máximo de 0,428 en la  $a_w$ ; no presentan un riesgo de desarrollo de dichas cepas.

### 3.3. Ocurrencia de Ocratoxina A

Los resultados de la cuantificación de Ocratoxina A en 49 muestras de quinua procedentes de las principales zonas productoras de la provincia de Chimborazo se presentan en la tabla 3-3. Estos resultados demostraron que en los cantones de Guamote y Riobamba no se detectaron muestras contaminadas con OTA, los resultados en todos los casos fueron inferiores al límite de cuantificación del método (Ausente;  $LC < 1.03 \mu\text{g/kg}$ ). En el cantón Colta se detectó una muestra contaminada con  $51,38 \mu\text{g/kg}$ , por lo cual se generó una alerta sobre un posible riesgo de contaminación por OTA en las zonas aledañas al lote de donde se obtuvo la muestra.

**Tabla 3-3:** Análisis de Ocratoxina A en quinua

CANTÓN	CODIGO	RESULTADO
COLTA	21-1196	<LC
COLTA	21-1197	<LC
RIOBAMBA	21-1198	<LC
COLTA	21-1199	<LC
COLTA	21-1200	<LC
COLTA	21-1201	<LC
COLTA	21-1202	<LC

COLTA	<b>21-1203</b>	<LC
COLTA	<b>21-1204</b>	51,38 µg/kg
COLTA	<b>21-1205</b>	<LC
COLTA	<b>21-1206</b>	<LC
COLTA	<b>21-1207</b>	<LC
COLTA	<b>21-1208</b>	<LC
COLTA	<b>21-1209</b>	<LC
COLTA	<b>21-1210</b>	<LC
COLTA	<b>21-1211</b>	<LC
RIOBAMBA	<b>21-1212</b>	<LC
GUAMOTE	<b>21-1213</b>	<LC
COLTA	<b>21-1214</b>	<LC
GUAMOTE	<b>21-1215</b>	<LC
COLTA	<b>21-1216</b>	<LC
COLTA	<b>21-1217</b>	<LC
RIOBAMBA	<b>21-1218</b>	<LC
COLTA	<b>21-1219</b>	<LC
RIOBAMBA	<b>21-1220</b>	<LC
COLTA	<b>21-1221</b>	<LC
COLTA	<b>21-1222</b>	<LC
COLTA	<b>21-1223</b>	<LC
COLTA	<b>21-1224</b>	<LC
COLTA	<b>21-1225</b>	<LC
COLTA	<b>21-1226</b>	<LC
COLTA	<b>21-1227</b>	<LC
COLTA	<b>21-1228</b>	<LC
COLTA	<b>21-1229</b>	<LC
COLTA	<b>21-1230</b>	<LC
COLTA	<b>21-1231</b>	<LC
COLTA	<b>21-1232</b>	<LC
RIOBAMBA	<b>21-1233</b>	<LC
COLTA	<b>21-1234</b>	<LC
COLTA	<b>21-1235</b>	<LC
COLTA	<b>21-1236</b>	<LC
COLTA	<b>21-1237</b>	<LC
COLTA	<b>21-1238</b>	<LC
COLTA	<b>21-1239</b>	<LC
GUAMOTE	<b>21-1240</b>	<LC
GUAMOTE	<b>21-1241</b>	<LC
COLTA	<b>21-1242</b>	<LC
COLTA	<b>21-1243</b>	<LC
GUAMOTE	<b>21-1244</b>	<LC
<b>&lt;LC= Menor al límite cuantificable (&lt;1.03 µg/kg)</b>		

Realizado por: Palma, J. 2022.

### 3.3.1. Ocurrencia de Ocratoxina A en quinua a nivel de Provincia

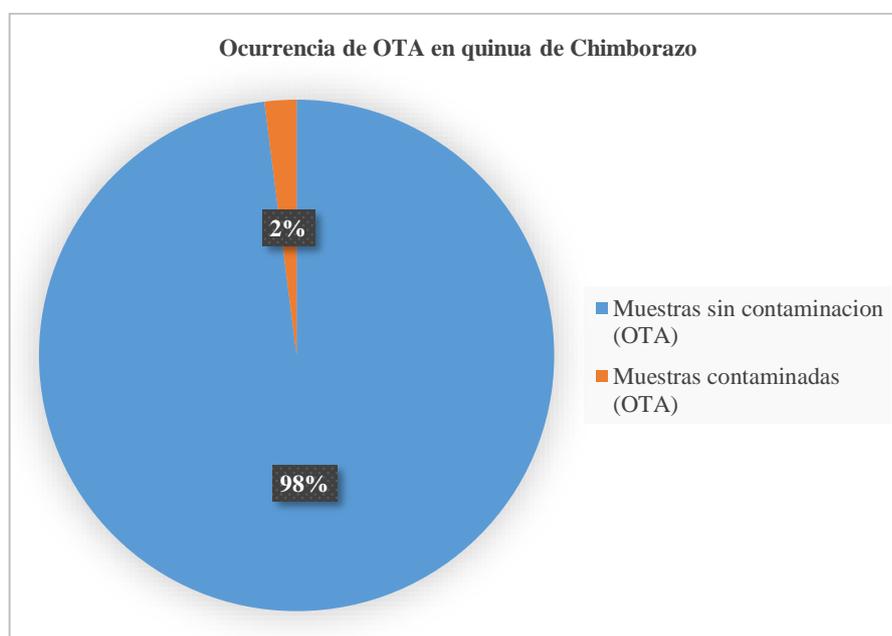
En la tabla 4-3, se presenta los resultados del estudio de ocurrencia natural de Ocratoxina A en 49 muestras de quinua de las zonas productoras determinadas de la Provincia de Chimborazo.

**Tabla 4-3:** Cuantificación de muestras contaminada

	Cantidad
Muestras sin contaminación (OTA)	48
Muestras contaminadas (OTA)	1
Total de muestras	49

Realizado por: Palma, J. 2022

Estos resultados permitieron establecer que en la provincia existe un porcentaje de incidencia de OTA del 2% (Gráfico 1-3), esta incidencia es de ocurrencia natural de la toxina, puesto que; las muestras de quinua analizadas no fueron sometidas a ningún proceso de industrialización.



**Gráfico 1-3.** Porcentajes de la Ocurrencia de OTA en quinua en Chimborazo

Realizado por: Palma, J. 2022.

En función de los resultados obtenidos se determinó que los cantones Riobamba y Guamote no presentaron en sus muestras una contaminación mayor al límite cuantificable 1.03  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; por el contrario, se encontró una muestra contaminada proveniente de una parroquia del cantón Colta estableciendo que la contaminación es específica de esta zona y no hay inferencia a nivel de todo este cantón.

Estos resultados permitieron calcular una incidencia baja de OTA en la provincia de Chimborazo, sin embargo; se observó que la muestra contaminada presentó un valor de OTA de 51,38 µg/kg, el cual es muy superior al nivel máximo permitido en quinua (5 µg/kg) de acuerdo a la regulación (EC) N° 1881/2006 de la normativa (CXS 193-1995, 2019, p.49) (Tabla 5-3). El valor obtenido es 10 veces superior al nivel máximo permitido, lo que indica que existe un peligro latente, puesto que; si la quinua en el proceso poscosecha e industrialización recibe condiciones óptimas de temperatura y humedad los hongos pueden generar toxinas e incrementar la capacidad ocratoxígenica de tal forma que puede llegar a contaminar los lotes destinados a la comercialización.

**Tabla 5-3:** Comparación de la muestra 12-2104 con la norma CXS 193-1995

REGULACIÓN (EC) N° 1881/2006		
Materia Prima	Nivel máximo µg/kg	Nivel de contaminación µg/kg de la muestra
Cereales no procesados	5,0	51,3815

**Fuente:** (CXS 193-1995, 2019).

**Realizado por:** Palma, J. 2022.

Estos resultados concuerdan con los estudios presentados por (Ravelo et al., 2011: p. 1216), en los cuales se afirma que los alimentos más susceptibles a ser afectados por Ocratoxina A son los cereales, los cuales son más vulnerables cuando son sometidos a procesos industriales. Como ya se mencionó por (ELIKA, 2013, p.1) y (Puerta, 2006, p.2-3) la humedad y la actividad de agua son dos factores importantes a considerar en el desarrollo de Ocratoxina A dentro de los productos alimenticios; de igual manera (Ravelo et al., 2011: pp.1218 -1219), reportó que; cuando los granos de cereales presentan una humedad > 14% y una actividad de agua mayor a 0,8 están expuestos a un riesgo elevado de contaminación por OTA, debido al desarrollo de microorganismos. En este contexto, los resultados obtenidos permitieron establecer que la muestra contaminada llegó al laboratorio con esporas de OTA, puesto que; todas las muestras presentaron un contenido de humedad inferior al 10% y una actividad de agua menor a 0,5. De igual manera el mencionado autor reportó que la presencia de esta micotoxina está altamente relacionada con el proceso de cosecha del grano; este argumento fue confirmado por (Casas, 2011, pp.41-42) y por (Veas y Cortés, 2016: pp.29-30), los cuales afirman que cuando los procesos de siega y emparve manual no se realizan de forma correcta, pueden causar una serie de inconvenientes al grano, alterando su calidad e inocuidad y por lo tanto su comercialización: ya que estos 2 procesos al estar expuestos a contaminación por tierra (suelo) lugar donde también es posible encontrar hongos productores de micotoxinas, pueden ser posibles puntos de contaminación del producto cosechado (Puerta, 2006, p. 3). Afirma en sus estudios realizados sobre café pergamino que es posible encontrar A.

*ochraceus* en el suelo de la mayoría de cultivos tanto de cereales como de café, siendo esta cepa la mayor productora de OTA en comparación a *Penicillium* y *Alternaria*.

## CONCLUSIONES

- Se analizaron 49 muestras de quinua provenientes de Riobamba (5 muestras), Guamote (5 muestras) y Colta (39 muestras). Los resultados promedio de humedad fueron para el cantón Colta  $6,75\% \pm 0,89\%$ , para el cantón Guamote  $7,03\% \pm 0,50\%$  y para el cantón Riobamba  $6,31\% \pm 1,12\%$ . Las medias de estos resultados no presentaron diferencias estadísticas significativas ( $P < 0,05$ ), pudiendo deberse a que todas las muestras fueron sometidas al mismo proceso de secado para garantizar la estabilidad de la muestra (temperatura de secado  $33 \pm 2$  °C durante 24 horas) para la determinación de OTA.
- Los resultados de actividad de agua promedio pertenecientes a Colta ( $0,351 \pm 0,041$ ), Guamote ( $0,317 \pm 0,059$ ) y Riobamba ( $0,375 \pm 0,026$ ) son estadísticamente iguales ( $P > 0,05$ ), lo que garantizó que las muestras no se alteren previo a la determinación de OTA.
- De las 49 muestras analizadas solamente una muestra supero el límite cuantificable del método analítico utilizado ( $LC = <1,03 \mu\text{g}/\text{kg}$ ). Esta muestra provino del cantón Colta, presentó una contaminación de  $51,38 \mu\text{g}/\text{kg}$  de OTA superando en 10 veces el nivel máximo permitido de  $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ , estimado en la regulación (EC) N° 1881/2006 de la normativa CXS 193-1995. Por tanto, la ocurrencia natural de Ocratoxina A en quinua producida en la provincia de Chimborazo fue del 2%, encontrando únicamente una muestra contaminada de 49 posibles, análisis realizado en el año 2021 en los meses de septiembre a diciembre.

## RECOMENDACIONES

- Implementar el análisis de ocurrencia de Ocratoxina A en los siguientes eslabones de la cadena agroalimentaria definidos en la producción (poscosecha) y procesamiento de la quinua; debido a que la humedad y  $a_w$  del producto puede variar favoreciendo el desarrollo de hongos y con ello el de micotoxinas (OTA).
- Realizar análisis microbiológicos para caracterizar y determinar la presencia de cepas productoras de micotoxinas tanto en el producto como en el área de cosecha y poscosecha.
- Difundir los resultados obtenidos, en cuanto a la determinación de OTA, humedad y  $a_w$  para futuros trabajos de investigación.

## **BIBLIOGRAFÍA**

**AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST.** *Official Methods of Analysis. United States of America:* Chapter, 2005, pp. 61-63

**APAZA, V. & DELGADO, P.** *Manejo y mejoramiento de Quinoa Organica. Illpa-Puno: Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria.* [en línea]. Perú. INIA, 2005. pp. 8-18. [Consulta: 20 noviembre 2021]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/443065689/INIA-MANUAL-DE-QUINUA-ORGANICA-doc>

**BHAT, Rajeev; et al.** "Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns". *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, vol. 9, n° 1 (2009), pp. 57-81.

**BRERA, Carlos; et al.** "Chapter 12 Mycotoxins". *Comprehensive Analytical Chemistry* [en línea], 2008, 51(08), pp. 363–427. [Consulta: 20 noviembre 2021]. ISSN 0166-526X. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0166526X08000123>

**BERNAL, B; et al.** *Cromatografía Líquida de Alta Resolución Instituto Politécnico Nacional Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología Métodos cuantitativos.* 2a ed. México. Akal, 2010, p. 14

**CAMEÁN, Ana & REPETTO, Manuel.** *Toxicología Alimentaria.* España: Ediciones Díaz de Santos, 2006, pp 4-11.

**CASAS, Nidia.** *Alternativas para la generación de valor agregado en los cultivos de mango y quinua* [en line]. Bogotá-Colombia: Kimpres S.A.S, 2016. pp. 40-45. [Consulta: 21 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.uniagraria.edu.co/wp-content/uploads/2018/09/alternativas-para-la-generacion-de-valor-agregado-en-los-cultivos-de-mango-y-quinua.pdf>

**CXS 193-1995.** *Norma general para los contaminantes y las toxinas.* 2019, p. 49.

**CXS 333-2019.** *Norma para la quinua.* 2020, pp. 2-4.

**ELIKA.** *Ocratoxina A* [blog]. [Consulta: 20 enero 2022]. Disponible en: FICHA OCRATOXINA A (elika.eus)

**EL MUNDO.** *Identificación gen de quinua que permitiría su consumo mundial* [blog]. [Consulta: 21 noviembre 2021]. Disponible en: [https://www.dw.com/es/identifican-gen-de-quinua-que-permitir%C3%ADa-su-consumo-mundial/a-37486634GANICA\\_TRANSFORMACION\\_2011.pdf](https://www.dw.com/es/identifican-gen-de-quinua-que-permitir%C3%ADa-su-consumo-mundial/a-37486634GANICA_TRANSFORMACION_2011.pdf)

**EL TIEMPO.** *Conozca los beneficios de la quinua según la FAO* [blog]. [Consulta: 01 enero 2022]. Disponible en: <https://www.eltiempo.com/vida/recetas/la-quinua-y-sus-beneficios-595614>

**FAO.** *Informe: Evaluación de calidad de granos en América Latina. Propuesta para uniformar el sistema de evaluación* [blog]. [Consulta: 21 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/bodies/c91/c20150/es/>

**FAO.** *Micotoxinas - Rol e importancia en nutrición acuícola.* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/AB482S/AB482S13.htm>

**FAO.** *Distribución y producción de quinua.* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: [http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/distribution-and-production/es/?no\\_mobile=1](http://www.fao.org/quinoa-2013/what-is-quinoa/distribution-and-production/es/?no_mobile=1)

**FAO & ALADI.** *Tendencias y perspectivas del comercio internacional de quinua* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <http://www.fao.org/3/i3583s/i3583s.pdf>

**GARCÍA, Ilse.** Implementación y validación de un método analítico para la cuantificación de astaxantina mediante la técnica de HPLC. [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Instituto Politécnico Nacional, Toluca, Mexico. 2016, pp. 21-50. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <https://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/26124/1/BUZZO%20GARCIA%20%20ILSE.pdf>

**GUAMINGA, Juan.** Alternativas gastronómicas con el mejoramiento de las características organolépticas para la elaboración de un recetario a base de hoja de quinua esoch 2013. [En línea] (Trabajo de titulación).(Licenciado) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Chimborazo, Ecuador. 2014. pp. 3-4 [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <http://dspace.esoch.edu.ec/handle/123456789/9885>

**GUARNIZ, Jeniffer. & VALDEZ, Jenny.** "Identificación morfológica de hongos micotoxigénicos en accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Wild.) de la costa y sierra

peruana". *Scienza Agropecuaria* [en línea], 2019, (Perú) 10(3), pp. 327-336. [Consulta: 18 noviembre 2021]. ISSN 2077-9917. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000300002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S2077-99172019000300002&script=sci_arttext)

**IBNORCA.** *GRANOS ANDINOS. Pseudos cereales. Quinoa en grano. Clasificación y requisitos* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <http://www.comunidadandina.org/StaticFiles/Reglamentos/NA0038-2016.htm>

**INEC.** *Tabulados de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2018* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: [https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/espac/espac-2018/Tabulados%20ESPAC%202018.xlsx](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/espac/espac-2018/Tabulados%20ESPAC%202018.xlsx)

**ISO 18787.** *Foodstuffs — Determination of water activity.* 2017

**IIAC, INSTITUTO INTERAMERICA DE COPERACIÓN PARA LA AGRICULTURA.** *Norma CODEX del grano de quinua* [blog]. [Consulta: 20 enero 2022]. Disponible en: <https://www.iica.int/es/prensa/noticias/norma-codex-del-grano-de-quinua>

**INSTRUMENTOSDELABORATORIO.NET.** *Analizador Elisa* [blog]. [Consulta: 20 enero 2022]. Disponible en: <http://www.instrumentosdelaboratorio.net/2012/05/analizador-de-elisa.html>

**KOS, Jovana; et al.** "Comparison of ELISA, HPLC – FLD and HPLC – MS/MS methods for determination of aflatoxin M1 in natural contaminated milk samples". *Acta Chimica Slovenica* [en línea], 2016, 63(4), pp. 747–756. [Consulta: 20 noviembre 2021]. ISSN 1580-3155. Disponible en: <https://doi.org/10.17344/acsi.2016.2451>

**LA PRENSA.PE.** *Muestran en Roma beneficios de la quinua para salud y medioambiente* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <https://laprensa.peru.com/vida-estilo/noticia-muestran-roma-beneficios-quinua-salud-y-medioambiente-48214>

**MAG.** *UNA EP acopia 1200 quintales de semilla de quinua.* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.agricultura.gob.ec/una-ep-acopia-1200-quintales-de-semilla-de-quinua/>

**MAG.** *Resumen Ejecutivo de los Diagnósticos Territoriales del Sector Agrario. Ministerio de Agricultura y Ganadería* [en línea]. Quito – Ecuador: Coordinación General de Planificación y Gestión Estratégica, 2020. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: [https://www.agricultura.gob.ec/wp-content/uploads/2020/08/Resumen-Ejecutivo-Diagn%C3%B3sticos-Territoriales-del-Sector-Agrario\\_14-08-2020-1\\_compressed.pdf](https://www.agricultura.gob.ec/wp-content/uploads/2020/08/Resumen-Ejecutivo-Diagn%C3%B3sticos-Territoriales-del-Sector-Agrario_14-08-2020-1_compressed.pdf)

**MALLMANN, Carlos; et al.** "Micotoxinas en ingredientes para alimento balanceado de aves". *XX Congreso Latinoamericano de Avicultura* [En línea]. 2007, (Brasil) 44(4), pp 191-204. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <http://www.educabo.com/pdf/articulos/micotoxinas%20en%20ingredientes%20aves%20DR.%20Mallmann.pdf>

**MEDINA, Elizabeth.** La comercialización y demanda de consumo de la quinua en el cantón colta, período 2016 – 2017 [En línea]. (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Universidad Nacional de Chimborazo, Chimborazo, Ecuador. 2018, pp. 7 - 55. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/5041>

**MORENO, Byron.** Validación de un método analítico para Ocratoxina A en quinua usando HPLC-fluorescencia. (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador. 2022, pp. 41 - 46.

**MUJICA, Angel & JACOBSEN, Sven-E.** "La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) y sus parientes silvestres". *Botánica Económica de los Andes Centrales* [en línea], 2006. 42(1), pp. 449–457. [Consulta: 24 enero 2022]. ISSN 2075-5023. Disponible en: <https://beisa.au.dk/Publications/BEISA%20Book%20pdfer/Capitulo%2027.pdf>

**NIETO, Carlos. & VIMOS, Carlos.** *La quinua, cosecha y poscosecha algunas experiencias en Ecuador.* [en línea]. Quito-Ecuador: INIAP, 1992, pp 5-28. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/140/1/iniapscb224.pdf>

**NTE INEN 1235.** *Granos y cereales. Determinación de humedad (método de rutina).* 1987, pp. 2-3

**OCHOA, Rolando; et al.** "Validación de un ELISA para la cuantificación de antitoxina tetánica en suero humano". *Redalyc* [en línea], 2000, (Cuba) 9(4), pp. 16–21. [Consulta: 24 enero 2022]. ISSN: 1025-0298. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2034/203415535003.pdf>

**ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS).** *Micotoxinas* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>

**PANDO, Luz; & AGUILAR, Enrique.** *Guía de cultivo de la quinua* [en línea]. Lima - Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina, 2016, pp 3-100 [Consulta: 19 noviembre 2021]. Disponible en: <https://www.fao.org/3/i5374s/i5374s.pdf>

**PUERTA, Gloria.** "La humedad controlada del grano preserva la calidad del café". *Cenicafé* [en línea], 2006, (Colombia), pp. 1-3. [Consulta: 18 noviembre 2021]. ISSN 0120-0178. Disponible en: [https://handbook.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/TECNOLOGICAS\\_20/Quimica\\_Industrial/2.pdf](https://handbook.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/TECNOLOGICAS_20/Quimica_Industrial/2.pdf)

**RAVELO, A; et al.** "La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión humano: revisión". *Scielo* [en línea], 2011, (España) 26(6), pp.1215-1226. [Consulta: 19 noviembre 2021]. ISSN 0212-1611. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v26n6/04\\_revision\\_01.pdf](https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v26n6/04_revision_01.pdf)

**REGLAMENTO (CE) N° 401/2006.** *Por el que se establecen los métodos de muestreo y de análisis para el control oficial del contenido de micotoxinas en los productos alimenticios*

**SANTILLÁN, Ricardo; et al.** "Micotoxinas: ¿Qué son y cómo afectan a la salud pública?". *Revista Digital Universitaria* [en línea], 2017, (México) 18(6), pp 2 - 9. [Consulta: 19 noviembre 2021]. Disponible en: [http://www.revista.unam.mx/vol.18/num6/art46/PDF\\_art46.pdf](http://www.revista.unam.mx/vol.18/num6/art46/PDF_art46.pdf)

**SERRANO, Hector; & CARDONA, Nora.** "Micotoxycosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos". *CES Medicina* [en línea], 2015, (Colombia) 29(1), pp 143 - 151. [Consulta: 19 noviembre 2021]. ISSN 0120-8705. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v29n1/v29n1a12.pdf>

**SISTEMA DE INFORMACIÓN PÚBLICA AGROPECUARIA DEL ECUADOR (SIPA).** *Precios nacionales multinivel e internacionales* [blog]. [Consulta: 18 noviembre 2021]. Disponible en: [http://sinagap.mag.gob.ec/sina/PaginasCGSIN/Rep\\_Pre\\_Prod\\_X\\_MercCGSIN.aspx](http://sinagap.mag.gob.ec/sina/PaginasCGSIN/Rep_Pre_Prod_X_MercCGSIN.aspx)

**SORIANO, Miguel; et al.** *Micotoxinas en Alimentos*. España: Díaz de santos, 2007, pp 15 - 218

**VEAS, Enrique. & CORTÉS, Hernan.** *Manual del cultivo de la quinoa* [en línea]. 1 ed. La Serena - Chile: CEAZA, 2016. [Consulta: 19 noviembre 2021]. Disponible en: [http://www.ceaza.cl/wp-content/uploads/2019/04/Libro-de-la-quinoa\\_FINAL.pdf](http://www.ceaza.cl/wp-content/uploads/2019/04/Libro-de-la-quinoa_FINAL.pdf)

**VEGA, Antonio; et al.** "Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.)". *Journal of the science of food and agriculture*, vol. 90, n° 15 (2010), (Chile) pp 2541 - 2547.

**VILLACRÉS, Elena; et al.** *Potencial agroindustrial de la quinua* [blog]. [Consulta: 19 noviembre 2021]. Disponible en: <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/239/4/iniapscbd146.pdf>

**YAO, H; et al.** "Developments in detection and determination of aflatoxins". *World Mycotoxin Journal* [en línea], 2015, 8(2), pp. 181–191. [Consulta: 20 enero 2022]. ISSN 1875-0796. Disponible en: <https://www.wageningenacademic.com/doi/pdf/10.3920/WMJ2014.1797>

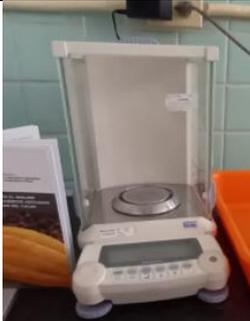
**ZAIN, Mohamed.** "Impact of mycotoxins on humans and animals". *Journal of Saudi Chemical Society* [en línea], 2011, 15(2), pp 129 - 144 . [Consulta: 20 noviembre 2021]. ISSN 1319-6103. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319610310000827#s0005>

  
Ing. Cristian Castillo



## ANEXOS

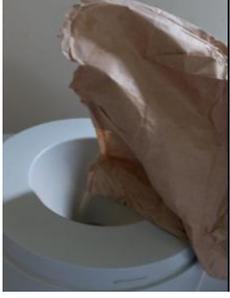
### ANEXO A: AREAS DE TRABAJO UTILIZADAS

		
Área de espectrofotetría	Área de pesaje	Area de cromatografía
		
Área de recepción de muestras	Área de lavado	Almacenamiento de reactivos
		
Bidestilador	Área de molienda	Labotario L-SAIA

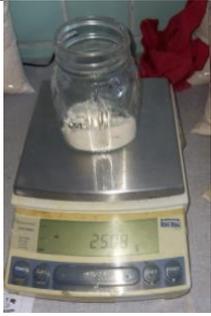
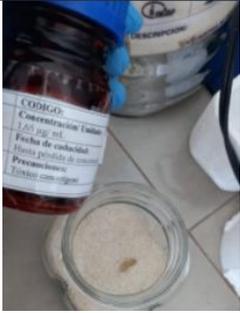
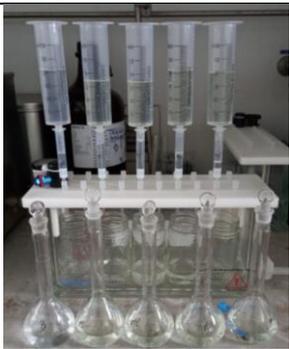
**ANEXO B: ESTÁNDAR MADRE (1.65  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) Y ESTÁNDAR (50  $\text{ng}/\text{mL}$ )**

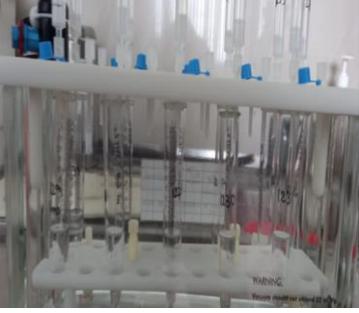
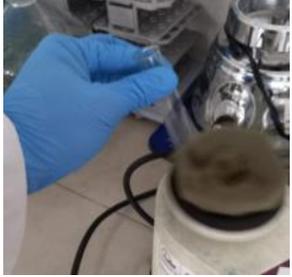
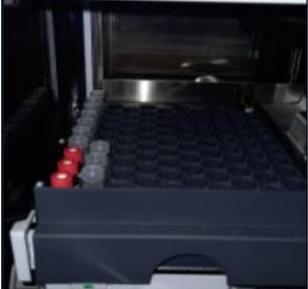


**ANEXO C: MOLIENDA MUESTRAS DE QUINUA**

		
<p>Muestra empacada y codificada</p>	<p>Especificaciones de molienda</p>	<p>Molienda</p>
		
<p>Quinoa molida</p>	<p>Transpaso a una funda ziploc</p>	<p>Muestra sin moler y molida</p>
		
<p>Molino sucio</p>	<p>Molino limpio para cada muestra</p>	<p>Almacenado en cuarto frío</p>

**ANEXO D: PROCESO DE CUANTIFICACIÓN DE OTA EN QUINUA**

		
<p>Muestras en el cuarto frío</p>	<p>Transporte de muestras al laboratorio</p>	<p>Material a utilizar y muestra temperándose</p>
		
<p>Pesado de 25 gramos de muestra</p>	<p>Transporte de la muestra al área de cromatografía</p>	<p>Contaminación de la muestra</p>
		
<p>Muestra + 200ml de solución de extracción</p>	<p>Licuada de la muestra</p>	<p>Filtrado de la muestra</p>
		
<p>Tomar 4 ml de muestra</p>	<p>Aforado de los 4 ml de extracto con 100 ml de PBS 1%</p>	<p>Atrapado de OTA en las columnas OCHRAPREP</p>

		
Lavado de la jeringa	Extracto filtrado	Residuo libre de OTA
		
Lavado de las columnas OCHRAPREP	Recuperado de OTA	Secado de muestra a baño maría con hidrogeno
		
Tanque de hidrogeno	Redisolución de la OTA	Agitación
		
Baño de ultrasonido	Viales codificados	Cuantificación de OTA

## ANEXO E: DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y ACTIVIDAD DE AGUA

		
Secado de la muestra a $33 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ (24 horas)	Desecador utilizado en Humedad	Determinación de humedad por gravimetría
		
Equipo de medición de actividad de agua	Medición de actividad de agua	

**ANEXO F: MUESTRAS CODIFICADAS PARA EL ANÁLISIS DE OCRATOXINA A**

<b>CANTÓN</b>	<b>PARROQUIA</b>	<b>TIPO DE QUINUA</b>	<b>FECHA DE MUESTREO</b>	<b>FECHA DE COSECHA</b>	<b>CODIGO</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	11/8/2021	11/8/2021	<b>21-1196</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	11/8/2021	11/8/2021	<b>21-1197</b>
RIOBAMBA	CACHA	ecotipo Chimborazo	11/8/2021	11/8/2021	<b>21-1198</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	11/8/2021	11/8/2021	<b>21-1199</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	11/8/2021	11/8/2021	<b>21-1200</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	17/8/2021	17/8/2021	<b>21-1201</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	17/8/2021	17/8/2021	<b>21-1202</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	17/8/2021	17/8/2021	<b>21-1203</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	17/8/2021	17/8/2021	<b>21-1204</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	20/8/2021	20/8/2021	<b>21-1205</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	20/8/2021	20/8/2021	<b>21-1206</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	20/8/2021	20/8/2021	<b>21-1207</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	20/8/2021	20/8/2021	<b>21-1208</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	20/8/2021	20/8/2021	<b>21-1209</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1210</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1211</b>
RIOBAMBA	FLORES	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1212</b>
GUAMOTE	LA MATRIZ	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1213</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	11/8/2021	11/8/2021	<b>21-1214</b>
GUAMOTE	LA MATRIZ	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1215</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1216</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1217</b>
RIOBAMBA	FLORES	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1218</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	26/8/2021	26/8/2021	<b>21-1219</b>
RIOBAMBA	CALPI	ecotipo Chimborazo	3/8/2021	3/8/2021	<b>21-1220</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	10/9/2021	10/9/2021	<b>21-1221</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	10/9/2021	10/9/2021	<b>21-1222</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	10/9/2021	10/9/2021	<b>21-1223</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	10/9/2021	10/9/2021	<b>21-1224</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	9/9/2021	9/9/2021	<b>21-1225</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	10/9/2021	10/9/2021	<b>21-1226</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	9/9/2021	9/9/2021	<b>21-1227</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	9/9/2021	9/9/2021	<b>21-1228</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	9/9/2021	9/9/2021	<b>21-1229</b>

COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	9/9/2021	9/9/2021	<b>21-1230</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	13/9/2021	13/9/2021	<b>21-1231</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	9/9/2021	9/9/2021	<b>21-1232</b>
RIOBAMBA	CALPI	ecotipo Chimborazo	14/9/2021	14/9/2021	<b>21-1233</b>
COLTA	SICALPA	ecotipo Chimborazo	9/9/2021	9/9/2021	<b>21-1234</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	13/9/2021	13/9/2021	<b>21-1235</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	14/9/2021	14/9/2021	<b>21-1236</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	14/9/2021	14/9/2021	<b>21-1237</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	13/9/2021	13/9/2021	<b>21-1238</b>
COLTA	SANTIAGO DE QUITO	ecotipo Chimborazo	10/9/2021	10/9/2021	<b>21-1239</b>
GUAMOTE	LA MATRIZ	ecotipo Chimborazo	28/9/2021	28/9/2021	<b>21-1240</b>
GUAMOTE	LA MATRIZ	ecotipo Chimborazo	28/9/2021	28/9/2021	<b>21-1241</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	28/9/2021	28/9/2021	<b>21-1242</b>
COLTA	COLUMBE	ecotipo Chimborazo	28/9/2021	28/9/2021	<b>21-1243</b>
GUAMOTE	LA MATRIZ	ecotipo Chimborazo	28/9/2021	28/9/2021	<b>21-1244</b>

Realizado por: Palma, 2022

**ANEXO G: RESULTADOS DE HUMEDAD EN QUINUA DE CHIMBORAZO**

<b>CÓDIGO</b>	<b>CANTÓN</b>	<b>PARROQUIA</b>	<b>HUMEDAD %</b>	<b>PROMEDIO %</b>
21-1196	COLTA	SICALPA	7,77	6,745
21-1197	COLTA	SICALPA	7,85	
21-1199	COLTA	SICALPA	7,85	
21-1200	COLTA	SICALPA	8,46	
21-1201	COLTA	COLUMBE	7,59	
21-1202	COLTA	COLUMBE	8,59	
21-1203	COLTA	COLUMBE	7,57	
21-1204	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	7,08	
21-1205	COLTA	COLUMBE	7,3	
21-1206	COLTA	SICALPA	7,01	
21-1207	COLTA	COLUMBE	6,8	
21-1208	COLTA	COLUMBE	7,34	
21-1209	COLTA	COLUMBE	7,31	
21-1210	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	6,83	
21-1211	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	6,25	
21-1214	COLTA	SICALPA	5,78	
21-1216	COLTA	SICALPA	7,61	
21-1217	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	5,67	
21-1219	COLTA	COLUMBE	5,29	
21-1221	COLTA	SICALPA	5,56	
21-1222	COLTA	COLUMBE	5,79	
21-1223	COLTA	COLUMBE	6,38	
21-1224	COLTA	SICALPA	6,32	
21-1225	COLTA	COLUMBE	6,32	
21-1226	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	5,68	
21-1227	COLTA	COLUMBE	6,42	
21-1228	COLTA	SICALPA	6,59	
21-1229	COLTA	SICALPA	5,56	
21-1230	COLTA	COLUMBE	6,1	
21-1231	COLTA	COLUMBE	6,33	
21-1232	COLTA	SICALPA	6,43	
21-1234	COLTA	SICALPA	5,12	
21-1235	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	6,69	
21-1236	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	6,35	
21-1237	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	6,42	
21-1238	COLTA	COLUMBE	6,74	
21-1239	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	6,49	
21-1242	COLTA	COLUMBE	7,4	
21-1243	COLTA	COLUMBE	8,42	

<b>21-1213</b>	GUAMOTE	LA MATRIZ	7,5	7,026
<b>21-1215</b>	GUAMOTE	LA MATRIZ	6,29	
<b>21-1240</b>	GUAMOTE	LA MATRIZ	6,77	
<b>21-1241</b>	GUAMOTE	LA MATRIZ	7,38	
<b>21-1244</b>	GUAMOTE	LA MATRIZ	7,19	
<b>21-1198</b>	RIOBAMBA	CACHA	8,06	6,314
<b>21-1212</b>	RIOBAMBA	FLORES	6,79	
<b>21-1218</b>	RIOBAMBA	FLORES	5,74	
<b>21-1220</b>	RIOBAMBA	CALPI	5,57	
<b>21-1233</b>	RIOBAMBA	CALPI	5,41	

Realizado por: Palma, 2022

**ANEXO H: RESULTADOS DE  $a_w$  EN QUINUA DE CHIMBORAZO**

<b>CODIGO</b>	<b>CANTÓN</b>	<b>PARROQUIA</b>	<b><math>a_w</math></b>	<b>PROMEDIO</b>
21-1196	COLTA	SICALPA	0,397	0,351
21-1197	COLTA	SICALPA	0,326	
21-1199	COLTA	SICALPA	0,350	
21-1200	COLTA	SICALPA	0,414	
21-1206	COLTA	SICALPA	0,330	
21-1214	COLTA	SICALPA	0,280	
21-1216	COLTA	SICALPA	0,420	
21-1221	COLTA	SICALPA	0,350	
21-1224	COLTA	SICALPA	0,350	
21-1228	COLTA	SICALPA	0,350	
21-1229	COLTA	SICALPA	0,300	
21-1232	COLTA	SICALPA	0,386	
21-1234	COLTA	SICALPA	0,282	
21-1201	COLTA	COLUMBE	0,416	
21-1202	COLTA	COLUMBE	0,428	
21-1203	COLTA	COLUMBE	0,410	
21-1205	COLTA	COLUMBE	0,319	
21-1207	COLTA	COLUMBE	0,350	
21-1208	COLTA	COLUMBE	0,372	
21-1209	COLTA	COLUMBE	0,370	
21-1219	COLTA	COLUMBE	0,320	
21-1222	COLTA	COLUMBE	0,322	
21-1223	COLTA	COLUMBE	0,335	
21-1225	COLTA	COLUMBE	0,354	
21-1227	COLTA	COLUMBE	0,395	
21-1230	COLTA	COLUMBE	0,337	
21-1231	COLTA	COLUMBE	0,330	
21-1238	COLTA	COLUMBE	0,335	
21-1242	COLTA	COLUMBE	0,410	
21-1243	COLTA	COLUMBE	0,410	
21-1204	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,344	
21-1210	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,331	
21-1211	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,280	
21-1217	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,285	
21-1226	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,355	
21-1235	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,350	
21-1236	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,318	
21-1237	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,330	
21-1239	COLTA	SANTIAGO DE QUITO	0,349	

21-1198	RIOBAMBA	CACHA	0,383	0,317
21-1212	RIOBAMBA	FLORES	0,330	
21-1218	RIOBAMBA	FLORES	0,257	
21-1220	RIOBAMBA	CALPI	0,255	
21-1233	RIOBAMBA	CALPI	0,361	
21-1213	GUAMOTE	LA MATRIZ	0,350	0,375
21-1215	GUAMOTE	LA MATRIZ	0,350	
21-1240	GUAMOTE	LA MATRIZ	0,405	
21-1241	GUAMOTE	LA MATRIZ	0,370	
21-1244	GUAMOTE	LA MATRIZ	0,400	

Realizado por: Palma, 2022

**ANEXO I: RESULTADOS DE OCRATOXINA A EN QUINUA**

CANTÓN	COLTA																
CODIGO	21-1196	21-1197	21-1199	21-1200	21-1201	21-1202	21-1203	21-1204	21-1204'	21-1205	21-1206	21-1207	21-1208	21-1209	21-1210	21-1211	21-1214
FACT. DILUSIÓN	1	1	1	1	1	1	1	10	7	1	1	1	1	1	1	1	1
INYECCIÓN 1	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	5,02	7,505	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
INYECCIÓN 2	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	5,027	7,503	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
RESULTADO(µg/kg)	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	50,235	52,528	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
PROMEDIO(µg/kg)	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	51,3815		< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03

CANTÓN	COLTA																
CODIGO	21-1216	21-1217	21-1219	21-1221	21-1222	21-1223	21-1224	21-1225	21-1226	21-1227	21-1228	21-1229	21-1230	21-1231	21-1232	21-1234	21-1235
FACT. DILUSIÓN	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
INYECCIÓN 1	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
INYECCIÓN 2	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
RESULTADO(µg/kg)	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
PROMEDIO(µg/kg)	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03

CANTÓN	COLTA						GUAMOTE					RIOBAMBA				
CODIGO	21-1236	21-1237	21-1238	21-1239	21-1242	21-1243	21-1213	21-1215	21-1240	21-1241	21-1244	21-1198	21-1212	21-1218	21-1220	21-1233
FACT. DILUSIÓN	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
INYECCIÓN 1	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
INYECCIÓN 2	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03
RESULTADO(µg/kg)	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,04
PROMEDIO(µg/kg)	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03	< 1,03

**<1.03 = Inferior al límite cuantificable**

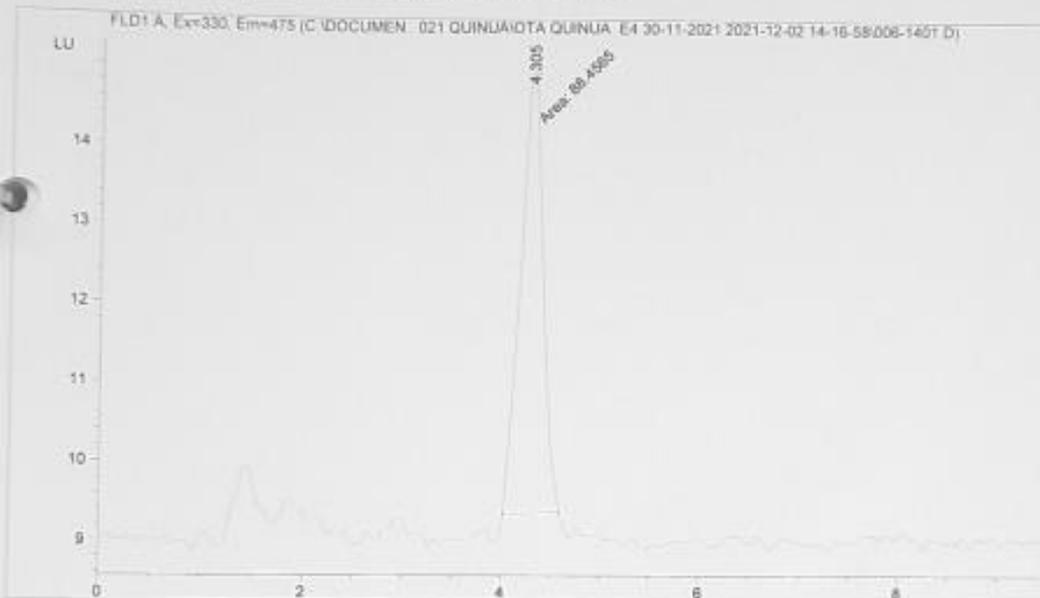
Realizado por: Palma, 2022



Data File C:\DOCUMENT...021 QUINUA\OTA QUINUA E4 30-11-2021 2021-12-02 14-16-58\006-1401.D  
 Sample Name: 1204 (1-7)

```

-----
Acq. Operator   : JERKOF P.                               Seq. Line : 14
Acq. Instrument : LC2                                   Location  : Vial 6
Injection Date  : 12/2/2021 6:04:40 PM                  Inj       : 1
                                                    Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\LSAIA HPLC\DATOS\OTA 2021 QUINUA\OTA QUINUA
E4 30-11-2021 2021-12-02 14-16-58\OTAQUINUA.M
Last changed   : 12/2/2021 12:32:31 PM by JERKOF P.
Analysis Method : C:\DOCUMENTS AND SETTINGS\LSAIA HPLC\DATOS\OTA 2021 QUINUA\OTA QUINUA
E4 30-11-2021 2021-12-02 14-16-58\OTAQUINUA.M
Last changed   : 12/3/2021 8:34:43 AM by JERKOF P.
(modified after loading)
Method Info    : Analisis de Ocratoxina A en Quinoa
  
```



External Standard Report

```

-----
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 12/3/2021 8:35:41 AM
Multiplier    : 30.0000
Dilution      : 1.0000
Sample Amount  : 3.33333e-2 [PPB] (not used in calc.)
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: FLO1 A, Ex=330, Em=475

RetTime [min]	Type	Area LU	Ant/Area %s	Amount [PPB]	Grp	Name
4.305	MM	88.45650	2.82831e-3	7.50547		OTA

Totals : 7.50547





esPOCH

Dirección de Bibliotecas y  
Recursos del Aprendizaje

UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y  
DOCUMENTAL

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 22 / 09 / 2022

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> Jimmy Jerkof Palma Villarroel
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> Ciencias Pecuarias
<b>Carrera:</b> Agroindustria
<b>Título a optar:</b> Ingeniero Agroindustrial
<b>f. responsable:</b> Ing. Cristhian Fernando Castillo Ruiz

  
Ing. Cristhian Castillo



1837-DBRA-UTP-2022