



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

TEMA:

Evaluación de la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxinas B1 de *Aspergillus spp*, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores en el norte de la ciudad de Guayaquil.

AUTORA:

Ortega Veintimilla, Doménica Paulette

**Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

TUTOR:

Ing. Velásquez Rivera, Jorge Ruperto, Ph. D.

Guayaquil, Ecuador

16 de septiembre del 2022



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

CERTIFICACIÓN

Certificamos que el presente **Trabajo de Titulación**, fue realizado en su totalidad por **Ortega Veintimilla Doménica Paulette**, como requerimiento para la obtención del título de **Médico Veterinario y Zootecnista**.

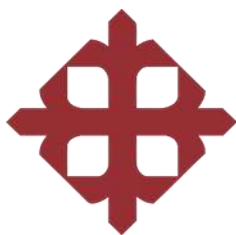
TUTOR

f. _____
Ing. Velásquez Rivera, Jorge Ruperto, Ph. D.

DIRECTOR DE LA CARRERA

f. _____
Dr. Manzo Fernández, Carlos M. Sc.

Guayaquil, a los 16 días del mes de septiembre del año 2022



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD

Yo, Ortega Veintimilla, Doménica Paulette

DECLARO QUE:

El Trabajo de Titulación: Evaluación de la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxinas B1 de *Aspergillus spp*, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores en el norte de la ciudad de Guayaquil, previo a la obtención del título de **Médico Veterinario y Zootecnista**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

Guayaquil, a los 16 días del mes de septiembre del año 2022

LA AUTORA:

f. _____

Ortega Veintimilla, Doménica Paulette.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

AUTORIZACIÓN

Yo, Ortega Veintimilla, Doménica Paulette

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil a la **publicación** en la biblioteca de la institución el Trabajo de Titulación: **Evaluación de la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxinas B1 de *Aspergillus spp*, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores en el norte de la ciudad de Guayaquil**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

Guayaquil, a los 16 días del mes de septiembre del año 2022

LA AUTORA:

f. _____
Ortega Veintimilla, Doménica Paulette.



UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CERTIFICADO URKUND

La Dirección de la Carrera de Medicina Veterinaria revisó el Trabajo de Titulación, **Evaluación de la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxinas B1 de *Aspergillus spp*, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores en el norte de la ciudad de Guayaquil**, presentado por la estudiante **Ortega Veintimilla Doménica Paulette**, de la Carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia**, donde obtuvo del programa URKUND, el valor de 0 % de coincidencias, considerando ser aprobada por esta dirección.



Document Information

| | |
|-------------------|--------------------------------------------------|
| Analyzed document | ORTEGA DOMENICA TESIS (3092022.docx (014628277)) |
| Submitted | 2022-09-14 04:35:08 |
| Submitted by | |
| Submitter email | domenica.ortega@cbio.ucsg.edu.ec |
| Similarity | 0% |
| Analysis address | melissa.carvajal@ucsg@analysis.arkund.com |

Fuente: URKUND-, 2022

Certifican,

Dr. Manzo Fernández, Carlos,
M. Sc.
Director Carrera Medicina
Veterinaria y Zootecnia

Dra. Melissa Joseth Carvajal
Capa, M. Sc.
COORDINADORA DE UTE

AGRADECIMIENTO

Agradezco tanto al pilar de mi vida, mi mami, quien estuvo apoyándome constantemente desde el inicio de mi carrera universitaria, incondicional, económica y moralmente, todo esto es posible gracias a ella.

A todos mis amigos de la carrera, he disfrutado cada hora de estudio gracias a ustedes, tienen un lugar especial en mi corazón.

Y muy especialmente quiero agradecer a mi dulce Anton, nunca serán suficientes las palabras para poder agradecer todo lo que haces por mí, gracias por todo tu apoyo, positivismo, amor y entrega en los momentos más difíciles de mi vida.

Los amo, gracias por tanto.

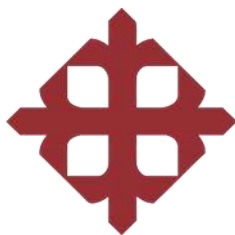
DEDICATORIA

Este trabajo de titulación va dedicado a mi mamá, una mujer trabajadora y luchadora que siempre ha sido y será mi ejemplo a seguir.

A mi novio Antonio, que siempre ha estado pendiente de mi para que cada proyecto de vida pueda cumplirse.

Con mucho amor y gratitud a mi mejor amiga Romina Díaz, eres la mejor compañera que pude haber tenido, mi persona.

A mi pequeña gran amiga, que en este momento no entiendas mis palabras, pero cuando seas capaz, quiero que sepas todo lo importante que significas para mí.



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

f. _____
Ing. Velásquez Rivera, Jorge, Ph. D.
TUTOR

f. _____
Dr. Manzo Fernández, Carlos M. Sc.
DIRECTOR DE CARRERA

f. _____
Dra. Melissa Joseth Carvajal Capa M. Sc.
COORDINADORA DE UTE



**UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL**

FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CALIFICACIÓN

10 (DIEZ)

f. _____
Ing. Velásquez Rivera, Jorge, Ph. D.
TUTOR

ÍNDICE GENERAL

| | | |
|----------|------------------------------------------------------------|----------|
| 1 | INTRODUCCIÓN | 2 |
| 1.1 | Objetivos | 3 |
| 1.1.1 | Objetivo general. | 3 |
| 1.1.2 | Objetivos específicos. | 3 |
| 1.2 | Hipótesis | 3 |
| 2 | MARCO TEÓRICO | 4 |
| 2.1 | Alimentación Animal | 4 |
| 2.1.2 | Alimento balanceado. | 4 |
| 2.1.2.2 | <i>Pollos</i> . | 5 |
| 2.1.2.3 | <i>Sistema digestivo</i> | 6 |
| 2.1.3 | Micotoxicosis en pollo. | 6 |
| 2.2 | Hongos de campo | 6 |
| 2.2.2 | Definición. | 6 |
| 2.2.2 | Principales hongos productores. | 7 |
| 2.2.2.1 | <i>Fusarium</i> . | 7 |
| 2.2.2.2 | <i>Aspergillus</i> . | 7 |
| 2.2.2.3 | <i>Penicillum</i> . | 7 |
| 2.2.3 | <i>Aspergillus</i> : Familias principales. | 8 |
| 2.3 | Micotoxinas | 9 |
| 2.3.1 | Definición. | 9 |
| 2.3.2 | Método de acción. | 9 |
| 2.3.3 | Cantidades permitidas. | 10 |
| 2.3.4 | Factores favorables para el desarrollo de las micotoxinas. | 10 |
| 2.4 | Aflatoxinas | 11 |
| 2.4.1 | Tipos de aflatoxinas. | 12 |
| 2.4.2 | Aflatoxinas B1. | 13 |
| 2.4.3 | Efectos de las Micotoxinas. | 13 |
| 2.5 | Bentonita Sódica | 14 |
| 2.5.1 | Definición. | 14 |
| 2.5.2 | Origen y moléculas. | 14 |
| 2.5.3 | Características. | 15 |

| | | |
|--------------------|--------------------------------------------------------|-----------|
| 2.5.4 | Método de acción..... | 15 |
| 2.5.5 | Dosis..... | 17 |
| 2.5.6 | Método Elisa..... | 17 |
| 3. | MARCO METODOLÓGICO | 19 |
| 3.1 | Ubicación del ensayo | 19 |
| 3.2 | Duración del proyecto | 19 |
| 3.3 | Equipos y Materiales..... | 19 |
| 3.3.1 | Equipos..... | 19 |
| 3.3.2 | Materiales..... | 20 |
| 3.4 | Diseño de la investigación..... | 20 |
| 3.4.1 | Variables..... | 22 |
| 3.4.1.1 | <i>Variables independientes.</i> | 22 |
| 3.4.1.2 | <i>Variables dependientes.</i> | 22 |
| 3.4.2 | Unidades experimentales..... | 22 |
| 3.5 | Análisis de Laboratorio | 25 |
| 3.5.1 | Métodos de detección de las micotoxinas..... | 25 |
| 3.5.2 | Método Elisa..... | 26 |
| 3.5.2.1 | Digestión sustitutiva..... | 26 |
| 3.5.3 | Esquema del experimento..... | 30 |
| 3.5.4 | Definición de las variables de operacionalización..... | 31 |
| 3.5.5 | Procedimiento..... | 35 |
| 4 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 37 |
| 4.1 | Resultados..... | 37 |
| 4.2 | Discusión | 43 |
| 5 | CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 45 |
| 5.1 | Conclusiones | 45 |
| 5.2 | Recomendaciones | 46 |
| REFERENCIAS | | |
| ANEXOS | | |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabla 1. Datos tabulados de límites de cuantificación requeridos para análisis ELISA..... | 28 |
| Tabla 2. Restricciones | 31 |
| Tabla 3. Definición de las variables de operacionalización..... | 32 |
| Tabla 4. Diseño de mezclas de tratamientos | 34 |
| Tabla 5. Indicadores de Calidad Bentonita Sódica | 37 |
| Tabla 6. Tabulados por análisis Bicromático | 38 |
| Tabla 7. Resultado final de simulación programada. | 42 |

ÍNDICE DE GRÁFICOS

| | |
|--------------------------------------------------------------------------|----|
| Gráfico 1. Ubicación del ensayo..... | 19 |
| Gráfico 2. Flujograma proceso de muestreo dirigido..... | 24 |
| Gráfico 3. Flujograma del proceso de digestión simulada..... | 27 |
| Gráfico 4. Flujograma del proceso de análisis de micotoxinas..... | 30 |
| Gráfico 5. Impacto de Bentonita Sódica..... | 39 |
| Gráfico 6. Incidencia Bentonita sódica..... | 40 |
| Gráfico 7. Incidencia de variables ambientales..... | 41 |

RESUMEN

Las micotoxinas, presentes en los alimentos usados por parte de las industrias avícolas, es un importante tema de estudio y una de las mayores preocupaciones, debido a los daños que causa en los animales, a los productores y empresas del sector avícola. Al no existir una técnica eficiente para la eliminación de las aflatoxinas, se evaluó el impacto de la adición de un secuestrante o adsorbente usando como base la bentonita de sodio en la nutrición de pollos preiniciadores, a fin de disminuir la absorción en la ingesta y reducir los efectos de las aflatoxinas. El enfoque investigativo, fue de tipo exploratorio, experimental, descriptivo, cuantitativo y correlacional. Se realizaron dos tipos de experimentos. Se utilizaron 4 alimentos bases sin procesar, y combinándolo cada uno con el producto a base de bentonita sódica, para su posterior análisis. Se simuló una digestión enzimática de aves para la adsorción de las aflatoxinas por parte de la bentonita sódica, y así conocer su efecto a través de un análisis de espectrofotometría. Lo cual, contrarrestaría la capacidad de secuestro de la bentonita en cada uno de los alimentos. Para el segundo tipo de experimento se aplicó la metodología de matrices correlacionales, se realizó una experimentación simulada, se ingresó las restricciones en sus respectivas unidades con los límites, formando una matriz 4 x 24. Se determinó que la dosis sugerida es: 0.0025 % a 0.005 %.

Palabras clave: aflatoxinas, alimento, bentonita sódica, dosis, restricciones, parámetros.

ABSTRACT

Mycotoxins, present in feed used by poultry industries, are an important subject of study and one of the greatest concerns due to the damage they cause to animals, to producers and companies in the poultry sector due to the reduced chicken performance. As there is no efficient technique for the elimination of aflatoxins, the impact of the addition of a sequestrant or adsorbent was evaluated using sodium bentonite as a base in the nutrition of pre-starter chickens, in order to reduce the absorption in the intake and reduce the effects of aflatoxins. The investigative approach was exploratory, experimental, descriptive, quantitative and correlational. Two types of experiments were performed. Four unprocessed food bases were used, and each was combined with the product based on sodium bentonite, for further analysis. An enzymatic digestion of poultry was simulated for the adsorption of aflatoxins by sodium bentonite, and thus to know its effect through a spectrophotometric analysis. Which would counteract the sequestration capacity of bentonite in each of the foods. For the second type of experiment, the methodology of connected matrices was applied, a simulated experimentation was carried out, the restrictions were entered in their respective units with the limits, forming a 4 x 24 matrix. It was determined that the suggested dose is: 0.0025 % to 0.005 %.

Keywords: aflatoxins, food, sodium bentonite, dose, restrictions, parameters, enzymes.

1 INTRODUCCIÓN

La alimentación animal es tema estudiado con frecuencia ya que es muy importante para el buen desarrollo y crecimiento de los animales. El incorrecto suministro de nutrientes puede provocar enfermedades o llegar incluso a causar la muerte. La optimización de la nutrición animal es importante para mantener a los animales saludables y evitar problemas de salud en el futuro.

El consumo de alimentos contaminados con micotoxinas llega a ocasionar perjuicio en la producción o en la salud de los animales. Es por lo que se requiere analizar los componentes y dosificaciones en las formulaciones de los alimentos balanceados para pollos de engorde, porque ayudan a los pollos a mantenerse sanos y a crecer de manera adecuada. Aunque los principales componentes de los alimentos balanceados para pollos de engorde incluyen proteínas, vitaminas, minerales, carbohidratos y grasas.

Siendo, las aflatoxinas; micotoxinas, sustancias producidas por hongos del género *Aspergillus*, contaminantes de los granos utilizados para la fabricación de alimentos para pollos y difundido ampliamente a nivel global, pueden causar enfermedades en animales y humanos. La exposición a las diferentes micotoxinas puede causar enfermedades hepáticas, renales, pulmonares y cardiovasculares, así como cáncer de hígado, enfermedades gastrointestinales, dermatitis, nefritis y daño hepático y enfermedades neurológicas, así como daño hepático y renal.

Debido a esto, se realizó un estudio con el objetivo de evaluar la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxina B1 de *Aspergillus* spp, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores, en la zona norte de Guayaquil.

El estudio de las micotoxinas es importante para poder controlar su presencia en los alimentos y prevenir enfermedades, debido a la magnitud de los efectos que estas pueden ocasionar en el hombre, los animales y también en el ambiente.

Por lo expuesto, el presente Trabajo de Titulación propone los siguientes objetivos:

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo general.

Evaluar la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxina B1 de *Aspergillus spp*, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores en la zona norte de Guayaquil.

1.1.2 Objetivos específicos.

- Analizar la dosis óptima de bentonita sódica en diferentes alimentos balanceados para pollos con cantidades de aflatoxinas B1 presentes, adquiridos en una planta de alimentos en la ciudad de Guayaquil.
- Evaluar la dosis correctiva para control de altas concentraciones, de 50-100 ppb, de aflatoxinas B1 presentes en el alimento balanceado de pollos, almacenado en una planta de alimentos de la ciudad de Guayaquil.
- Determinar el grado de efectividad de la capacidad de secuestro de la bentonita sódica para concentraciones superiores de 100 ppb de aflatoxinas B1.

1.2 Hipótesis

Una dosis óptima de la bentonita sódica tiene un efecto positivo en la tasa de secuestro de las aflatoxinas.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Alimentación Animal

De acuerdo con Caravaca (2006) define la nutrición animal como una rama de la tecnología de cría de animales que involucra todos los aspectos de la investigación destinados a proporcionar suficientes nutrientes para garantizar que el ganado esté en condiciones óptimas. Por lo tanto, la alimentación animal se refiere a los alimentos que se alimentan a los animales para apoyar su vida y crecimiento; estos alimentos incluyen productos vegetales y animales, que pueden o no ser procesados.

Para obtener resultados nutricionales óptimos, la nutrición animal debe analizar y comprender los nutrientes esenciales: energía, proteína, minerales, vitaminas y agua; además de un estudio profundo de los sistemas: digestivo, circulatorio, respiratorio y excretor; responsables de su captación, absorción, sistemas orgánicos de transporte, metabolismo y excreción; los animales anteriores (Tapia, 2010).

La alimentación representa del 65 al 70% de los gastos de una finca, por lo que es un factor muy importante en la producción animal, sin embargo, existen muchos factores que alteran la calidad nutricional y sensorial de los alimentos, lo que se traduce en deficiencias y pérdidas en la producción animal, uno de los que es incluyendo metabolitos tóxicos (micotoxinas) producidos por hongos, un problema de salud mundial (García y Méndez, 2016).

2.1.2 Alimento balanceado.

Los alimentos balanceados se denominan mezclas o alimentos balanceados, son mezclas homogéneas de diferentes tipos de alimentos, formulados en cantidades y proporciones de acuerdo a las necesidades dietéticas y nutricionales de las especies ganaderas durante un período o períodos. Para su formulación se tienen en cuenta las condiciones del

fabricante, información sobre las especies producidas, información del mercado, aspectos legales y éticos (Negrin, 2013).

Dentro de la estructura productiva de esta última cadena, los alimentos balanceados son productos intermedios que sirven de puente entre varios sectores agrícolas: semillas oleaginosas, cereales y cárnicos. Por esta razón en los países con alto nivel de desarrollo hay una fuerte integración entre la producción de cereales forrajeros y la de alimentos balanceados para animales (Yemail, 1998).

2.1.2.1 Alimento balanceado para pollos.

Los alimentos completos o balanceados son productos que se proporcionan a los animales para satisfacer sus necesidades nutricionales y son la única fuente de alimento. En la producción avícola industrial, solo con el manejo de este tipo de alimentos se pueden alcanzar las metas de productividad en el tiempo estipulado. Un alimento balanceado para pollos está diseñado para mantener una actividad metabólica óptima y permitir que estos animales logren sus objetivos de producción. Así, los granos, en especial el maíz y el sorgo, aportan energía; mientras que la harina de soja, y menos comúnmente la harina de subproductos animales, se caracterizan por aportar proteínas y aminoácidos (Parra, 2019).

2.1.2.2 Pollos.

El pollo Cobb-500 es el más popular entre los criadores de pollos de engorde. Se ha estado desarrollando por más de 30 años, seleccionando más de 35 características para adaptarse a una amplia gama de demanda de los clientes. Su excepcional uniformidad y la capacidad de prosperar en un costo menor de nutrición (Falcones, 2009).

Hace unos años, las empresas dedicaron mucho tiempo y esfuerzo a intentar optimizar el uso de preiniciadores en los programas de alimentación de pollos de engorde. El objetivo final de estos esfuerzos es, ante todo,

mejorar el peso corporal final de las aves, ya que se cree que la ganancia de peso corporal inicial está directamente relacionada con la mejora del peso corporal final y, por lo tanto, con los datos generales de producción (Clos, s.f.).

2.1.2.3 Sistema digestivo

El aparato digestivo de un ave se puede definir como un conjunto de glándulas y órganos auxiliares encargados de realizar las actividades de digerir los alimentos, convertirlos en nutrientes asimilables, y con ello distribuir estas sustancias a través de la sangre a todos los tejidos del cuerpo del ave; ya que la diversidad de las aves y sus diferentes hábitos alimenticios, el aparato digestivo de las aves es variable, tienen un aparato digestivo más ligero o incluso más pequeño en comparación con otros animales como los mamíferos, por lo que se ha adaptado a aquellas especies que favorecen el vuelo (Marulanda, 2017).

2.1.3 Micotoxicosis en pollo.

Se pueden encontrar diferentes tipos de alteraciones, como deformidades, asperezas y anomalías, estas pueden surgir por procesos genéticos o patológicos en la gallina. Ciertos tipos de gallinas ponedoras tienen dificultad para calcificarse al final del ciclo, cáscaras anormales durante la puesta y ciertas enfermedades que provocan alteraciones, como la enfermedad de Newcastle, la bronquitis infecciosa y la laringotraqueítis (Campos, 2010).

Otros tipos de alteraciones pueden ser huevos con cáscaras porosas, delgadas o blandas lo cual es producido por deficiencias de calcio, fósforo, magnesio u otros micro minerales (Rey, 2008).

2.2 Hongos de campo

2.2.2 Definición.

Invaden la semilla en formación, actúan desde la floración hasta la cosecha. Pueden ser patógenos o saprofitos, requieren alta humedad para

prosperar y por lo tanto su actividad queda detenida en el almacenaje. Van muriendo gradualmente durante el almacenaje, si bien pueden sobrevivir durante años en condiciones frescas y secas (Umaña Cerros, 2021).

2.2.2 Principales hongos productores.

2.2.2.1 *Fusarium.*

Es un hongo dematiáceo, crecen con rapidez y muestran una morfología aplanada algodonosa a lanosa que tiende a extenderse con una coloración verde azulada, roja, violácea. Este proviene de los hongos de campos la semilla, aparece con una incidencia variable (Barajas, 2018).

2.2.2.2 *Aspergillus.*

El género *Aspergillus* comprende alrededor de 180 especies, son hongos filamentosos, hialinos y ubicuos. En estos hongos se ha descubierto su fase de reproducción sexual y se ubican dentro de la división *Ascomycota*, los hongos de este género tienen gran potencial biótico y son degradadores activos del material orgánico y en consecuencia muy útiles en la ecología del planeta (Rueda, 2006).

2.2.2.3 *Penicillum.*

Es un hongo filamentosos hialino, saprófito perteneciente al filo *Ascomycota*. Macroscópicamente las colonias son normalmente de crecimiento rápido; al principio de color blanco y con el tiempo adquieren color azul, azul verdoso, verde, gris oliva o tonos rosados, con reverso amarillo cremoso (Agahi, 2021).

2.2.3 *Aspergillus*: Familias principales.

2.2.3.1 *Aspergillus niger*.

Las colonias se desarrollan con rapidez, transformándose en colonias planas, granulosas, negras e ilimitadas; al reverso no presentan pigmento (Gonzales, 2019).

2.2.3.2 *Aspergillus fumigatus*.

Aspergillus fumigatus es un hongo filamentoso hialino, saprofito, perteneciente al filo *Ascomycota*. Se encuentra formado por hifas hialinas tabicadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (INSST, 2021).

2.2.3.3 *Aspergillus flavus*.

Crece en los medios de cultivo ordinarios como Sabouraud y PDA a 28°C; las colonias se desarrollan con rapidez de 3 a 5 días: son ilimitadas, polvosas o aterciopeladas, de color verde amarillento (Vázquez, 2017).

Para Bogantes (2004), las condiciones óptimas en los niveles y frecuencias máximas se presentan en las regiones tropicales encontradas entre las latitudes 22 grados Norte y 22 grados Sur; mientras que en regiones semitropicales se suele clasificar entre los climas templados en donde el clima favorece el crecimiento de los hongos productores de aflatoxinas, puede haber contaminación de los alimentos provenientes de zonas templadas, ya que el *Aspergillus flavus* está distribuido universalmente y alimentos contaminados han sido detectados en todo el mundo.

2.3 Micotoxinas

2.3.1 Definición.

Son compuestos químicos de bajo peso molecular, producidos por hongos, que tienen efectos patológicos tanto en humanos como en animales. Las micotoxinas llegan a afectar sistemas específicos de los organismos, pero generalmente dañan el hígado o los riñones, por lo que alteran los procesos metabólicos del animal, produciendo condiciones adversas que llevan a efectos como hígado icterico, agrandado y friable, inflamación de riñones, lesiones orales, disminución de la respuesta inmunológica, mala absorción de nutrientes, reducción del crecimiento, alteración de la fertilidad entre otros (Lara, 2003).

La seguridad o inocuidad de los alimentos es un aspecto prioritario no sólo para las administraciones públicas, sino también y sobre todo, para la industria alimentaria. En este sentido, conviene recordar que la generación de episodios de inseguridad es incompatible con la rentabilidad de una industria a largo plazo (Ayala, 2007).

2.3.2 Método de acción.

El mecanismo de su acción tóxica involucra la formación de un ligando entre uno de sus metabolitos (producido en el hígado después de la ingestión de la toxina) y el ADN del hepatocito, lo que resulta en una replicación alterada (Wild CP, 2002).

En cuanto a los ácidos nucleicos, existen dos tipos de interacciones: no covalentes, débiles y reversibles, por otro lado, la otra es covalente, irreversible, que requiere activación metabólica por un sistema enzimático. Muchos de los efectos cancerígenos y mutagénicos de las aflatoxinas y otras sustancias estructuralmente similares están asociados con las micotoxinas metabólicamente activadas (Perusia y Rodríguez, 2021).

2.3.3 Cantidades permitidas.

En alimentos de uso animal la FDA establece niveles de 20 ppb para todos los alimentos de uso en vacas lecheras y animales inmaduros. La mezcla de alimentos contaminados con otros libres de contaminación, como una forma de disminuir la concentración de Aflatoxinas no está permitida (Salazar, 2010).

2.3.4 Factores favorables para el desarrollo de las micotoxinas.

- **Factores Físicos:** los niveles de temperatura y humedad son factores determinantes para el crecimiento de los hongos y la subsiguiente producción de micotoxinas, el clima juega un papel clave en el desarrollo de las mismas (Mayer, 2016).
- **Temperatura:** es un factor muy importante a la hora de hablar de crecimiento fúngico, sin embargo, este parámetro es menos restrictivo que la humedad con relación al desarrollo fúngico y a la producción de micotoxinas, así mismo, para la producción de las aflatoxinas, estas se desarrollan bajo las siguientes condiciones térmicas: 12 ° C como temperatura mínima y 40 - 42 ° C como máxima (Dix y Webster, 2005).
- **Disponibilidad del agua:** la cantidad de agua del sustrato o del ambiente de producción y/o de almacenamiento, es un parámetro muy importante a tener en cuenta al analizar las condiciones que favorecen el crecimiento fúngico. Sin embargo, no solo influye la cantidad de agua sino también la forma de presentación en la que está se encuentra, si combinada o libre (Lacey J y Megan N, 2001).
- **Tiempo de almacenamiento:** debido al deterioro de las materias primas y del alimento en general, aumenta el contagio, el desarrollo de los hongos y bacterias, y por ende la producción de micotoxinas. Hay que tener como referencia que, el porcentaje de humedad relativa es de 80 a 90 % aproximadamente (Mionetto Cabrera, 2017).

- **Ventilación o aireación:** el flujo de aire creado entre los espacios intercrystalinos ayuda a mantener los niveles correctos de temperatura e higrometría, de esta manera evita que el sustrato se sobrecaliente. Por esta razón, es importante utilizar siempre granos y semillas limpios, sin triturar y libres de polvo, almidón u otros materiales pulverulentos que bloquearían e interferirían con el flujo de aire a través de las cavidades creadas entre los granos (Fiama Aihelen, 2021).
- **Factores biológicos:** atacan los granos, destruyendo las cáscaras, liberando de esta forma almidón, a su vez grasa y diversos nutrientes de los granos, junto con semillas como el alimento para los hongos. Además, su presencia y metabolismo aumentan la humedad y la temperatura del sustrato, favoreciendo esta manera el crecimiento de hongos y la producción de sustancias tóxicas (Gimeno, 2011).

En base al daño que ocasionan, se han agrupado en especies primarias, secundarias y terciarias: las especies primarias, son capaces de dañar granos enteros y tienen gran importancia económica, mientras que las especies secundarias, son aquellas que atacan granos partidos o que previamente han sido dañados por las primarias y se multiplican con facilidad en los productos obtenidos de la molienda de granos. Por último, las especies terciarias se multiplican en granos y productos en avanzado estado de deterioración causado por otros insectos o por otros microorganismos (Velázquez, 2010).

Aunque con mucha frecuencia, se encuentran las micotoxinas producidas por hongos del género *Aspergillus*, la sumatoria de las micotoxinas en los frutos secos, es una suma de 20 ppb (ELIKA, 2013).

2.4 Aflatoxinas

Las aflatoxinas (AFs), son inoloras, insípidas e incoloras químicamente, son estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo

procedimientos de cocción normales siendo difícil eliminarlas una vez que se producen (Soriano, 2007).

Según García y Mendez (2016), el crecimiento de *Aspergillus* por aflatoxinas, llegan a ser el resultado entre hongo, huésped y medio ambiente; considerando que, la interacción entre los tres factores determina la penetración y la colonización del sustrato, así como el tipo y cantidad de aflatoxinas producida.

La mayoría de AFs son poco solubles en agua, pudiendo ser extraídas con solventes orgánicos moderadamente polares; cuando se encuentran en estado puro en forma cristalina son termorresistentes, sus puntos de fusión alcanzan temperaturas superiores a 250 °C y rangos de aflatoxinas 9 pH entre 3 y 10 (Abbas, 2009). Aunque los niveles y frecuencias máximas se presentan en las regiones tropicales y semitropicales, en donde el clima favorece el crecimiento de los hongos productores de aflatoxinas, puede haber contaminación de los alimentos provenientes de zonas templadas. Para el desarrollo de aflatoxinas, se requieren de límites térmicos como, 12 ° C en referencia al mínimo y 40 - 42 ° C temperatura máxima (Bogantes-Ledezma, 2004).

La aflatoxina B1 (AFB1) tiene el mayor potencial y actividad oncogénica dañando diversos órganos. La aflatoxina B2 es similar a la B1 excepto que el primer anillo de furano está saturado; de igual forma sigue siendo cancerígena, pero menos tóxica y más común que el B1. Se han realizado diversos estudios en los que demuestra que ambos son cancerígenos en diferentes especies, como distintos mamíferos (Wogan, Edwards, y Newberne, 1971).

2.4.1 Tipos de aflatoxinas.

Existen aproximadamente, 18 tipos de aflatoxinas de las cuales la más tóxica es la aflatoxina B1 (AFB1) y la aflatoxina M1 (AFM1) (siendo ésta un

derivado metabólico de la aflatoxina B1). Siguen después en orden de mayor a menor toxicidad, las aflatoxinas G1 (AFG1), M2 (AFM2), B2 (AFB2) y G2 (AFG2) (siendo la aflatoxina M2, un derivado metabólico de la aflatoxina B2) (Martínez, 2013).

2.4.2 Aflatoxinas B1.

Es un compuesto altamente tóxico para la mayoría de las especies animales además que pertenece al conjunto de micotoxinas de importancia en salud pública, ya que es considerada por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) como evidente cancerígena en animales de experimentación y también en humanos (Martínez, 2013).

2.4.3 Efectos de las Micotoxinas.

Según Del Río García y Méndez Albores (2016), existen una serie de factores que modifican la calidad nutritiva de los alimentos reflejando las deficiencias y pérdidas en la producción animal. Entre estos factores, se encuentran la presencia de metabolitos tóxicos producidos por hongos (micotoxinas), lo que se ha vuelto un problema sanitario a escala mundial.

Siendo entre esta gran variedad, alrededor de 100 000 especies de hongos, 400 son considerados potencialmente tóxicos ya identificados los principales *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium*.

En los animales, las micotoxinas provocan:

- Los animales rechazan la comida debido a características sensoriales alteradas.
- Tasa reducida de metabolismo de nutrientes en animales debido a la falta de nutrición y energía.

- Cultivo de hongos en animales con enfermedades y problemas causados por diferentes géneros de hongos como *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus*, *A. nidulans*, *A. Níger* (Del Río García, 2016).

2.5 Bentonita Sódica

2.5.1 Definición.

Es una arcilla natural o industrial que pertenece a los minerales no metálicos (*montmorillonite*), es un silicato de aluminio, magnesio, sodio, calcio con estructuras laminar, la cual es capaz de absorber agua interandinamente, esta capacidad de absorción es una propiedad determinante para sus funciones como aglomerantes y como formador de capas impermeables. Esta propiedad permite en fundición utilizar menor cantidad de agua para la mezcla de arenas y otros aditivos, además de incrementar tanto la resistencia en verde como en seco (Gutiérrez, 2017).

Tapia (2010), en su estudio manifiesta que el impacto del efecto secuestrante de la bentonita sódica, como contraste con las dosis suministradas en el alimento, la bentonita en dietas para aves contaminadas en un rango de 110 y 200 µg/kg de aflatoxinas podrían contrarrestar los efectos negativos ocasionados por esta micotoxina y con crecimientos equivalentes a la dieta de control implementada.

2.5.2 Origen y moléculas.

En 1888 en que fueron descubiertas y clasificadas como tales en FortBenton, Wyoming. U.S.A., a causa de una bentonita que poseía propiedades muy especiales, particularmente la de expandirse en el agua dando una masa voluminosa y gelatinosa. Las bentonitas son también llamadas arcillas activadas debido a su afinidad. Las bentonitas se empezaron a utilizar para este fin en Europa en los años 50, y se desarrolló más tarde en Estados Unidos. Se utiliza para cementar fisuras y grietas de rocas, absorbiendo la humedad para impedir que esta produzca derrumbamiento de túneles o excavaciones, para impermeabilizar trincheras, estabilización de

charcas, etc. Para que puedan ser utilizadas han de estar dotadas de un marcado carácter tixotrópico, viscosidad, alta capacidad de hinchamiento y buena dispensabilidad (Bradanic, 2007).

2.5.3 Características.

La característica principal de la bentonita es su capacidad de expandirse formando geles. Tixotrópicos (geles que reversiblemente se vuelven líquidos cuando se agitan). Ellos existen dos tipos principales de bentonita: sodio y calcio. El sodio es más expansivo y tiene menos conductividad hidráulica que el calcio, por lo que es ampliamente utilizado en el sellado e impermeabilización. Sin embargo, la bentonita cálcica es más estable químicamente si se expone a compuestos (Maldonado Rosero, 2015).

Además, la bentonita tiene textura viscosa y pegajosa, su sustancia se encuentra en la tierra en forma de polvo, se usa como una sustancia absorbente, y se cree que posee propiedades curativas, se usa comúnmente en productos para el cuidado de la piel, y también se usa en la industria farmacéutica y cosmética y también se usa como una sustancia absorbente, y se cree que posee propiedades curativas (Bradanic, 2007).

2.5.4 Método de acción.

Teniendo en cuenta a Ahonen (2008), define y explica los diferentes tipos de métodos de acción de bentonita sódica:

- ***Difracción de Rayos X (XRD)***: es un método para identificar fases cristalinas en el mineral, basándose en la difracción de una longitud de onda corta, de radiación electromagnética en la superficie regular de la estructura cristalina (Ahonen, 2008).
- ***Espectroscopía infrarroja (IR – S)***: está basada en la absorción de radiaciones infrarrojas por parte de los enlaces químicos, y está asociada con el cambio permanente del momento dipolar. En la espectroscopía infrarroja convencional el rango de longitud de onda se

escanea con el cambio de radiación monocromática electromagnética, y la absorción es medida en función de la longitud de onda (Connor, 2019).

- **Microscopía electrónica de barrido (MEB):** este método produce imágenes de alta resolución, incluso de pequeñas partículas, estas usualmente no pueden ser observadas en el microscopio convencional; el haz de electrones puede ser enfocado en áreas de escala manométrica para la superficie estudiada; el haz de electrones bombardeado emite poca energía o electrones secundarios, lo cual resulta en imágenes bien definidas de apariencia tridimensional, los electrones retro dispersados tienen alta energía y dan como resultado los reflejos y variaciones en la composición química del material (Andes, 2019).
- **Espectroscopia de fluorescencia de rayos X (XRF):** este método frecuentemente usado; el análisis está basado en la radiación de los rayos X característica de cada elemento, y como en los métodos micro analíticos el análisis de la radiación puede ser basado ya sea en el detector de energía dispersa, como en el detector de longitud de onda dispersa, usando la difracción de Braggs; este detector provee infalible y uniformemente la detección de elementos más pesados que el flúor. El método es muy conveniente para el análisis de bentonita, aunque el contenido de agua y carbón debe ser analizado por otros métodos (Torres, 2005).
- **Capacidad de intercambio catiónico (CIC):** es el resultado del desequilibrio de las cargas eléctricas debido a las sustituciones isomórficas y puede influenciar fuertemente en determinadas propiedades fisicoquímicas y tecnológicas de las arcillas. La capacidad de intercambio catiónico se mide en miliequivalentes por gramo (meq/g), o más frecuentemente por 100 g (meq/100 g) de arcilla. Finalmente, los métodos más empleados para la determinación del CIC son: método Chapmans con la absorción del acetato de amonio,

método Gillman con la extracción del cloruro de bario y método del azul de metileno, con la adsorción de azul de metileno (Galeano, 2011).

2.5.5 Dosis.

Varias bentonitas, suelen mejorar el porcentaje de cambio en vacas y aves de corral, llegando a darles la capacidad de aumentar la producción; tanto de leche y huevos, por lo general posterior a mejorar el efecto de las micotoxinas, como con la Vitamina A por ejemplo. Dependiendo del tipo de alimento, por ejemplo, con el trigo se puede adicionar más bentonita en rumiantes, así ayudando a reducir los problemas de acidosis rumial (Torres, 2005).

Existe evidencia, la cual demuestra que el impacto de la dosis óptima de bentonita sódica para las aves de corral al combinarlo en diferentes proporciones con el alimento suministrado repercute con un efecto de la disminución notoria de las aflatoxinas B1 (Caravaca, 2006).

En EEUU, en los años setenta, un 5 % de los piensos industriales incorporaban bentonita. Posteriormente, se redujo el máximo de inclusión recomendado hasta un 2,5 % y en la actualidad se recomienda seguir un control estricto o se prohíbe su utilización debido a problemas de contaminaciones (Rodríguez, 2008).

En ponedoras, indica que con piensos isoenergéticos e isoproteicos se observa una respuesta positiva sobre el peso de las gallinas el primer día de puesta y, sin embargo, una reducción de la producción de huevos y un aumento del índice de conversión aumentando el consumo con la bentonita sódica (Southern, Ward, Biedner, y Hebert, 2004).

2.5.6 Método Elisa.

La producción de anticuerpos monoclonales y policlonales contra las fumonisinas ha permitido el desarrollo de inmunoensayos enzimáticos o

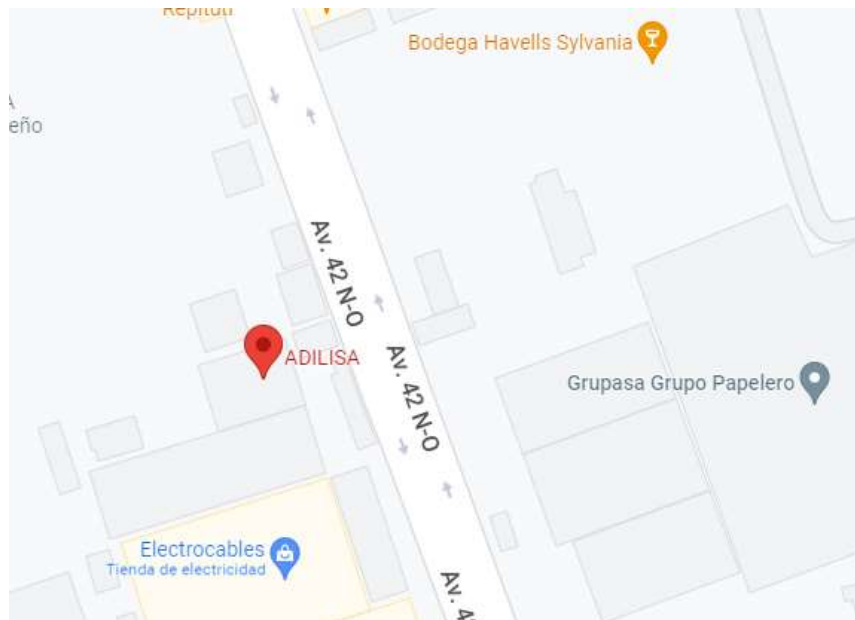
ELISA. Pueden competir directa e indirectamente por las toxinas en los alimentos, los tejidos animales y los cultivos de hongos. Este es un método rápido que no requiere el uso de columnas de purificación y estos kits son portátiles y fáciles de usar, sin embargo, el problema con este método es que tiende a sobrestimar el contenido de fumonisinas, especialmente en las muestras más contaminadas en comparación con HPLC. o GC-MS (Maldonado, 2020).

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Ubicación del ensayo

El presente trabajo se realizó en la empresa especializada Adilisa S.A., ubicada en la ciudad de Guayaquil, vía Daule -2.1021410835708063 L, -79.94057342333925 F, en la cual fabrican y comercializan productos de uso veterinario, además de aditivos y productos nutricionales para uso en industrias procesadoras de alimentos para consumo humano y/o animal.

Gráfico 1. Ubicación del ensayo.



Fuente: Google Maps

3.2 Duración del proyecto

El proyecto tuvo una duración de 7 semanas entre julio y agosto del año 2022.

3.3 Equipos y Materiales.

3.3.1 Equipos.

- Molino Foss

- Equipo NIR´s
- Balanza
- Agitador
- Lector de micropocillos
- Pipeteador digital de 100 μ L

3.3.2 Materiales.

- Mandil
- Guantes
- Mascarilla kn95
- Pipetas graduadas
- Maíz en grano como alimento para pollos
- Alimento balanceado para pollos preiniciadores
- Aditivo nutricional a base de bentonita sódica
- Metanol al 70 %
- Vasos de precipitación con capacidad de 250 ml
- Papel Filtro
- Agujas para pipeteador de 100 μ L
- Kit para detección de micotoxinas Aflatoxinas
- Recipientes de vidrio (Vaso precipitado, cristalizadores)
- Termómetro de laboratorio
- Ácido clorhídrico
- Enzima Pepsina
- Pancreatina (amilasa, lipasa, proteasa)

3.4 Diseño de la investigación.

La investigación fue de tipo exploratorio, experimental, descriptivo, cuantitativo y correlacional; en donde se trabajó con variables que permitieron establecer las cantidades óptimas de bentonita sódica, las cuales fueron utilizadas de manera preventiva y correctiva para control de aflatoxina B1 en muestras de balanceado para pollos preiniciadores.

La comparativa entre los elementos, permitió conocer la dosis más indicada de bentonita sódica para reducir el impacto de las aflatoxinas en el organismo de los ejemplares.

Los factores que se utilizaron para la realización del experimento fueron:

- A: Aflatoxina B1
- B: Bentonita Sódica
- C: Temperatura
- D: Humedad

De acuerdo con estos factores, se planteó la siguiente distribución con el modelo matemático con las unidades experimentales para la obtención de la variable respuesta reducida de ppb:

Las unidades experimentales se distribuyeron bajo el siguiente modelo matemático basado en lo anteriormente explicado:

$$Y_{ijklm} = u + A_i + B_j + C_k + D_m + AB_{ij} + AC_{ik} + AD_{im} + BC_{jk} + BD_{jm} + CD_{km} + EE_{ijklmn}$$

Donde:

Y_{ijklm} : valor de parámetro de determinación

u: unidad

A_i : efecto de la cantidad de aflatoxina B1.

B_j : efecto de la cantidad de bentonita sódica.

C_k : Efecto de grado de temperatura.

D_m : Efecto de porcentaje de humedad.

AB_{ij} : Efecto de cantidad de aflatoxina B1 + bentonita sódica.

AC_{ik} : Efecto de cantidad de aflatoxina B1 + grado de temperatura.

AD_{im} : Efecto de cantidad de aflatoxina B1 + porcentaje de humedad.

BC_{jk} : Efecto de cantidad de bentonita sódica + grado de temperatura.

BDjm: Efecto de cantidad de bentonita sódica + porcentaje de humedad.

CDkm: Efecto de grado de temperatura + porcentaje de humedad.

EEijkmn: Efecto del error.

Elaborado por: La Autora

3.4.1 Variables.

3.4.1.1 Variables independientes.

- Dosis de bentonita sódica
- Alimento balanceado para pollos preiniciadores
- Temperatura
- Humedad

3.4.1.2 Variables dependientes.

- Total ppb de aflatoxinas B1

3.4.2 Unidades experimentales.

Para el presente estudio se seleccionó 250 g de 4 tipos de alimentos (Anexo 3) para pollos preiniciadores, se contrarrestó el impacto del secuestro de la bentonita sódica sobre las aflatoxinas en dos alimentos no convencionales (maíz en grano y trigo) y dos tipos de balanceados en pellet los cuales, fueron adquiridos en la empresa ubicada en el norte de la ciudad de Guayaquil.

Así mismo, para calcular la variabilidad de la presencia de las aflatoxinas en el organismo de los ejemplares (pollos cobb), se seleccionó un tipo de aditivo nutricional, el cual fue adquirido en la empresa mencionada anteriormente.

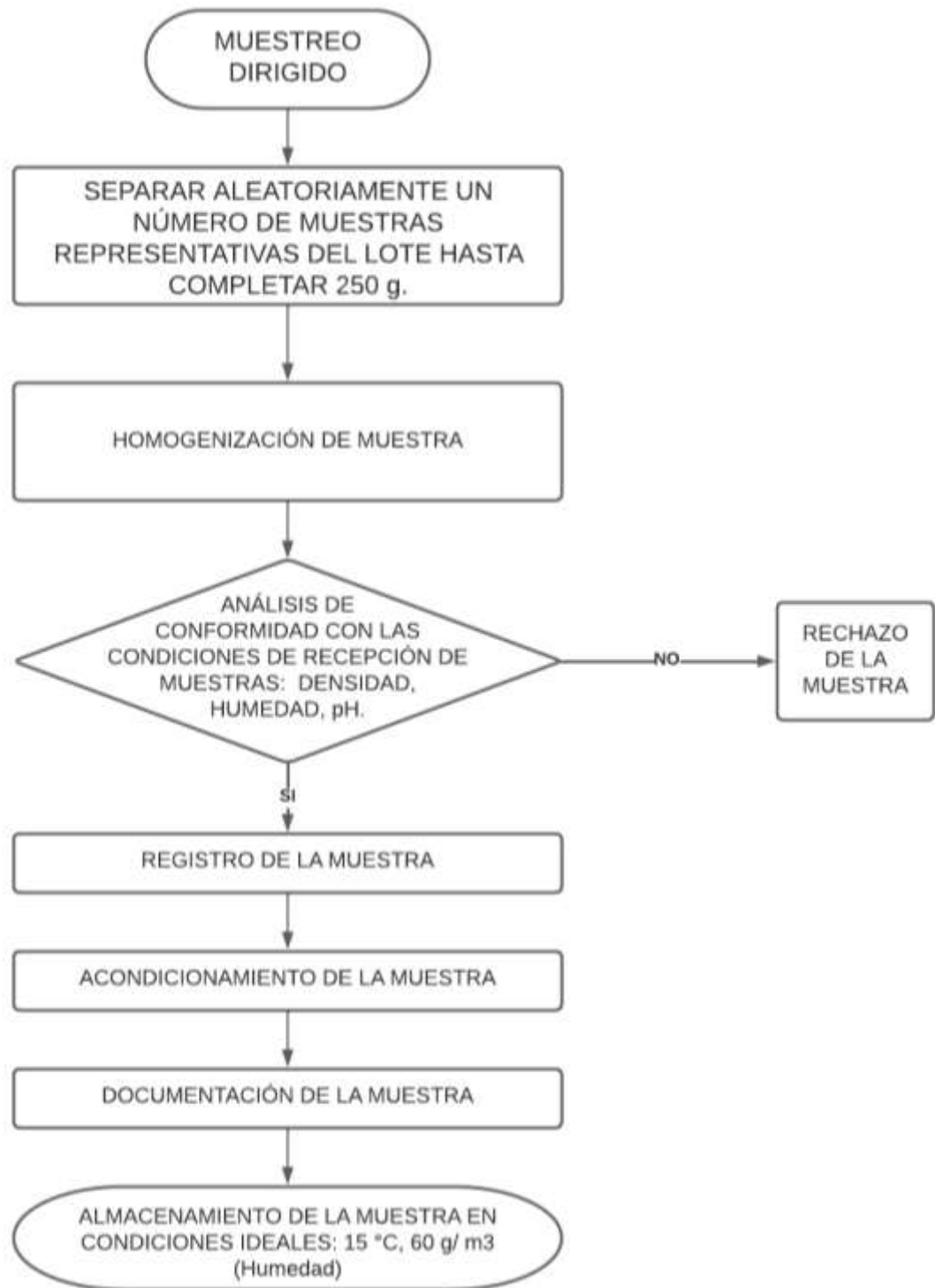
En donde se utilizaron 4 alimentos bases (Maíz, Trigo Balanceado 1 y Balanceado 2), siendo estas las muestras utilizadas para un posterior análisis, se realizó el proceso de toma de muestras respetando los protocolos y

técnicas de muestreo aceptadas; el muestreo fue de tipo dirigido; el cual consiste en separar aleatoriamente una cantidad de cada empaque (o seleccionados aleatoriamente) formando así una muestra representativa de un total de 250 g en total de todo el lote, se procede a homogenizar (sacudiendo delicadamente) y posteriormente se valida la calidad del producto analizando: el nivel de pH, el porcentaje de humedad y su densidad.

Si no aprueba dichos límites, se rechaza; habiendo aprobado los límites de cualificación, se procede a registrarla, acondicionarla de forma adecuada colocándola en un recipiente o empaque esterilizado y que se selle sin filtración de fluidos externos y colocándole un rótulo con sus respectivos datos (Fecha de registro, Nombre producto, Número de Lote, Fecha de caducidad y datos de los resultados obtenidos de análisis). Posteriormente se almacena en las condiciones ideales preestablecidas y recomendadas por el fabricante (en el caso de los balanceados; no superior a los 30 °C, ni superando el 80 % de humedad).

En el **Gráfico 2** se muestra el flujograma del muestreo dirigido.

Gráfico 2. Flujoograma proceso de muestreo dirigido.



Elaborado por: La Autora

3.5 Análisis de Laboratorio

3.5.1 Métodos de detección de las micotoxinas.

Para conocer el impacto de la bentonita sódica sobre las aflatoxinas presentes en los alimentos de aves de corral, se procedió a realizar de forma experimental práctica la investigación; por medio de una simulación programada gracias a un programa, que al ingresar datos estandarizados de límites de cuantificación y condiciones ideales, determina de forma aleatoria, las cantidades tanto de presencia de aflatoxinas, como del efecto de secuestro que llega a tener la bentonita debido a las condiciones ambientales.

Para ello, se trabajó bajo estándares de metodología ya determinados; el muestreo de los alimentos con los que se trabajó fue dirigido, es decir, se tomó una muestra representativa de cada empaque de un mismo lote hasta completar los 250 g homogenizamos la muestra con agitación manual, se verificó el estado de los productos con un análisis organoléptico, lo que nos permitió confirmar las óptimas condiciones del estado del alimento y de esta forma se procedió a realizar análisis fisicoquímicos de forma regular; densidad y humedad y pH.

Al confirmar el correcto estado, se documentó, los acondicionamos en empaques esterilizados y se procedió a almacenar; el día de la experimentación se molió y se tamizó en malla 20 (840 micrones) para simular la trituración de los alimentos en los animales.

El proceso de digestión sustitutiva se realizó con los elementos principales como son el ácido clorhídrico y las enzimas que sintetizan los alimentos de forma más representativa, siendo las mismas que permiten el intercambio iónico para el efecto secuestrante de la bentonita sobre las aflatoxinas.

En tal sentido, los métodos de detección de micotoxinas son muy precisos y pudieron detectar la presencia de micotoxinas en muestras

pequeñas, igualmente estos métodos eran muy sensibles y pudieron detectar la presencia de micotoxinas en concentraciones muy bajas.

3.5.2 Método Elisa.

Para conocer el impacto y efecto de secuestro del producto a base de bentonita sódica sobre la aflatoxina, es necesario realizar una lectura de la cantidad de aflatoxinas presentes en los alimentos luego de la ingesta de los animales, antes de ser expuestos a la bentonita y después de la exposición.

3.5.2.1 Digestión sustitutiva.

Para simular una digestión de ave de corral se procedió a pesar 10 gramos de cada una de las muestras de alimentos (maíz, trigo, balanceado 1, balanceado 2). Posteriormente se procedió a moler cada una de las muestras ya pesadas anteriormente, habiendo antes realizado un flasheo previo de la turbina de molino, en cada pausa al moler cada muestra. Se pesó 5 gramos de la muestra ya molida individualmente, en el caso de las muestras que se mezclaran con bentonita sódica se procedió a pesar 2.5 gramos del alimento y combinarlo con 2.5 gramos de la bentonita sódica.

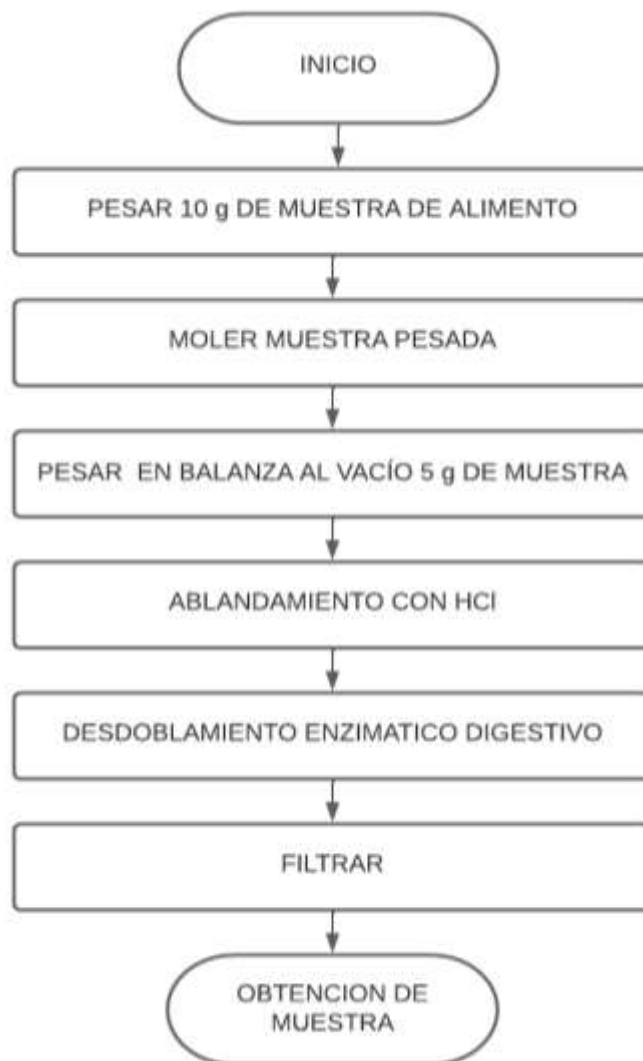
Posteriormente se procedió al ablandamiento con base de ácido clorhídrico; se inició con una mezcla en un vaso de precipitación de 25 ml de ácido clorhídrico y los 5 gramos previamente pesados del alimento en el caso de la muestra libre y los 2.5 gramos de alimento más los 2.5 gramos de bentonita sódica combinados. Se agitó a 27 grados centígrados en un agitador mecánico la mezcla por un lapso de 10 minutos.

Se procedió con el desdoblamiento enzimático, combinando la mezcla previamente agitada más 0.5 gramos de enzima proteasa más 0.5 gramos de enzima pancreática por un lapso de 30 minutos a 27 grados centígrados en un agitador mecánico.

Se realizó la extracción de la muestra por medio del método de filtración usando papel filtro N° 1.

En el **Gráfico 3** se presenta el flujo de proceso de digestión sustitutiva.

Gráfico 3. Flujograma del proceso de digestión simulada.



Elaborado por: La Autora

3.5.2.2 Análisis Bicromático.

Para iniciar con la lectura del resultado del análisis bicromático, se comenzó pesando 5 gramos de la muestra obtenida de la digestión simulada mezclado con 25 ml de metanol al 70 % en un vaso de precipitación. Eso se agitó durante 3 minutos mecánicamente en un agitador mecánico y se vertió 5 ml de la mezcla en filtro N° 1.

Las condiciones ambientales, fueron ajustadas a ideales para realizar los análisis sugeridos y el proceso de los resultados presuntos. En la Tabla 1 presentamos los parámetros con los que se trabajó para un óptimo resultado.

Tabla 1. Datos tabulados de límites de cuantificación requeridos para análisis ELISA

| ALIMENTO | AC / AFB | BENTONITA | TEMPERATURA | HUMEDAD |
|-------------------------|---------------------|------------------|--------------------|----------------|
| Maíz | 0.139 | 0 | 15 | 60 |
| Trigo | 0.309 | 0 | 15 | 60 |
| Balanceado 1 | 0.323 | 0 | 15 | 60 |
| Balanceado 2 | 0.3 | 0 | 15 | 60 |
| Maíz | 0.289 | 2.5 | 15 | 60 |
| Trigo | 0.293 | 2.5 | 15 | 60 |
| Balanceado 1 | 0.292 | 2.5 | 15 | 60 |
| Balanceado 2 | 0.288 | 2.5 | 15 | 60 |

Elaborado por: La Autora

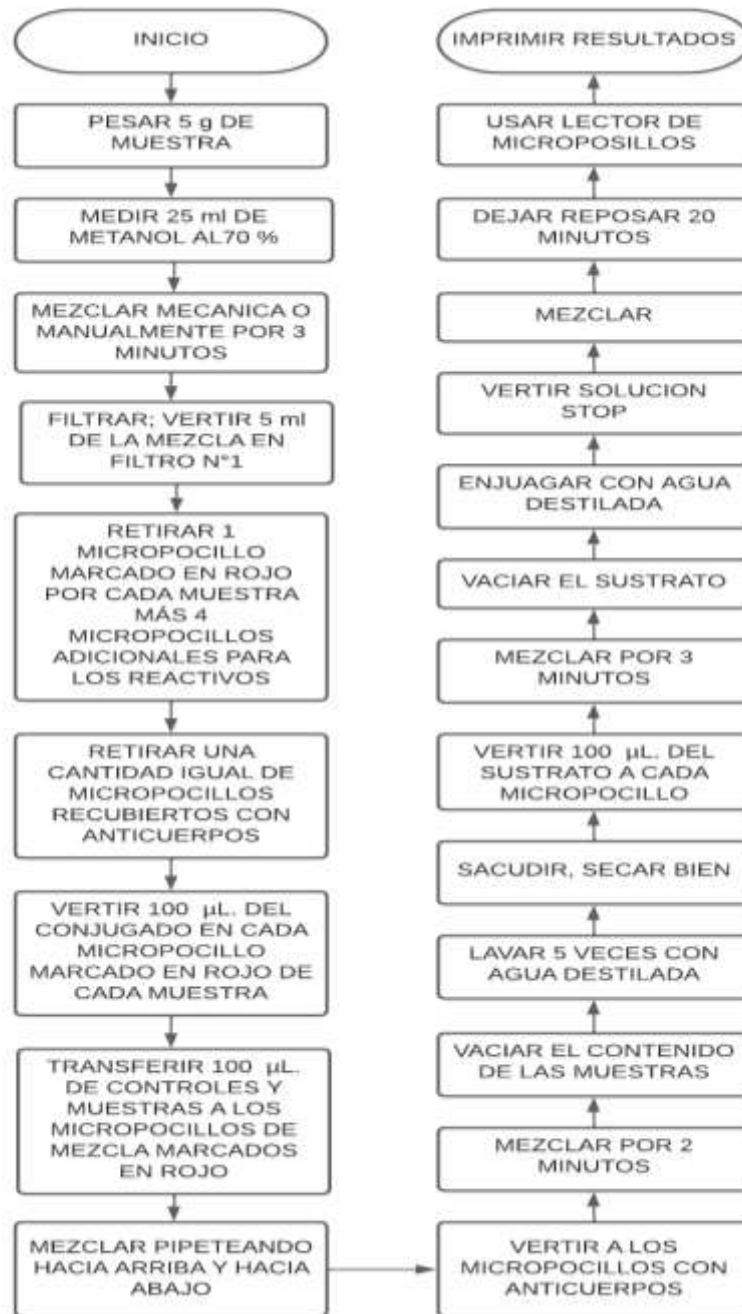
Del Kit para el análisis de aflatoxinas presente en alimentos, se retira un micropocillo marcado en rojo por cada muestra y adicionalmente 4 micropocillo para los reactivos. En este caso fue un total de 12 micropocillos;

se retiró una cantidad igual de micropocillo recubiertos con anticuerpos, se vertió 100 μL en cada micropocillo marcado en rojo en cada muestra, realizando el siguiente procedimiento:

- Se transfirió 100 μL de controles y muestras a los micropocillos marcados en rojo, se mezcló pipeteando hacia arriba y hacia abajo las mezclas de cada micropocillos, alternando las puntas pipeteadoras entre cada muestra, llevando esta mezcla a los micropocillos con anticuerpos y mezclando durante 2 minutos.
- Se vació el contenido de las muestras de los micropocillos.
- Se procedió a lavar por 5 veces con agua destilada, ágilmente, evitando que se mezclen entre sí, sacudiendo, y dejando secar bien.
- Se vertió 100 μL del sustrato a cada micropocillo, mezclando por 3 minutos, procediendo a vaciar el sustrato.
- Se enjuagó con agua destilada, dejando secar bien, vertiendo la solución Stop, mezclando reiteradamente con las microagujas intercambiándolas entre cada muestra.
- Se esperó durante 20 minutos para posteriormente correrlo en el sistema lector Bicromático, finalmente, se imprimió el resultado.

A continuación, en el **Gráfico 4**, se muestra flujograma del proceso para poder realizar la lectura del análisis Bicromático.

Gráfico 4. Flujoograma del proceso de análisis de micotoxinas.



Elaborado por: La Autora

3.5.3 Esquema del experimento.

El presente estudio fue realizado bajo las restricciones que se presentan en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Restricciones

| | Nombre | Unidades | Mínimo | Máximo |
|---|---------------|-----------------|---------------|---------------|
| A | Aflatoxina B1 | ppb | 0 | 125 |
| B | Bentonita | g | 0 | 20 |
| C | Temperatura | °C | 15 | 30 |
| D | Humedad | % | 60 | 80 |

Elaborado por: La Autora

Las restricciones utilizadas delimitan los límites de cuantificación de las diferentes variables que van a definir el estado del alimento (porcentaje de aflatoxinas presente) o de la eficiencia de la bentonita sódica, dentro del rango permitido la cual se basa en las respectivas unidades para calcular, cabe recalcar, éstas son variables aceptadas teóricamente.

Lo que se buscó es corroborar la valencia de éstas límites de cualificación a través de la relación matemática antes presentada, automatizado dentro del programa *Design Expert*.

En la experimentación práctica, se trabajó bajo las condiciones idóneas establecidas (15 °C temperatura ambiental y 60 % de humedad).

3.5.4 Definición de las variables de operacionalización.

En la **Tabla 3**, se muestra el concepto de las variables utilizadas en este experimento, las mismas que causan los cambios tanto en los alimentos como en la bentonita. Cabe recalcar la importancia del impacto de las condiciones del almacenamiento de los alimentos y la bentonita sódica.

Tabla 3. Definición de las variables de operacionalización

| | VARIABLE | DEFINICIÓN |
|-----------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| INDEPENDIENTES | DOSIS DE BENTONITA SÓDICA | Cantidad de bentonita sódica en combinación con el alimento avícola necesaria para obtener el resultado de secuestro sobre la aflatoxina deseado (Prado, 2018). |
| | TEMPERATURA | Las reacciones químicas se acompañan con efectos de calor y si logran ser bastante grandes, causarían un cambio significativo en la temperatura de la reacción, por consiguiente, estos efectos se deben tomar en consideración. De forma general, la constante de velocidad de reacción se dilata con un incremento en su temperatura (Monje, 2003). |
| | ALIMENTO | Un alimento es una sustancia que tiene la propiedad de otorgar a un determinado organismo los nutrientes y la energía, así como, que conservar su capacidad nutricional, su atractivo a los sentidos, su pureza y su frescura (Reig y Anesto, 2002). |
| | HUMEDAD | La humedad se basa en el cociente de la fracción molar de agua a una temperatura y su presión, dadas que entre la fracción de molar de vapor de agua en su condición de saturación llega a ser la misma temperatura y presión (Dávila y Martines, 2016). |
| DEPENDIENTE | Total de ppb / AFLATOXINA | Cantidad total de aflatoxinas B1 presentes en la muestra calculadas en partes por billón, siendo las micotoxinas más estudiadas por sus efectos toxicológicos agudos (Cedeño y Romero, 2020). |

Fuente: Varios Autores

Elaborado por: La Autora

3.4.5 Simulación programada.

Una vez establecidas las restricciones de la **Tabla 1**, y conocidos los factores de la **Tabla 2**, los cuales causaron una varianza y sus límites para implementar varios escenarios en donde se desarrolló la racionalización de las dosis de bentonita sódica sobre los alimentos, para su posterior ingesta, pero en búsqueda de evitar la absorción digestiva del ejemplar, las mismas fueron ingresadas en el software estadístico *Design Expert*, el cual estableció 24 tratamientos, realizando correlaciones entre la cantidad de aflatoxinas que posee el alimento, se pudo referenciar que cuando se encontró en su estado más puro, más porcentaje de aflatoxinas B1 posee, la cantidad de bentonita sódica incorporada a la combinación con el alimento, y la imprecisa variación de la temperatura y la humedad ambiental presentes. La correlación existente, se pudo constatar con la del Total ppb obtenido.

Adicionalmente, la temperatura y la humedad son factores que no se pueden dejar de lado, siendo esta la consecuencia que repercute en los resultados; es así como se llegan a obtener diferentes variaciones de diferentes factores, las cuales se presentan en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Diseño de mezclas de tratamientos

| Factor A Aflatoxina B1 | Factor B Bentonita Sódica | Factor C Temperatura | Factor D Humedad | TOTA L ppb |
|-----------------------------------------|------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|
| 114.19 | 10.801 | 15 | 60 | |
| 105 | 0 | 15 | 80 | |
| 73.650 | 18.114 | 29.095 | 79.139 | |
| 105.64 | 0 | 23.451 | 70.905 | |
| 87.29 | 10.792 | 21.909 | 80 | |
| 94.091 | 20 | 19.93 | 65.971 | |
| 57.29 | 10.792 | 21.909 | 80 | |
| 103.94 | 11.155 | 24.90 | 60 | |
| 112.72 | 1.7999 | 15 | 70.473 | |
| 92.210 | 8.3925 | 30 | 69.396 | |
| 87.25 | 20 | 30 | 62.75 | |
| 96.467 | 4.6953 | 22.546 | 76.290 | |
| 102.52 | 10.63 | 15 | 71.842 | |
| 110 | 0 | 30 | 60 | |
| 90 | 0 | 30 | 80 | |
| 57.529 | 9.4702 | 30 | 80 | |
| 120.60 | 0 | 16.417 | 62.976 | |
| 85 | 20 | 15 | 80 | |
| 83.217 | 17.071 | 26.989 | 72.721 | |
| 55.64 | 8.24 | 23.451 | 70.905 | |
| 92.210 | 8.3925 | 30 | 69.396 | |
| 93.52 | 15.131 | 16.37 | 74.97 | |
| 94.091 | 20 | 19.93 | 65.971 | |
| 103.94 | 11.155 | 24.90 | 60 | |

Elaborado por: La Autora

3.5.5 Procedimiento.

- Cada muestra de alimento para pollos se sometió a una simulación de digestión, utilizando reactivos químicos que ayudaron al ablandamiento, desdoblamiento de proteínas, almidones y aminoácidos. Posteriormente, se sometió el “quimo” a la captura de las aflatoxinas con la asimilación de la bentonita sódica.
- Cada muestra al ser analizada se recolectó de acuerdo con las técnicas de muestreo aceptadas.
- Las muestras se trituraron y mezclaron bien antes de proceder con la extracción. Se almacenó a 2 – 8 ° C hasta que se analicen.
- Se agitó vigorosamente, ya sea manualmente, 5 gramos de muestra triturada en una solución de 25 mL de metanol al 70 % durante 3 minutos.
- Se filtró el extracto obtenido vertiendo al menos 5 mL a través de un filtro N ° 1.
- Se permitió que los reactivos se calienten a temperatura ambiente entre 18 y 30 ° C.
- Se retiró un micropocillo de mezcla marcado en rojo para cada muestra a ser analizada, más 4 micropocillos marcados en rojo para cada control.
- Se colocó en la gradilla para micropocillos.
- Se retiró una cantidad igual de micropocillos recubiertos con anticuerpos.
- Se marcó un extremo con un uno (1) y colocar la tira en la gradilla para micropocillos con el extremo marcado para la izquierda. No se marcó el interior ni la parte inferior de los mismos.
- Se mezcló cada reactivo revolviendo la botella del reactivo antes de usar.
- Se vertió 100 µL de la muestra y 100 µL del conjugado de los reactivos.

- Se obtuvo los resultados dentro de los siguientes 20 minutos.
- Por lo antes expuesto una vez realizado el proceso se establecieron las dosis que se ajustaron a la reducción y corrección de aflatoxina B1 presente en alimento balanceado para pollo preiniciadores.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

En un ambiente con temperatura y humedad controlada, las ppb de aflatoxinas B1 presentes en los alimentos, permitieron conocer la reacción y a su vez el beneficio de contar con bentonita sódica en los alimentos de los pollos.

También, el conocer el detalle de los parámetros necesarios para evaluar el producto a base de bentonita sódica previsto por la empresa, el cual se detalla en la **Tabla 5**; en la cual se puede visualizar que cumple con los parámetros requeridos.

Tabla 5. Indicadores de Calidad Bentonita Sódica

| ENSAYOS | ESPECIFICACIONES | RESULTADOS |
|----------------|-----------------------------|-------------------|
| Apariencia | Sólido fluido | Cumple |
| Color | Beige | Cumple |
| Olor | Característico del producto | Cumple |
| Humedad | Max. 8.0 % | 5.60 % |
| Densidad | 0.65 - 1.00 g/mL | 0.81 g/mL |

Elaborado por: La Autora

Mediante el procedimiento en el laboratorio, se concluyó el impacto de la bentonita sódica al 97 % en los alimentos para pollos. La **Tabla 2** demuestra las variables que implican las dosis por el método de probabilidades.

Los resultados obtenidos, demostraron que la presencia, y por ende la absorción de las aflatoxinas, en los animales, disminuye radicalmente luego de la adición de la bentonita sódica al alimento.

En el proceso, por ser una digestión simulada, la cantidad de bentonita sódica se perfila en porcentajes muy altos. Es decir, por partes iguales tanto de bentonita como de alimento. En este caso, trabajamos con 2.5 g de alimento y se mezcló con 2.5 g de bentonita sódica. Esto, permitió conocer a mayor escala el impacto de secuestro y de forma más representativa el mismo en los alimentos. Lo que permitió corroborar el efecto de secuestro de la bentonita sobre las aflatoxinas.

A continuación, los datos tabulados en la **Tabla 6** de los resultados obtenidos por este método bicromático

.Tabla 6. Tabulados por análisis Bicromático

| | AC / AFB | BENTONI TA | TEMPERAT URA | HUMED AD | TOTA L ppb |
|-------------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------|-----------------------|
| Maíz | 0.139 | 0 | 15 | 60 | 13.5 |
| Trigo | 0.309 | 0 | 15 | 60 | 30.5 |
| Balanceado 1 | 0.323 | 0 | 15 | 60 | 32.5 |
| Balanceado 2 | 0.3 | 0 | 15 | 60 | 30.3 |
| Maíz | 0.289 | 2.5 | 15 | 60 | 2.7 |
| Trigo | 0.293 | 2.5 | 15 | 60 | 2.5 |
| Balanceado 1 | 0.292 | 2.5 | 15 | 60 | 2.6 |
| Balanceado 2 | 0.288 | 2.5 | 15 | 60 | 2.7 |

Elaborado por: La Autora

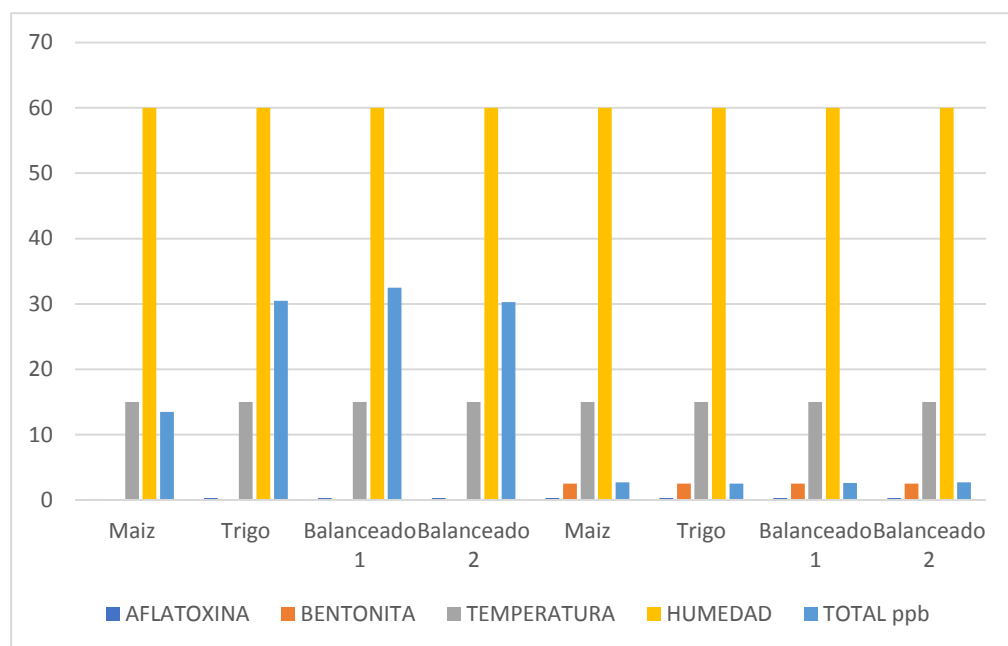
En el resultado impreso por el equipo Bicromático (Anexo 1), los resultados de las rejillas B que, en este caso fue la posición donde se colocó la tirilla con los micropocillos; considerando que, en el experimento práctico,

el orden de la posición de las muestras fue paralelamente opuesta a la tabulada.

Para alimentos balanceados con un alto riesgo de contaminación y condiciones desfavorables de almacenaje (temperatura y humedad elevada) en base a los resultados obtenidos al programa *Design Expert* se puede determinar que la dosis correctiva para alimento contaminado sería de 5 kg/TM.

En el **Gráfico 5** se presenta el impacto de la bentonita sódica.

Gráfico 5. Impacto de Bentonita Sódica.



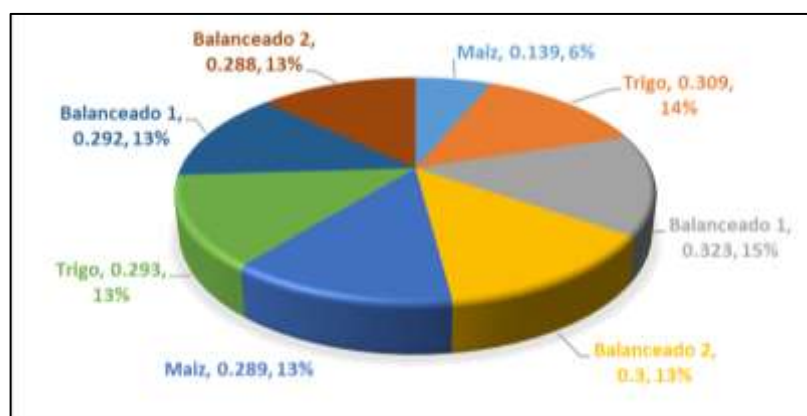
Elaborado por: La Autora

Cabe destacar la incidencia de la bentonita sódica y su capacidad de secuestro sobre las aflatoxinas presentes en los alimentos sin su combinación, frente a los que contienen el secuestrante. Al comparar las primeras 4 muestras sin aplicación del adsorbente, la presencia de las aflatoxinas llega a estar hasta un 13 % con más incidencia que los 4

siguientes, siendo muestras combinadas con el secuestrante, la incidencia más alta llega a estar hasta en un 6 %, de acuerdo con el estándar establecido, esta diferencia representa una ventaja económica significativa para la industria de alimentos balanceados.

En el **Gráfico 6** se presenta la incidencia de la bentonita sódica.

Gráfico 6. Incidencia Bentonita sódica.



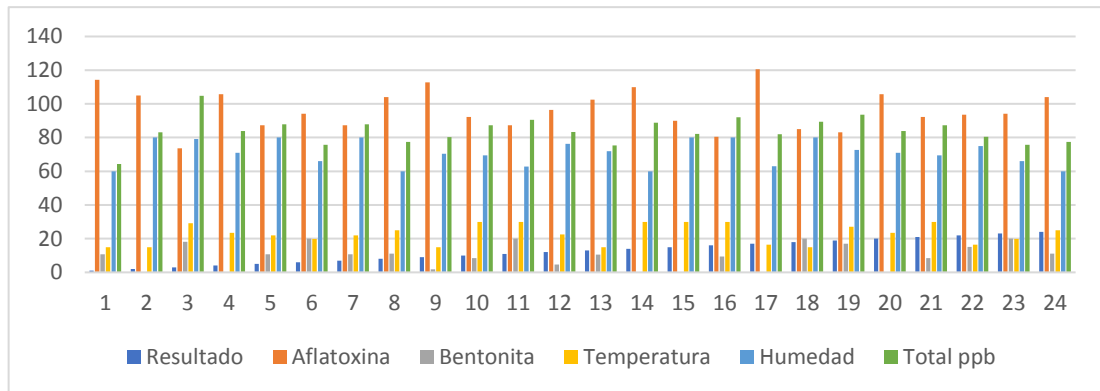
Elaborado por: La Autora

4.2.2 Evaluación simulación - práctica.

Mediante el uso del programa *Design Expert*, y las corridas aleatorias en base a las restricciones limitadas, podemos determinar en cuanto al resultado obtenido, que cuanto más producto se aplica, mejor resultado obtenemos en el producto final, siempre y cuando considerando las variables ambientales como son temperatura y humedad, las cuales repercuten significativamente en el efecto de la reacción de la bentonita sódica.

A continuación, en el **Gráfico 7** se puede observar el impacto de las condiciones ambientales en el efecto de secuestro de la bentonita sódica según **Tabla 7**.

Gráfico 7. Incidencia de variables ambientales.



Elaborado por: La Autora

Cada muestra se encontraba en su estado bruto, y realizando combinación con cada uno, es decir, el producto a base de bentonita sódica, el cuál fue provisto por la empresa para su posterior análisis. Se simuló una digestión enzimática de aves de corral para la adsorción de las aflatoxinas por parte de la bentonita sódica, para posteriormente conocer la presencia de las aflatoxinas a través de un análisis ELISA (por longitudes de ondas - espectrofotometría) lo cual, contrarrestó la capacidad de secuestro de la bentonita en cada uno de los alimentos.

Luego, al haber verificado la capacidad de secuestro de la bentonita, se procedió realizar el simulado de los datos que teóricamente son los límites de cuantificación de los parámetros, sin embargo, al momento que se corrió el programa, obtuvimos como resultado que el programa automáticamente propone parámetros para obtener los resultados más próximos a los casos reales, siendo menor cuando hubo un mayor efecto de la bentonita sódica sobre el secuestro de las aflatoxinas presentes en el alimento.

Se obtuvo como resultado, datos más concretos en relación con la cantidad de aflatoxinas presentes en los alimentos bajo la incidencia de la bentonita sódica. En la **Tabla 7** se presenta el resultado final.

Tabla 7. Resultado final de simulación programada.

| PRUEBA | AC- | BENTONIT | TEMPERATUR | HUMEDA | TOTA |
|---------------|------------|-----------------|-------------------|---------------|--------------|
| S | AFB | A | A | D | L PPB |
| 1 | 114.19 | 10.801 | 15 | 60 | 64.344 |
| 2 | 105 | 0 | 15 | 80 | 83.181 |
| 3 | 73.650 | 18.114 | 29.095 | 79.139 | 54.72 |
| 4 | 105.64 | 0 | 23.451 | 70.905 | 83.934 |
| 5 | 87.29 | 10.792 | 21.909 | 80 | 77.929 |
| 6 | 94.091 | 20 | 19.93 | 65.971 | 75.766 |
| 7 | 57.29 | 10.792 | 21.909 | 80 | 27.929 |
| 8 | 103.94 | 11.155 | 24.90 | 60 | 77.384 |
| 9 | 112.72 | 1.7999 | 15 | 70.473 | 80.182 |
| 10 | 92.210 | 8.3925 | 30 | 69.396 | 87.398 |
| 11 | 87.25 | 20 | 30 | 62.75 | 90.48 |
| 12 | 96.467 | 4.6953 | 22.546 | 76.290 | 83.228 |
| 13 | 102.52 | 10.63 | 15 | 71.842 | 75.31 |
| 14 | 110 | 0 | 30 | 60 | 88.909 |
| 15 | 90 | 0 | 30 | 80 | 82.264 |
| 16 | 57.529 | 9.4702 | 30 | 80 | 27.032 |
| 17 | 120.60 | 0 | 16.417 | 62.976 | 81.947 |
| 18 | 85 | 20 | 15 | 80 | 60.363 |
| 19 | 83.217 | 17.071 | 26.989 | 72.721 | 93.489 |
| 20 | 55.64 | 8.24 | 23.451 | 70.905 | 22.934 |
| 21 | 92.210 | 8.3925 | 30 | 69.396 | 87.398 |
| 22 | 93.52 | 15.131 | 16.37 | 74.97 | 80.493 |
| 23 | 94.091 | 20 | 19.93 | 65.971 | 75.766 |
| 24 | 103.94 | 11.155 | 24.90 | 60 | 77.384 |

Fuente: *Design Expert*

Elaborado por: La Autora

4.2 Discusión

Caravaca (2006), manifiesta que existe evidencia, que demuestra el impacto de la dosis óptima de bentonita sódica para las aves, al combinarlo en diferentes proporciones con el alimento suministrado, repercute con un efecto de la disminución notoria de las aflatoxinas B1, por ende, la incidencia de los efectos tóxicos para los ejemplares, la dosis optima se manifiesta dependiendo de la naturaleza del alimento, su estado de procesamiento y las condiciones de almacenaje. Por lo antes expuesto, en el presente trabajo, al experimentar con muestras procesadas, empacadas y almacenadas bajo parámetros ideales, se puede reflejar los porcentajes de las dosis requeridas y necesarias en diferentes alimentos.

Según García y Mendez (2016), el crecimiento de *Aspergillus* por aflatoxinas, son el resultado entre hongo, huésped y medio ambiente. Considerando la interacción entre los tres factores que determinan la penetración y la colonización del sustrato, así como el tipo y cantidad de aflatoxinas producida. Para Bogantes (2004), las condiciones óptimas en los niveles y frecuencias máximas se presentan en las regiones tropicales y semitropicales, en donde el clima favorece el crecimiento de los hongos productores de aflatoxinas, puede haber contaminación de los alimentos provenientes de zonas templadas, ya que el *Aspergillus flavus* está distribuido universalmente y alimentos contaminados han sido detectados en todo el mundo. Para que exista desarrollo de las aflatoxinas, se deben someter a las siguientes limitaciones de temperatura: 12 ° C como mínima, y 40-42 ° C como temperatura máxima. En consecuencia, en la experimentación programada, se pudo demostrar, que entre menos idóneas las condiciones de almacenamiento tanto del alimento o de la bentonita, el efecto repercute; en una mayor presencia y por lo tanto mayor incidencia de las aflatoxinas sobre el alimento. Por el lado de la bentonita sódica y su efecto, el ambiente de almacenaje, desencadenan la efectividad con la que actuará para el secuestro de las aflatoxinas.

Tapia (2010), en su estudio manifiesta que el impacto del efecto secuestrante de la bentonita sódica, en contraste con las dosis suministradas en el alimento que, previamente ha sido contaminado con aflatoxinas, así mismo, conforme a las cantidades de estas, la bentonita en dietas para aves contaminadas con 110 y 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de aflatoxinas contrarrestaron los efectos negativos ocasionados por esta micotoxina y con crecimientos equivalentes a la dieta de control implementada. La corrida aleatoria preprogramada, gracias a una fórmula previamente configurada por el sistema, nos dio como resultado el impacto del efecto secuestrante de la bentonita sódica sobre los alimentos altamente contaminados con márgenes de hasta 125 ppb de aflatoxinas. Los resultados estandarizan un próximo del 10.46 % de bentonita sódica, a su vez, disminuyendo hasta el 56.35 % de concentración de aflatoxinas y por lo tanto ingesta de estas micotoxinas en los ejemplares.

5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Con base en los resultados obtenidos en los análisis de resultados de las experimentaciones, tanto práctica como simulada, llevadas a cabo se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- En las condiciones experimentales realizadas, la adición de 2.5 g de bentonita sódica, neutralizando a un equivalente 3 ppb de aflatoxinas en los alimentos para pollos cobb. La inclusión del 0.0025 al 0.005 % (3 kg – 5 kg por TM) de bentonita sódica como absorbente fue suficiente como para neutralizar parte de los efectos negativos de las aflatoxinas.
- Según los análisis desarrollados tanto experimentalmente como simulados, indican que el efecto de la bentonita sódica sobre grandes cantidades de aflatoxinas, pueden impactar hasta el 94 %, obtenidos del promedio de impacto de secuestro en el experimento simulado.
- En cuanto a la vida útil de la bentonita sódica, bajo condiciones adecuadas (menor a 30 °C y con un % humedad menor a 80 %) los análisis simulados, demostraron gran incidencia por un periodo de 24 meses.
- En el análisis de la incidencia de las variables ambientales, el impacto se mostró negativamente frente a las condiciones de humedad ambiental presentadas. Es decir, frente a una gran exposición de humedad, las aflatoxinas son más presentes, debido que el ambiente permite su rápida proliferación o interrumpe su efecto.
- El alimento procesado (pellet) podrían llegar a ser la mejor opción para la aplicación de estos productos ya que son controlados con ensayos los cuales delimitan los límites a ciertos parámetros de calidad y su fácil recepción del efecto de la bentonita sódica.

5.2 Recomendaciones

Con base en los resultados obtenidos en los análisis de las experimentaciones, tanto práctica como simulada, llevadas a cabo, se puede recomendar lo siguiente:

- Controlar el ambiente de almacenaje del alimento balanceado (no mayor a los 30 °C), para así evitar proliferación de micotoxinas.
- Emplear correctas dosificaciones de la bentonita considerando los 3 puntos más considerables; alimento al cual se suministrará el aditivo, tipo de ejemplar y variables ambientales en las que se suministrará.
- Profundizar en las diferentes investigaciones necesarias para fijar el tipo de dosificación requerida y estabilizar procesos de ingesta.
- Realizar estudios más profundos con periodos de pruebas más amplios e impactos en la digestión de ejemplares vivos, marcando plazos, locaciones y tipos de aves.

REFERENCIAS

- Abbas, K. W. (2009). Ecology of aspergillus flavus, regulation of aflatoxin production, and management strategies. *Toxin Reviews*, 28(2-3), 142-153.
- Agahi, F. (2021). *Efectos de las micotoxinas beauvericina y metabolitos de la zearalenona in silico e in vitro en células de neuroblastoma humano sh-sy5y*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=303726>
- Ahonen, L. (2008). *Quality assurance of the bentonite materia*. Finlandia: Posiva.
- Andes, M.-C. d. (2019). *Microcore*. Obtenido de Edu.co: <https://investigaciones.uniandes.edu.co/microscopio-electronico-de-barrido-meb/>
- Arias, E. (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde.
- Armas Martínez, M. P. (2014). *Zeolitas en la dieta de los pollos de carne*. Obtenido de Repositorio Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/90/BC-TES-3739.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Arregui, F. (2022 de septiembre de 2022). *tryadd*. Obtenido de <https://www.tryadd.mx/blog/que-es-la-nutricion-animal>
- Ayala, A. E. (septiembre de 2007). *ELSEVIER*. Obtenido de <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-micotoxinas-13109791>
- Barajas. (2018). *Biodegradación del plástico*. Obtenido de [http://search.proquest.com/docview/1707881136/A41A5F99F7CD4DFAPQ/1? Acco](http://search.proquest.com/docview/1707881136/A41A5F99F7CD4DFAPQ/1?Acco)
- Bogantes-Ledezma, P. B.-L.-L. (2004). Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*, 46(4), 174-178.
- Bradanic, T. (2007). *Arcillas y Bentonitas*. Arica: Soc.Com. Hermes Ltda.
- Campos, M. (2010). *Un huevo en mi laboratorio*. Madrid: Bubok Publishing.

- Caravaca, F. (2006). Composición química de los alimentos, nutrición animal. En F. Caravaca, *Introducción a la alimentación y racionamiento animal*.
- Cedeño, D. C., & Romero, W. V. (marzo de 2020). *Aflatoxinas en los alimentos de la ciudad de nueva loja*. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/David-Coello-Cedeno/publication/339815259_Aflatoxinas_en_los_alimentos_de_la_ciudad_de_Nueva_Loja/links/5e67236da6fdcc37dd15e096/Aflatoxinas-en-los-alimentos-de-la-ciudad-de-Nueva-Loja.pdf
- Clos, J. I. (s.f.). Obtenido de <https://avinews.com/preiniciadores-pollos-engorde/>
- Connor, M. C.-Q. (2019). Constraints on organic chemistry students' reasoning during IR and ¹H NMR spectral interpretation. *Chemistry Education*, 20(3), 522-541.
- Dávila, J., & Martines, E. (19-23 de septiembre de 2016). Obtenido de Casos donde la definición de humedad relativa da lugar a interpretaciones incorrectas: <https://www.cenam.mx/sm2016/pdf/1878.pdf>
- Dávila, J., & Martines, E. (19-23 de septiembre de 2023). *Casos donde la definicion de humedad relativa da lugar a interpretaciones incorrectas*. Obtenido de <https://www.cenam.mx/sm2016/pdf/1878.pdf>
- Del Río García, J. C. (2016). *Micotoxinas que afectan a la industria avícola*. Cuautitlán: BM EDITORES.
- Dix , N., & Webster, J. (2005). Structure of Fungal Communities. En L. Chapman & Hall, *Fungal Ecology* (págs. 39-84). Inglaterra.
- ELIKA. (28 de 02 de 2013). *Aflatoxinas*. Obtenido de Educacion Vasca para la Seguridad Alimentaria: <https://seguridadalimentaria.elika.eus/wp-content/uploads/2018/01/19.Aflatoxinas.pdf>
- Falcones, Á. O. (08 de 07 de 2009). Recuperado el 14 de 08 de 2022, de Evaluación del incremento en formulación de alimentos balanceados en pollos COBB-500 por sexo y su efecto en parámetros zootécnicos.: <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1293/1/TTMV01D.pdf>

- Fiama Aihelen, F. (2021). Obtenido de <https://rid.unrn.edu.ar/bitstream/20.500.12049/7174/1/Fornies-Fiama-A. Impacto-de-las-micotoxinas-en-la-produccion-porcina.pdf>
- Fiama Aihelen, F. (2021). *Informe final de la orientación práctica Profesional en Producción Porcina*. Choele Choel-.
- Galeano, L. (2011). Peroxidación catalítica de contaminantes orgánicos en medio acuoso utilizando. Castilla, Salamanca, España: Departamento de química inorgánica, Universidad de Salamanca.
- García. (2006). Mycotoxins in Mexico: Epidemiology, management, and control strategies. *Mycophatologia*, 162:255-264.
- García, J. C., & Méndez, y. A. (2016). *Micotoxinas que afectan a la industria*. Obtenido de https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/Micotoxicosis/11-Micotoxinas_Avicola.pdf
- Gimeno, A. (2011). *Micotoxinas y Micotoxicosis en animales y humanos*. Obtenido de <http://specialnutrients.com/pdf/book/3edicion-Micotoxinas-LR-S>
- Gonzales, C. (18 de 09 de 2019). *Capacidad biodegradativa de hongos filamentosos frente al polietilen*. Obtenido de Capacidad biodegradativa de hongos filamentosos frente al polietilen.: http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/12254/Vicky_Cristina_
- Gutiérrez, P. M. (2017). Obtenido de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3433/IQpibeli.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- INSST. (20 de octubre de 2021). *Instituto Nacional de Seguridad, Salud y Trabajo*. Obtenido de <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/aspergillus-fumigatus>
- Lacey J, & Megan N. (2001). Fungi in cereal grains: their occurrence and water and temperature relationships. En E. S. B.V, *Micotoxinas, Fungi and Quality in Drying and Storage, Developments in Food Science* (págs. 77-118). Holanda.
- Lara, J. (22 de 11 de 2003). *Métodos de Determinación, Identificación y*

Control de Micotoxinas en Ingredientes para la Nutrición Animal.
Obtenido de Engormix: Engormix

Maldonado , L. (2020). *“Fumonisinias en muestras de harina de maíz comercializadas en Resistencia-Chaco: Comparación de un método comercial rápido de ensayo inmunoenzimático (ELISA) con el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de referencia para la detección.* Corrientes.

Maldonado Rosero, F. X. (julio de 2015). *Estudio comparativo de adsorción de Paraquat en diferentes agentes adsorbentes como Carbón activado y aluminosilicatos de origen natural.* Obtenido de <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/5735/1/120765.pdf>

Martínez, M. V. (2013). Aflatoxins: incidence, impact on health, control. *Biosalud*, 12(2), 89-109.

Marulanda. (29 de marzo de 2017). *Animales y Biología* . Obtenido de Sistema digestivo de las aves, características, órganos y glándulas: <https://animalesbiologia.com/aves/anatomia-de-las-aves/sistema-digestivo-de-las-aves>

Mayer, A. (2016). *Hongos que afectan al poroto de soja y otros cereales y su implicancia en la.* Ediciones INTA.

Mionetto Cabrera, A. C. (2017). *Hongos toxicogénicos y producción de micotoxinas en silos de sorgo húmedo”.* Obtenido de Colibrí: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/10220/1/uy24-18501.pdf>

Negrin. (11 de 04 de 2013). *Alimentos Balanceados.* Obtenido de Ensayos de Calidad - carlosnegrin: <https://www.clubensayos.com/Temas-Variados/Alimentos-Balanceados/662459.html>

Oscar, P., & Roberto, R. (7 de Septiembre de 2021). *Micotoxicosis. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 87-116. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172001000200013&lng=es&tlng=es.

Osorio. (30 de Abril de 2012). *Manejo Integral del Suelo y Nutrición Vegetal*, Vol. 1 No. 4. Obtenido de

<https://www.bioedafologia.com/sites/default/files/documentos/pdf/pH-del-suelo-y-nutrientes.pdf>

Parra, Y. (2019). *Agronomaster*. Obtenido de Alimento Balanceado Para Pollos. Aliméntalos Así Y Explota Su Potencial Productivo: <https://agronomaster.com/alimento-balanceado-para-pollos/>

Reig, A. L., & Anesto, J. B. (2002). *Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa*. Obtenido de Moringa del Prado: https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/51866667/probioticos_y_prebioticos-with-cover-page-v2.pdf?

Reinaldo, J., Zambrano, C., Rafael, J., & Muñoz, M. (s.f.). *Edu.ec*. Obtenido de Escuela superior politécnica agropecuaria de: <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/531/1/TMV109.pdf>

Rey, M. (2008). *Alteraciones de la cascara, clara y yema de huevo*. Salamanca: UEMC. 52: 56-.

Rodriguez, M. (junio de 2008). *Secuestrantes de micotoxinas*. obtenido de secuestrantes de micotoxinas: https://node2.123dok.com/dt02pdf/123dok_es/000/880/880544.pdf.pdf

Rueda, L. (25 de 11 de 2006). *cenida.una.edu.ni*. Obtenido de Ecología y Medio Ambiente: <https://cenida.una.edu.ni/textos/nt01v714.pdf>

Salazar, T. (2010). *Uso de secuestrantes para disminuir la toxicidad de micotoxinas en alimentos para acuicultura*. Obtenido de https://core.ac.uk/display/76597501?utm_source=pdf&utm_medium=banner&utm_campaign=pdf-decoration-v1

Soriano, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. España: Díaz de Santos.

Southern, L., Ward, T., Biedner, T., & Hebert, L. (2004). *Poults*. *Poults*, 73: 848-854.

Tapia, M. (2010). *Uso de secuestrantes para disminuir la toxicidad de micotoxinas en alimentos para acuicultura*. Obtenido de CORE: <https://core.ac.uk/download/pdf/76597501.pdf>

Torres, A. M. (2005). *Quartenário do Brasil*. 14, 298.

Umaña Cerros, E. (02 de 04 de 2021). *Conservación de alimentos por frío*.

- Obtenido de Fusades.org:
https://fusades.org/publicaciones/conservacion_alimentos_frio.pdf
- Vázquez, E. (2017). *Aspergilosis cerebral como causa de lesión cerebral focal asociada SIDA*. Obtenido de A propósito de un caso y revisión de la literatura.
- Velázquez, C. J. (2010). *Insectos que dañan granos y productos almacenados*. Instituto de. Santiago: FAO/RLAC .
- Wild CP, T. P. (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decision.
- Wogan, G. N., Edwards, G. S., & Newberne, P. M. (1971). *Cancer Research*.
Obtenido de
<https://aacrjournals.org/cancerres/article/31/12/1936/478270/Structure-Activity-Relationships-in-Toxicity-and>
- Yemail, B. (1998). : *Cadena productiva de cereales forrajerosalimentos balanceado-avicultura-carne de pollo y gallina*.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis Bicromático

```
1)Aflatoxin
Updated: 06-19-2019
08-06-2022      16:38:34
Strip Format: 12 Well (1-12)
Regression Mode
Wavelengths= 650nm, None
Axes: Y=Logit(Abs) X=Log(Conc)
Standard#1 = 0.0
Standard#2 = 5.0
Standard#3 = 15.0
Standard#4 = 50.0
W   ID   Abs          ppb Intrap
-----
Strip: A
Carrier Position: A
Running New Curve
01  51  0.380          0.0
02  52  0.240          5.0
03  53  0.122         15.0
04  54  0.050         50.0
05  1   0.009        274.3
06  2   0.000        *****
07  3   0.000        *****
08  4   0.000        *****
09  5   0.000        *****
10  6   0.000        *****
11  7   0.000        *****
12  8   0.000        *****

r=-0.9980  y=2.1865
m=-2.4221
Strip: B
Carrier Position: B
01  9   0.299          2.3
02  10  0.297          2.4
03  11  0.296          2.4
04  12  0.297          2.4
05  13  0.288          2.7
06  14  0.292          2.6
07  15  0.293          2.5
08  16  0.289          2.7
09  17  0.300         30.3
10  18  0.323         32.5
11  19  0.309         30.0
12  20  0.139         13.5
```

Anexo 2. Análisis Calidad Bentonita Sódica

CERTIFICADO DE ANALISIS

REVISION: 30/04/15

Fecha: 06/06/2022
Certificado N°:01

DETALLE DEL PRODUCTO:

Nombre del Producto: Guardián
Presentación: Saco de 25 Kg
Fecha de Elaboración: 05/08/2022
Fecha de Expiración: 05/08/2023
N. de lote: 15MO/4351622

DETALLE DEL ANALISIS:

| <u>ENSAYOS</u> | <u>ESPECIFICACIONES</u> | <u>RESULTADOS</u> |
|-------------------|-----------------------------|-------------------|
| <i>Apariencia</i> | Sólido Fluido | Cumple |
| <i>Color</i> | Beige | Cumple |
| <i>Olor</i> | Característico del Producto | Cumple |
| <i>Humedad</i> | Máx. 8.0% | 5.6 % |
| <i>Densidad</i> | 0.65 – 1.00 g/ml | 0.81 g/ml |



Mayra Rodriguez S.
Gerencia de Aseguramiento de Calidad
Aditivos y Alimentos S.A.

Anexo 3. Alimentos usados para experimentación práctica



Anexo 4. Aditivo a base de bentonita sódica



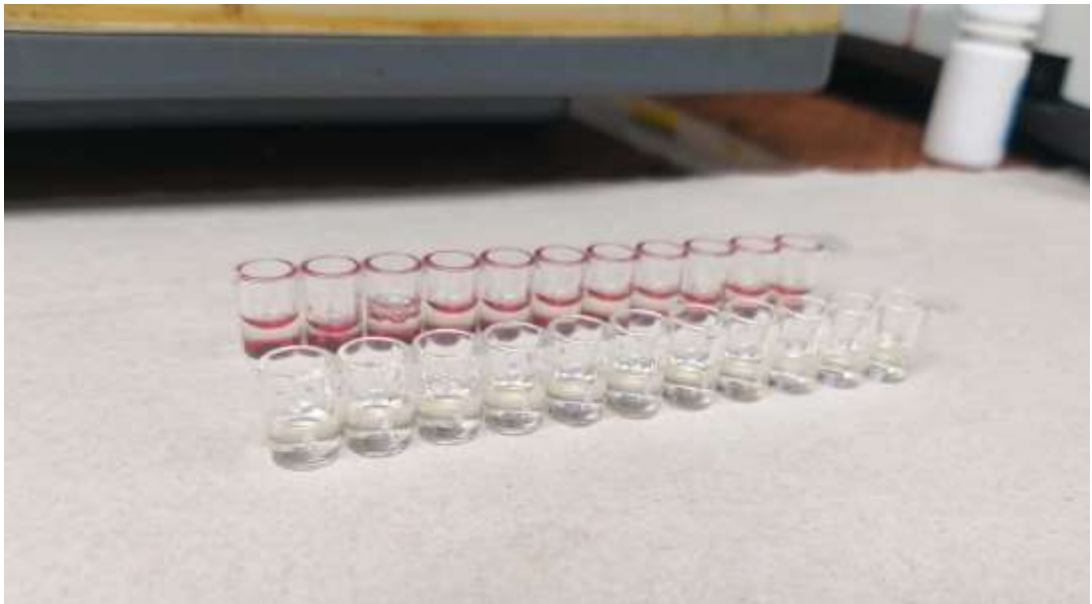
Anexo 5. Enzimas usadas en digestión simulada



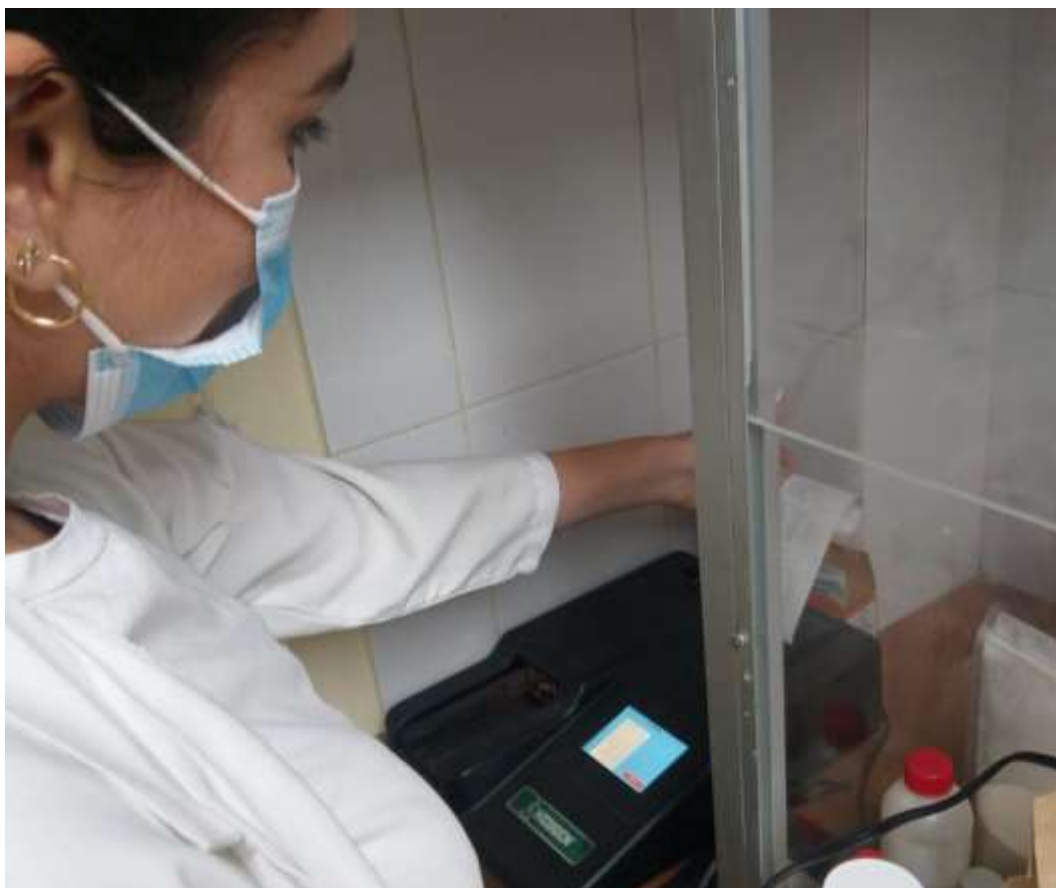
Anexo 6. Digestión simulada



Anexo 7. Exposición a reactivos para determinación aflatoxina



Anexo 8. Obtención de resultados



DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **Ortega Veintimilla, Doménica Paulette**, con C.C: # **0953640489** autora del **Trabajo de Titulación: Evaluación de la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxinas B1 de Aspergillus spp, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores en el norte de la ciudad de Guayaquil** previo a la obtención del título de **Médica Veterinaria y Zootecnista** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 16 de septiembre del 2022

f. _____
Ortega Veintimilla, Doménica Paulette
C.C: **0953640489**



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

| | | | |
|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|----|
| TEMA Y SUBTEMA: | Evaluación de la capacidad de secuestro de la bentonita sódica en aflatoxinas B1 de <i>Aspergillus</i> spp, presente en el alimento balanceado para pollos preiniciadores en el norte de la ciudad de Guayaquil. | | |
| AUTOR(ES) | Ortega Veintimilla, Doménica Paulette | | |
| REVISOR(ES)/TUTOR(ES) | Ing. Jorge Ruperto Velásquez Rivera, Ph. D | | |
| INSTITUCIÓN: | Universidad Católica de Santiago de Guayaquil | | |
| FACULTAD: | Educación Técnica para el Desarrollo | | |
| CARRERA: | Medicina Veterinaria y Zootecnia | | |
| TITULO OBTENIDO: | Médica Veterinaria y Zootecnista | | |
| FECHA DE PUBLICACIÓN: | 16 de septiembre del 2022 | No. DE PÁGINAS: | 57 |
| ÁREAS TEMÁTICAS: | Nutrición Animal, Micotoxinas, Alimento. | | |
| PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS: | Aflatoxinas, Alimento, Bentonita Sódica, Dosis, Restricciones, Parámetros. | | |
| RESUMEN/ABSTRACT: | <p>Las micotoxinas, presentes en los alimentos usados por parte de las industrias avícolas, es un importante tema de estudio y una de las mayores preocupaciones, debido a los daños que causa en los animales, a los productores y empresas del sector avícola. Al no existir una técnica eficiente para la eliminación de las aflatoxinas, se evaluó el impacto de la adición de un secuestrante o adsorbente usando como base la bentonita de sodio en la nutrición de pollos preiniciadores, a fin de disminuir la absorción en la ingesta y reducir los efectos de las aflatoxinas. El enfoque investigativo, fue de tipo exploratorio, experimental, descriptivo, cuantitativo y correlacional. Se realizaron dos tipos de experimentos. Se utilizaron 4 alimentos bases sin procesar, y combinándolo cada uno con el producto a base de bentonita sódica, para su posterior análisis. Se simuló una digestión enzimática de aves para la adsorción de las aflatoxinas por parte de la bentonita sódica, y así conocer su efecto a través de un análisis de espectrofotometría. Lo cual, contrarrestaría la capacidad de secuestro de la bentonita en cada uno de los alimentos. Para el segundo tipo de experimento se aplicó la metodología de matrices correlacionales, se realizó una experimentación simulada, se ingresó las restricciones en sus respectivas unidades con los límites, formando una matriz 4 x 24. Se determinó que la dosis sugerida es: 0.0025 % a 0.005 %.</p> | | |
| ADJUNTO PDF: | <input checked="" type="checkbox"/> SI | <input type="checkbox"/> NO | |
| CONTACTO CON AUTOR/ES: | Teléfono: +593-9-83449165 | E-mail: domenica.ortega01@cu.ucsg.edu.ec | |
| CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN (COORDINADOR DEL PROCESO UTE): | Nombre: Dra. Melissa Joseth Carvajal Capa M. Sc. | | |
| | Teléfono: +593-9-83448583 | | |
| | E-mail: melissa.carvajal01@cu.ucsg.edu.ec | | |
| SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA | | | |
| Nº. DE REGISTRO (en base a datos): | | | |
| Nº. DE CLASIFICACIÓN: | | | |
| DIRECCIÓN URL (tesis en la web): | | | |