



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

**Hongos micotoxigénicos en harinas de maíz para consumo humano y animal
comercializadas en mercados mayoristas de Lima Metropolitana**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autores:

Bruno Alonso Cortijo Avila

Adriana Lucia Villanueva Reyes

Asesora:

Ruth Liliana Cristobal Delgado

Co-asesora:

Laura Fiorella Cadenillas Sueldo

Lima, Perú

2025

Jurado calificador

Presidente: Dr. Leon Faustino Villegas Vilchez

Vocal: Mg. Hugo Antonio Flores Liñan

Secretario: Mg. Luis Alberto Rossi Mayo



Similitud 13% Marcas de alerta



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

**Hongos micotoxigénicos en harinas de maíz para consumo humano y animal
comercializadas en mercados mayoristas de Lima Metropolitana**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

Autores:

Bruno Alonso Cortijo Avila

Adriana Lucia Villanueva Reyes

Asesora:

Ruth Liliana Cristobal Delgado

Co-asesora:

Laura Fiorella Cadenillas Sueldo

Lima, Perú

Página 1 de 68

14888 palabras



106%



2025



Informe estándar

Informe en inglés no disponible [Más información](#)

13% Similitud estándar

Filtros

10 Exclusiones →

Fuentes

Mostrar las fuentes solapadas

- 1 Internet
www.neogen.com 2%
12 bloques de texto 278 palabra que coinciden
- 2 Internet
www.coursehero.com <1%
8 bloques de texto 89 palabra que coinciden
- 3 Internet
docplayer.es <1%
7 bloques de texto 86 palabra que coinciden
- 4 Internet
www.researchgate.net <1%

Agradecimientos

Queremos expresar nuestra más profunda gratitud a nuestros padres, quienes siempre han sido nuestro pilar fundamental. Gracias por su amor incondicional, por enseñarnos a dar lo mejor de nosotros mismos y por ser nuestra constante fuente de apoyo en cada etapa de nuestras vidas.

A nuestras asesoras, Ruth Cristóbal y Fiorella Cadenillas, les agradecemos sinceramente por su invaluable guía durante todo el proceso de esta tesis. Desde el diseño del muestreo hasta las etapas finales de análisis, su paciencia, conocimiento y dedicación han sido esenciales para el desarrollo de este trabajo.

A nuestros compañeros de laboratorio y amigos, les extendemos nuestro reconocimiento por el apoyo brindado en cada paso del camino. Gracias por compartir su conocimiento, su tiempo y su disposición, desde las tareas más técnicas hasta el plaqueo de los medios de siembra.

Un agradecimiento especial a Joaquín Díaz y Sofía Huasasquiche, cuya experiencia y conocimientos fueron claves al momento de plantear nuestras ideas y analizar los resultados. Su colaboración fue invaluable para llevar este proyecto a buen término.

Finalmente, queremos expresar nuestra especial gratitud a la Dra. Magdalena Pavlich, amiga y maestra, quien nos inspiró a adentrarnos en el mundo de los hongos y la seguridad alimentaria. Su pasión y conocimientos en micología fueron el motor que impulsó nuestro interés y formación en este campo, haciendo posible que este proyecto tomara forma.

Gracias a todos los que, de una u otra manera, contribuyeron a que esta tesis se hiciera realidad.

Índice

| | |
|--|----|
| Resumen..... | 1 |
| Abstract..... | 2 |
| I. Introducción..... | 3 |
| II. Marco teórico..... | 7 |
| 2.1. Maíz “ <i>Zea mays L.</i> ”..... | 7 |
| 2.1.1. Características y composición de la harina de Maíz Blanco..... | 8 |
| 2.1.2. Características y composición de la harina de Maíz Amarillo.... | 8 |
| 2.2. Hongos filamentosos..... | 9 |
| 2.2.1. <i>Aspergillus</i> | 10 |
| 2.2.2. <i>Penicillium</i> | 10 |
| 2.2.3. <i>Fusarium</i> | 11 |
| 2.3. Micotoxinas..... | 11 |
| 2.3.1. Aflatoxinas..... | 12 |
| 2.3.2. Ocratoxinas..... | 14 |
| 2.3.3. Fumonisinias..... | 15 |
| 2.4. Condiciones de crecimiento de los hongos filamentosos y producción de micotoxinas..... | 16 |
| 2.4.1. Temperatura..... | 17 |
| 2.4.2. Humedad relativa..... | 18 |
| 2.4.3. Actividad del agua..... | 18 |
| 2.4.4. pH..... | 18 |
| 2.4.5. Sustrato..... | 19 |
| III. Hipótesis de investigación..... | 19 |
| IV. Objetivos..... | 20 |
| 4.1. Objetivo general..... | 20 |
| 4.2. Objetivos específicos..... | 20 |
| V. Materiales y métodos..... | 20 |

| | |
|--|----|
| 5.1. Lugar de muestreo..... | 20 |
| 5.2. Selección de muestras y procesamiento..... | 21 |
| 5.2.1. Muestreo en mercados y toma de datos ambientales..... | 21 |
| 5.2.2. Criterios de selección de muestras..... | 21 |
| 5.2.3. Toma de datos ambientales..... | 22 |
| 5.2.4. Etiquetado..... | 22 |
| 5.2.5. Almacenamiento de muestras..... | 22 |
| 5.3. Preparación de diluciones..... | 22 |
| 5.4. Aislamiento y cuantificación de colonias..... | 23 |
| 5.5. Descripción morfológica..... | 23 |
| 5.5.1. Descripción macroscópica..... | 23 |
| 5.5.2. Descripción microscópica..... | 24 |
| 5.6. Análisis de micotoxinas..... | 24 |
| 5.6.1. Preparación de las muestras..... | 24 |
| 5.6.2. Extracción..... | 25 |
| 5.6.3. Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA)..... | 25 |
| 5.6.4. Clasificación de muestras..... | 28 |
| 5.7. Análisis estadístico..... | 28 |
| VI. Resultados..... | 28 |
| 6.1. Identificación taxonómica macroscópica y microscópica de los hongos contaminantes en las harinas de maíz..... | 28 |
| 6.2. Condiciones medioambientales durante la toma de muestras..... | 30 |
| 6.3. Análisis de micotoxinas..... | 30 |
| VII. Discusión..... | 36 |
| VIII. Conclusiones..... | 39 |
| IX. Recomendaciones..... | 40 |
| X. Bibliografía..... | 41 |
| ANEXOS..... | 54 |

Resumen

Las micotoxinas, son metabolitos secundarios producidos por determinados tipos de hongos, algunas de ellas han sido sugeridas como potenciales carcinogénicas, representando un riesgo crítico para la salud pública. Este estudio analizó 80 muestras de harinas de maíz para consumo humano y animal adquiridas en mercados mayoristas de Lima Metropolitana, utilizando ELISA competitivo con el kit Veratox MAX para detectar aflatoxinas, fumonisinas y ocratoxinas. Los resultados mostraron que el 100% de las muestras para consumo humano y el 97.5% de las muestras para animales contenían aflatoxinas, algunas superando los límites permitidos internacionalmente. Las fumonisinas se detectaron en el 20% y 10% de las muestras para consumo humanas y animales, mientras que las ocratoxinas fueron menos frecuentes, detectándose en el 10% y 0%, respectivamente. Las especies productoras de micotoxinas predominantes identificadas fueron *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum* y *Fusarium moniliforme*. Las condiciones de almacenamiento deficientes pudieron haber favorecido a la contaminación de las harinas, resaltando la necesidad de implementar prácticas adecuadas de manejo postcosecha para reducir los riesgos asociados a estas micotoxinas.

Palabras clave: micotoxinas, harinas de maíz, aflatoxinas, fumonisinas, seguridad alimentaria.

Abstract

Mycotoxins are secondary metabolites produced by specific fungal species, some of which have been identified as potential carcinogens, thereby representing a significant threat to public health. This study analyzed 80 maize flour samples intended for human and animal consumption, obtained from wholesale markets in Lima Metropolitana, using competitive ELISA with the Veratox MAX kit to detect aflatoxins, fumonisins, and ochratoxins. Results revealed that 100% of human samples and 97.5% of animal samples contained aflatoxins, with some exceeding internationally permitted limits. Fumonisin was detected in 20% of human samples and 10% of animal samples, while ochratoxin was less frequent, being identified in 10% and 0% of human and animal samples, respectively. The predominant fungal species identified were *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum*, and *Fusarium moniliforme*. Deficient storage conditions, may have contributed to the contamination of the flours. These findings highlight the urgent need for improved post-harvest management practices to mitigate the risks associated with mycotoxin contamination in maize flour.

Keywords: mycotoxins, maize flour, aflatoxins, fumonisins, food safety

I. Introducción

Los hongos filamentosos son organismos heterótrofos y tienen la capacidad de crecer en diferentes sustratos y condiciones ambientales [1]. El fácil crecimiento y diseminación de este tipo de hongos suponen un riesgo para la salud por dos características, ser alérgenos, por su producción de esporas; y producir metabolitos secundarios, como las micotoxinas [2]. La primera característica se refiere a la inhalación de esporas fúngicas que puede desencadenar enfermedades respiratorias y provocar síntomas alérgicos como rinitis, conjuntivitis, asma y dermatitis debido a la presencia de proteínas inmunogénicas [3]. Estas esporas, comunes en entornos externos, añaden un componente adicional de riesgo en zonas cerradas, ya que tienen la capacidad de contaminar fácilmente estas, encontrando sustratos propicios para crecer [1]. Este fenómeno subraya la importancia de la correcta gestión ambiental y mejora de la calidad del aire en la prevención de riesgos para la salud asociados con la exposición a hongos.

Por otro lado, existe otra categoría de riesgos asociados con estos hongos, la que es propia de aquellos que actúan como productores de metabolitos secundarios, como lo son las micotoxinas. Entre ellas están la ocratoxina A, las aflatoxinas y las fumonisinas producidas principalmente por hongos de los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium*, respectivamente [4]. De igual manera, están también las micotoxinas zearalenona, citrinina y ácido ciclopiazónico teniendo, como las ya mencionadas, el maíz como materia prima alimenticia [5].

La presencia inicial de ocratoxina A fue identificada en muestras de maíz de África y ha sido objeto de atención debido a su potencial nefrotóxico en humanos y animales, así como causar severos daños a los riñones en humanos, clasificado como carcinógeno de tipo 2 por el Centro Internacional de Investigaciones contra el Cáncer (IARC) [4], y se ha vinculado a enfermedades renales como nefropatía intersticial en los animales de granja [6]. Por otro lado, la aflatoxina B1, la más común entre este tipo de micotoxinas, ha sido reconocida por su potencial carcinogénico en humanos y fue vinculada a enfermedades hepáticas y afecciones gastrointestinales en animales como pollos [5]. Mientras las fumonisinas se han asociado con la aparición de enfermedades como la leucoencefalomalacia en

caballos, investigaciones recientes también han explorado su posible conexión con el cáncer esofágico en seres humanos [7].

El desarrollo de los hongos ambientales y la producción de las micotoxinas, están influenciados por diversas condiciones ambientales, incluyendo niveles de humedad, temperatura, precipitación, variaciones térmicas, contaminación, tipo de sustrato y características específicas de cada tipo de hongo. Estas variables juegan un papel crucial y pueden variar según la especie de hongo involucrada [1,4]. El rango de temperatura en el que pueden vivir los hongos mesófilos es de entre 10 y 35 °C, siendo su intervalo óptimo de crecimiento entre 20 y 30 °C donde generalmente se favorece la producción de micotoxinas [8]. Los hongos que producen micotoxinas tienden a prosperar en entornos con una alta humedad relativa, generalmente superior al 70%, para permitir la entrada de nutrientes y para liberar al medio las enzimas necesarias para degradar los polímeros que necesitan [2]. Dado que Lima tiene un ambiente húmedo (humedad relativa anual de ~82,8%) y un clima cálido (temperatura promedio de 19,1°C) [9], este constituye un entorno adecuado para el crecimiento y reproducción de diversas especies de hongos ambientales, en especial cuando se refiere a lugares cerrados, con pocos estándares de higiene y con sustratos adecuados para la proliferación, como son los almacenes de productos alimenticios en los grandes mercados mayoristas.

Las posibles micotoxinas producidas por los hongos ambientales, afectan la inocuidad y seguridad alimentaria. La inocuidad alimentaria se define como la certeza de que los alimentos son aptos para el consumo humano y no conllevan riesgos para la salud [10]. Mientras, la seguridad alimentaria abarca varios aspectos, desde la producción y procesamiento de alimentos hasta su almacenamiento, distribución y preparación. Tiene como objetivo asegurar que todas las personas tengan acceso constante a alimentos nutritivos y seguros para satisfacer sus necesidades dietéticas. [11]. En el caso de los mercados mayoristas, no se suele encontrar una buena conservación en cuanto a las harinas siendo generalmente de una manera poco hermética y controlada, y tampoco una manipulación adecuada frecuente para evitar la contaminación. Normalmente, las harinas de maíz no contienen un etiquetado y son vendidos a granel, la ausencia de etiquetas impide brindar información clara y detallada sobre ingredientes, alérgenos y fechas de

vencimiento, lo que limita la capacidad de los consumidores para tomar decisiones informadas.

En Perú, la legislación relacionada con el consumo local de alimentos está regulada por diversas entidades como el SENASA y DIGESA. Los límites microbiológicos establecidos por estas entidades permiten evaluar la seguridad alimentaria de los productos, y a su vez la calidad. La “Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano”, incluye a las harinas con un límite microbiológico (m) máximo por gramo de 10000 unidades formadoras de colonias (UFC) [12]. Estos datos se detallan en el Anexo 1. Sin embargo, aún no existe un parámetro que limite la cantidad de micotoxinas en el consumo local, solo existe en la comercialización hacia el exterior, siguiendo los límites descritos en los países en donde se exportará.

El organismo federal de Estados Unidos, llamado “Food and Drug Administration”, en español Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), menciona que la cantidad máxima permitida de aflatoxinas en alimentos por grano para consumo humano es de 20 ppb (partes por billón), y para alimentos de animales como pollos, vacas y cerdos, el límite va desde 20 ppb a 300 ppb dependiendo de la especie de animal y edad [13]. Respecto a las fumonisinas, en harina de maíz para consumo humano, el límite máximo es de 2 ppm (partes por millón), mientras que en el caso de animales, es de entre 5 a 100 ppm de fumonisinas totales dependiendo de la especie animal [14]. En el caso de Ocratoxina A, los límites establecidos por el Reglamento (UE) 2023/915 indican que en los productos derivados de granos de cereales sin procesar tiene un límite de 3.0 µg/kg [15].

Una de las harinas que más se consume es la de maíz (*Zea mays L.*), esta planta es una de las fuentes de alimento más importantes a nivel mundial y desempeña un papel fundamental en la alimentación tanto de seres humanos como de animales. En el Perú, esta harina es consumida a gran escala en comidas como mazamorra, chicha morada, tamales, humitas y panes de maíz, siendo de gran importancia sociocultural [16]. Entre aquellos alimentos que brindan un sustrato propicio para los hongos ambientales, se encuentran las harinas. Las harinas de maíz contienen una variedad de nutrientes para el crecimiento de hongos por sus carbohidratos, lípidos (ácido linoleico y oleico), proteínas y minerales, de igual manera la capacidad de las

harinas de retener agua favorece el desarrollo de hongos [17]. Estas, al quedar expuestas al ambiente por falta de un adecuado empaquetamiento hermético, propician a que las esporas fúngicas puedan depositarse y desarrollarse en su superficie [18].

Según la OMS (2023), las micotoxinas más frecuentes que se encuentra en los alimentos se corresponden a las aflatoxinas, que son producto de algunas cepas de *Aspergillus flavus*, las que ocasionan cáncer en animales; la Ocratoxina A, que son producto de determinados *Aspergillus* y *Penicillium*, que provocan daños renales, y la Patulina producida principalmente por *Aspergillus*, *Penicillium* y *Byssochlamys*, que está relacionada con síntomas como náuseas, trastornos gastrointestinales y vómitos en humanos [19].

Orellana et al. (2005), encontraron en harina de maca principalmente *Penicillium spp.* y *Fusarium moniliforme*, así como *Mucor sp.* y *Aspergillus niger*, siendo descrito como un problema desde una perspectiva bromatológica, ya que estos hongos tienen la capacidad de sintetizar metabolitos secundarios tóxicos [20]. Según Astudillo, y Nacipucha (2010), en un estudio en donde se analizó harina de maíz y cereales, se pudo aislar *Stachylidium* y *Aspergillus*; además debido a la implementación de estrategias químicas y biotecnológicas se identificó aflatoxinas, ácido vermiculico, vermilitina, dehidroalternusina y mitorubrinol de los hongos aislados a partir del trigo y maíz [21]. Según Calizaya (2010), en un estudio realizado mediante la recopilación de muestras ambientales (utilizando la técnica de placa en exposición) y de exudados nasofaríngeos (mediante hisopados de la mucosa nasal) en un mercado de abastos en Tacna, Perú; el hongo más frecuente fue *Penicillium spp.*, seguido por *Candida sp.* y *Rhizopus stolonifer*; esto sugiere que en los mercados donde no se lleva a cabo un adecuado manejo de residuos orgánicos, puede propiciarse el desarrollo de esporas fúngicas. Estas esporas pueden dispersarse en los diversos entornos que rodean a los seres humanos, afectando también las mucosas respiratorias de aquellos huéspedes susceptibles [1].

La determinación de las especies de hongos puede ser efectuada utilizando métodos clásicos y técnicas moleculares. El método clásico es el único utilizado en la microscopía, que incluye la observación de características morfológicas y

estructuras reproductivas de los hongos. También hay otras técnicas más especializadas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR que se emplea para la detección de secuencias de ADN específicas de hongos micotoxigénicos. Por otro lado, la identificación de micotoxinas se realiza dependiendo del requerimiento y se usan técnicas para la detección de micotoxinas que varían en su sensibilidad y especificidad. En el caso de análisis rutinarios y screening, los ELISAs competitivos son de uso común debido a su rapidez y facilidad de implementación; y estos ensayos inmunológicos permiten la detección cuantitativa de micotoxinas en muestras. Este procedimiento es el más recurrente, ya que no requiere procedimientos de limpieza y el extracto que contiene la posible micotoxina se analiza directamente [22].

Para una mayor sensibilidad y confirmación, la cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) es una técnica más avanzada y específica que posibilita la cuantificación y separación exacta de diversas micotoxinas. Estas, aunque más complejas, son fundamentales en investigaciones más detalladas y análisis específicos.

En conjunto, estos métodos permiten evaluar la presencia de hongos ambientales potencialmente productores de micotoxinas en harina de maíz, tanto de consumo humano y animal, tema que es de relevancia, ya que esta supondría un peligro de importancia mayor para la salud de la población.

II. Marco teórico

2.1. Maíz “*Zea mays*”

Perteneciente a la familia Poaceae (gramíneas), es un cultivo ancestral empleado en la alimentación humana y animal de manera esencial a lo largo de la historia [23]. Aunque es originario de Mesoamérica, su domesticación le ha permitido dispersarse por todo el mundo. Este proceso de expansión implicó que se adaptara a diversos tipos de climas, desde el tropical en el que se originó hasta condiciones más templadas, lo que ha generado cambios significativos en su morfología [24, 25]. Características como su altura, por ejemplo, pueden variar significativamente dependiendo de su variedad y las condiciones de cultivo [24]. Gracias a esta capacidad

de adaptación, ha llegado a desempeñar un papel principal en los sistemas agroalimentarios globales, llegando a ser un pilar de la seguridad alimentaria mundial [26].

En Perú, los registros fósiles señalan que el maíz fue domesticado y acondicionado a las características particulares del territorio por primera vez hace aproximadamente 8000 años. Las diversas condiciones ecológicas, suelos y climas, junto con la selección masiva inicial hecha por la cultura incaica, en la que categorizaban a los individuos según su fenotipo, condujo a la producción de una gran variedad de tipos de maíz [27]. En la actualidad, la distribución de los cultivos de este alimento abarca desde las tierras de los andes hasta las regiones costeras y la Amazonía. Además, su diversidad ha permitido que se pueda consumir en una amplia gama de productos, como chica, mote, tamales, y otros platos tradicionales que forman parte integral de la gastronomía peruana [24].

Dos de las variantes más utilizadas en el Perú son el maíz blanco y el maíz amarillo (*Anexo 2*), especialmente comercializados como harinas. Su amplio uso en el ambiente doméstico y su comercialización a pequeña escala, junto con particularidades en sus composiciones químicas y capacidad de almacenamiento, los convierten en objeto de interés en diversos campos, incluida la micotoxicología.

2.1.1. Características y composición de la harina del maíz blanco

Obtenida de la molienda de granos de maíz de color claro, se distingue por su textura suave y su sabor neutro. Su composición química incluye principalmente carbohidratos, proteínas y grasas en proporciones que varían según el procesamiento y la variedad de maíz utilizada [28]. La capacidad de almacenamiento de humedad de esta harina es un factor crítico a considerar en su calidad y durabilidad (Tabla 1).

2.1.2. Características y composición de la harina del maíz amarillo

Derivada de granos de maíz de color más intenso, presenta un perfil nutricional similar a la de maíz blanco, pero su coloración se debe a una

mayor concentración de carotenoides, como la zeaxantina y la luteína [28]. Estos compuestos no solo contribuyen al color distintivo del producto, sino que también pueden conferir beneficios para la salud debido a sus propiedades antioxidantes (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de harinas de maíz blanco y amarillo

| | Harina de maíz amarillo | Harina de maíz blanco |
|--------------------------------------|-------------------------|-----------------------|
| energía (Kcal) | 355 | 343 |
| Agua (g) | 13,5 | 12,7 |
| Proteínas (g) | 6,7 | 5,9 |
| Grasas Totales (g) | 4,8 | 4 |
| Carbohidratos totales (g) | 73,6 | 76,1 |
| Calcio (mg) | 6 | 5 |
| Fósforo (mg) | 267 | 249 |
| β -carotenos (μg) | 352 | 0 |
| Vitamina A (μg) | 61 | 1 |
| Vitamina C (μg) | 0,7 | 2,6 |

Fuente: Elaboración propia con base en la referencia [28].

2.2. Hongos filamentosos

Son organismos eucarióticos heterótrofos que se distinguen por la presencia de hifas, estructuras filamentosas formadas por una sucesión de células que constituyen el micelio [29]. Esta estructura no solo representa la forma invasiva observada en infecciones de origen fúngico, sino que, en ciertos casos, puede esporular dentro del tejido invadido, facilitando su proliferación [30].

Ecológicamente, desempeñan funciones esenciales en los ecosistemas, como el reciclaje de nutrientes, la cohesión del suelo, la provisión de agua y nutrientes a las plantas, el debilitamiento y la enfermedad de especies vegetales, el sustento de fauna, y la reproducción de artrópodos terrestres [31]. Además, su capacidad para producir enzimas extracelulares y ácidos

orgánicos los convierte en organismos de gran relevancia en las industrias médica y biotecnológica [29, 32].

2.2.1. *Aspergillus*: Este género de hongos perteneciente al orden Eurotiales, dentro de la clase Eurotiomycetes, cuenta con más de 300 especies. De estas, un aproximado de 20 han sido identificadas como agentes de infecciones oportunistas en seres humanos, de las cuales algunas son solo ocasionales [32], pero otras pueden llegar a ser mortales [33]. La mayoría de estos hongos filamentosos son saprófitos, es decir, obtienen energía y nutrientes en base a la descomposición de materia orgánica, sobre la que se asientan, viven y se desarrollan. Sin embargo, se sabe que para su crecimiento necesitan condiciones específicas, como una humedad relativa de entre 70-90% y un contenido de agua que oscile entre 15-20%, siendo la temperatura la variable que tiene un rango más amplio de variación, puesto que esta puede ir desde los 0°C hasta los 45°C [34]. Una de las particularidades de este género es que algunas especies poseen la capacidad de producir micotoxinas, como aflatoxinas (AF) por las especies *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* [35] y ocratoxinas A (OTA) por *A. niger*.

2.2.2. *Penicillium*: Este género de hongos perteneciente al orden Eurotiales, dentro de la clase Eurotiomycetes [36], tiene aproximadamente 500 representantes [37]. Estos hongos se pueden encontrar en diversos sustratos y hábitats, por lo que son considerados ubicuos [38]. Además, son saprofitos al igual que los del género *Aspergillus*. Sus representantes son reconocidos por su denso cepillar, como las estructuras de la esporocoinete. Los conidióforos son simples o ramificados y son terminados por los racimos de fialides en forma de botella. Aunque aún no se comprenda bien su importancia clínica [38], se ha comprobado que este género también causa daño al ser humano y animal, ya que son productores de micotoxinas [39], como *Penicillium verrucosum*, que produce ocratoxinas A [40].

2.2.3. *Fusarium*: Género perteneciente al orden Hypocreales, dentro de la clase Sordariomycetes, que agrupa a un gran número de especies [34]. Este género tiene distribución mundial y varios de sus representantes son patógenos de un gran número de cultivos, como el maíz (*Zea mays* L.), trigo (*Triticum* spp.) o cebada (*Hordeum vulgare* L.) [41]. También existen especies capaces de infectar a humanos y animales, por lo que se espera el aumento de fusariosis en pacientes, especialmente en los inmunocomprometidos [34]. Los representantes de dicho género también producen micotoxinas, específicamente, tricotecenos, fumonisinas y zearalenonas, las que han sido relacionadas con efectos cancerígenos, teratogénicos, estrogénicos, hemorrágicos, neurotóxicos, hepatotóxicos, mutagénicos e inmunosupresores en animales y humanos. Esto, junto a que *Fusarium* es el género más prevalente en cultivos, reafirma su impacto en la salud global [42]. Otro asunto de preocupación referente a *Fusarium* es que la taxonomía del género se basaba principalmente en criterios morfológicos y en el tipo de planta huésped, pero muchas especies presentan diferentes formas morfológicas, las cuales no siempre corresponden con sus grupos naturales. Por ello, diversos autores han utilizado criterios moleculares en la taxonomía de *Fusarium* basados en la secuenciación de diversos genes, lo que les ha permitido demostrar que las clásicas especies patógenas del género, como son *F. verticillioides* (*F. moniliforme*), *F. oxysporum* y *F. solani*, constituyen en realidad complejos de especies. Así se han podido diferenciar unas 70 especies involucradas en infecciones humanas, la mayoría de las cuales sin nombre específico por no ser reconocibles fenotípicamente [34].

2.3. Micotoxinas

Son metabolitos secundarios tóxicos producidos por algunas especies de hongos filamentosos [43]. Estos compuestos tienen una estructura policetónica, la cual se forma como resultado de reacciones de condensación que ocurren cuando se interrumpe la reducción de los grupos cetónicos durante la biosíntesis de ácidos grasos en los hongos

ambientales (mohos). Sin embargo, dicha composición solo se da bajo condiciones físicas, químicas y biológicas específicas. Normalmente, las micotoxinas aparecen en la fase exponencial o al inicio de la fase estacionaria del crecimiento de los mohos [44].

Aunque se han identificado alrededor de 500 tipos de micotoxinas en los últimos años, las que ponen en riesgo la seguridad alimentaria son las producidas por los géneros *Aspergillus*, *Claviceps*, *Alternaria*, *Penicillium* y *Fusarium* [45, 46]. Estos tipos de micotoxinas pueden contaminar alimentos, piensos (cereales) y materias primas utilizadas en su elaboración, lo que puede llevar a la micotoxicosis, un conjunto de enfermedades y trastornos perjudiciales tanto para animales como para humanos [43]. Por ejemplo, la Aflatoxina B1, propia del género *Aspergillus*, muestra efectos inmunotóxicos, hepatotóxicos, mutagénicos y teratogénicos en muchas especies animales [46].

Debido a la importancia clínica de las micotoxinas, es importante destacar que la presencia simultánea de varios tipos de estas en los alimentos puede potenciar sus efectos, aumentando su toxicidad a través de interacciones sinérgicas [44]. Además, pueden persistir en resaltar la importancia de medidas efectivas de control y prevención para mitigar los riesgos asociados con su consumo. Una revisión hecha por Eskola et al. en el 2019 estima que entre el 60% y 80% de los cultivos alimentarios mundiales están contaminados con micotoxinas, estimación que superó la dada por la FAO de 25% en ese mismo periodo. Esto, junto con el aumento de las temperaturas globales (aproximadamente 1°C), han supuesto un aumento del registro de micotoxinas en alimentos a cantidades no vistas previamente [47].

2.3.1. Aflatoxinas: Son un grupo de micotoxinas producidas por determinados hongos filamentosos del género *Aspergillus*, principalmente *A. flavus* y *A. parasiticus* [35, 48]. Los hongos que producen estas micotoxinas poseen gran afinidad por cereales y nueces, pudiendo aparecer en cualquier momento de la cadena de producción [47].

Además, tienen la capacidad de acumularse y persistir a pesar de ser expuestas a procedimientos como la cocción, el congelamiento, o incluso la digestión [34].

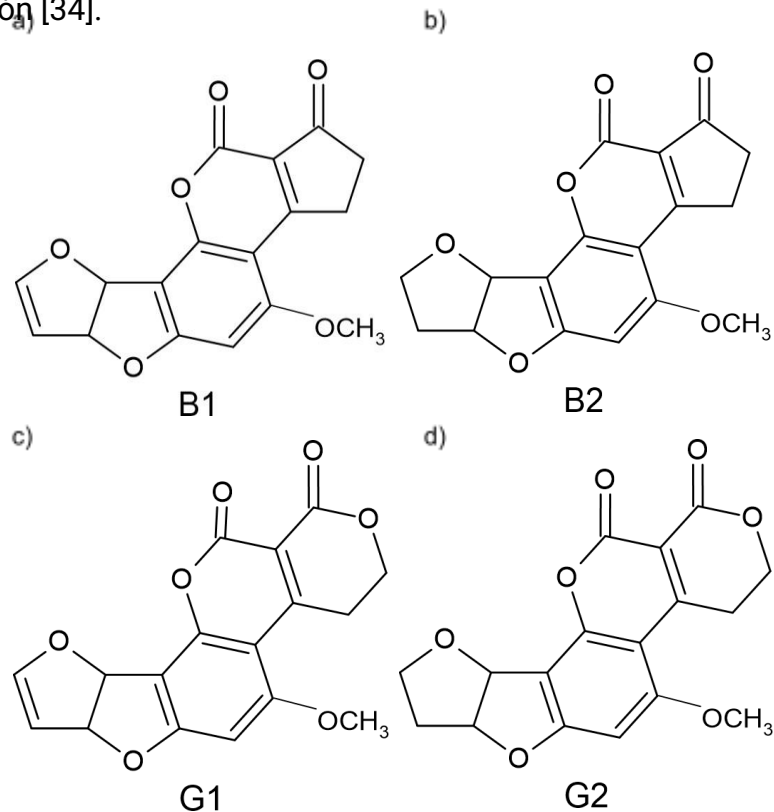


Figura 1. Estructura química de aflatoxinas a) B1, b) B2, c) G1 y d) G2.

Imagen de fuente propia elaborada en el programa ChemSketch.

En cuanto a su composición química, las aflatoxinas son compuestos complejos con una estructura básica que incluye un anillo difurano o tetrahydro-difurano unido a una cumarina con un anillo de cinco o seis átomos de carbono (Figura 1) [49]. En función de esta estructura, las aflatoxinas se agrupan en series, como la B (AFB1, AFB2, AFB2a), la G (AFG1 y AFG2), la M (AFM1, AFM2, AFM2a) y otros (AFP1, AFQ1 y AFL) [48, 50]. Las cepas toxigénicas de *A. flavus* generalmente producen aflatoxinas de la serie B, mientras que las cepas de *A. parasiticus* tienen la capacidad de producir aflatoxinas tanto de la serie B como de la G [47].

Entre estas micotoxinas, la Aflatoxina B1, la más dañina y carcinogénica, tiene la capacidad de suprimir el sistema inmunológico de los humanos y algunos animales [50]. Al inhibir la fagocitosis, además de dañar el ADN y

alterar la formación de proteínas [34]. A nivel del hígado, el citocromo p-450 activa la AFB1, convirtiéndola en AFB1 8,9-epóxido, molécula que posee efectos carcinogénicos. Por ello ha sido asociada con el carcinoma hepatocelular, el que conduce al cáncer de hígado. Debido a esto, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) la clasificó como carcinogénico del grupo 1 [34, 47]. La exposición crónica a dicha molécula se ha relacionado también con discapacidad congénita y retraso en el crecimiento de niños [47]. La exposición aguda, por otro lado, se ha asociado a enfermedades como la aflatoxicosis, no solo en humanos, sino también en ganado y animales domésticos [34, 49].

2.3.2. Ocratoxinas: Son producidas principalmente por hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, como *A. ocraceus*, de donde se origina su nombre, y *P. verrucosum*. Este tipo de micotoxinas se encuentra comúnmente en alimentos y productos agrícolas, como granos, café y vinos [6, 51], por lo que suponen un grave problema de salud pública.

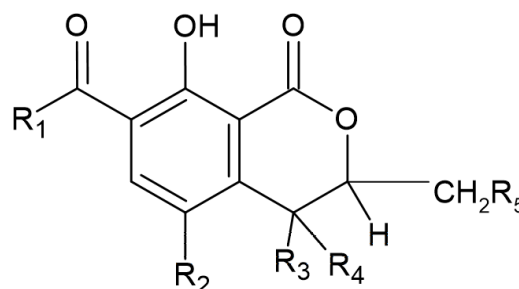


Figura 2. Estructura química de ocratoxinas.

Imagen de fuente propia elaborada en el programa ChemSketch.

Desde el punto de vista biosintético, están formadas por compuestos policétidos con un núcleo básico que contiene una molécula de isocumarina unida por un enlace amida a una L-fenilalanina [52]. Se clasifican en isoformas naturales, A, B, C y D, siendo la A la más común y tóxica [53].

La Ocratoxina A (OTA) se ha identificado como una toxina con efecto carcinogénico, inmunotóxico, teratogénico, embriotóxico, nefrotóxico y

hepatotóxico, etc [51, 54, 55]. Sin embargo, dicha toxicidad varía por características de los individuos, como sexo, edad, tipo celular, etc [56].

Respecto a su capacidad cancerígena, se ha demostrado que sus órganos diana son el riñón y el hígado en modelos ha sido clasificada por la IARC como un agente cancerígeno del grupo 2B, es decir, posible carcinogénico humano [6, 53, 54]. Se sospecha que este efecto está relacionado con un cambio a nivel genético [53] , pero estos resultados son aún contradictorios. Sin embargo, se mostró evidencia de formación de aductos de ADN después de la exposición crónica de OTA a ratas y la exposición subaguda a cerdos [56], por lo que esta micotoxina también se puede considerar genotóxica. Además, el efecto de la OTA sobre el sistema nervioso central está ganando más importancia debido a estudios in vitro e in vivo que lo relacionan con disfunciones neurológicas y conductuales [57].

OTA es termoestable, lo que contribuye a su prevalencia durante el procesamiento de alimentos a 80-121 °C. Esta característica, junto a su prevalencia en productos procesados y la presencia de bioacumulación en productos animales, supone un problema de seguridad alimentaria a gran escala [57].

2.3.3. Fumonisin: Son producidas principalmente por especies del género *Fusarium*, como *F. verticillioides* y *F. proliferatum* [58, 59], de *Alternaria*, como *A. alternata*, y *Aspergillus*, como *A. niger* [60]. Están presentes en todo el mundo, en especial en el maíz, el arroz, la cebada, y alimentos derivados [58, 61]. Su estructura química se caracteriza por ser una cadena aminopolihidroxil alquilo de 20 carbonos esterificada con 2 moléculas de ácido tricarbónico. Se clasifican en cuatro series: A, B, C y P [62]. Las más comunes son las de la serie B, las que se encuentran en el maíz contaminado. Dentro de esta serie, hay cuatro tipos: FB1, FB2, FB3 y FB4, diferenciados por la presencia de grupos hidroxilo en los carbonos 5 y 10 [58].

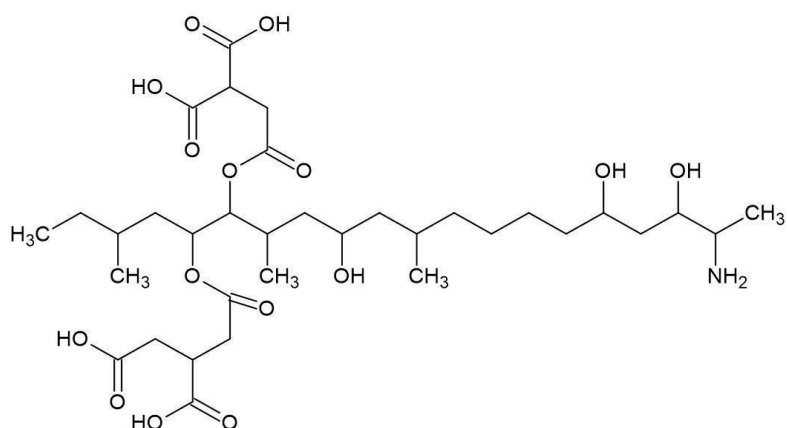


Figura 3. Estructura química de fumonisina B1.

Imagen de fuente propia elaborada en el programa ChemSketch.

Entre los diferentes tipos de fumonisinas tipo B, la FB1 es la más prevalente y tóxica, constituyendo el 70% del total de fumonisinas en los alimentos [58, 63]. En los animales, su exposición puede causar leucoencefalomalacia equina (ELEM) y toxicidad renal y hepática en roedores, con una mayor incidencia en las hembras. Además, en cerdos alimentados con maíz contaminado con FB1, se ha visto cuadros de edema pulmonar porcino (EPP) [58, 64]. En humanos, se está evaluando la posible correlación de esta micotoxina con el cáncer de esófago, enfermedades hepáticas y fallo renal [62]. Por la probabilidad de que posea efectos carcinógenos, es considerada como un posible carcinógeno humano, por lo que pertenece al grupo 2B según la IARC [61].

Debido a que se ha registrado un aumento de especies fúngicas productoras de fumonisinas [60] y se ha detectado una gran prevalencia de estas en alimentos a base de maíz [62], se ha considerado que la presencia de estas micotoxinas es un peligro para la seguridad alimentaria global.

2.4. Condiciones de crecimiento de los hongos filamentosos y producción de micotoxinas

Diversos factores influyen en el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas, entre los que se incluyen la temperatura, la humedad

relativa, el pH, la cepa del hongo, la actividad del agua y el tipo de sustrato [65]. Cuando la humedad y la temperatura se encuentran dentro de los rangos óptimos entre 70 a 100% y 25 a 30°C, respectivamente, los hongos pueden invadir la materia orgánica, ya sea en el campo, durante el proceso de secado de los granos o en su almacenamiento [66]. Por ejemplo, como se mencionó anteriormente, el género *Aspergillus* requiere una humedad relativa de entre 70 y 90 % y temperaturas que oscilan entre 0 y 45 °C para establecerse y crecer de manera óptima [34].

Por otro lado, los hongos higrófilos, como *Fusarium*, que requieren una humedad relativa superior al 90 % para su crecimiento, predominan en los cultivos. Después de la cosecha, géneros fúngicos mesófilos y xerófilos, como *Penicillium* y *Aspergillus*, germinan a una humedad relativa de entre 80 y 90 % [65].

2.4.1. Temperatura: Junto con la humedad relativa y la actividad del agua, estas condicionan el crecimiento y germinación de los hongos, así como la producción de micotoxinas. Por lo tanto, por sí misma, la temperatura no puede calificarse como un desencadenante universal de la actividad fúngica. A pesar de ello, se sabe que la mayoría de hongos mesófilos tienen capacidad de crecimiento en un rango término de entre 5-35 °C, siendo el óptimo entre 25-30°C. Por otro lado, hay especies psicrófilas, caracterizadas por crecer en ambientes con temperatura por debajo de los 20°C, y termófilas, comunes en ambientes con condiciones de temperaturas altas (> 45°C). Se ha determinado que las temperaturas óptimas promueven el crecimiento fúngico acelerando las reacciones bioquímicas propias de su desarrollo, por lo que, fuera de estas, la actividad enzimática se ralentiza o se detiene [65].

En cuanto a la producción de micotoxinas, para la mayoría de este tipo de hongos, el rango óptimo es parecido al rango óptimo de crecimiento (20-35°C). Sin embargo, se sabe que *Aspergillus flavus* puede crecer y producir micotoxinas en una temperatura de entre 15-44°C, pero en el caso de *A. carbonarius*, la temperatura se tiene que mantener entre 8-40°C para permitirle crecer y producir OTA [65].

2.4.2. Humedad relativa: Los hongos toxigénicos que invaden el campo pueden desarrollarse con una humedad relativa superior al 80% y un contenido de humedad entre el 22% y el 33%, produciendo toxinas antes de la cosecha o incluso antes de que los granos sean trillados. Por otro lado, los hongos de almacenamiento suelen aparecer durante esta etapa y requieren una humedad relativa entre el 70% y el 90% para su desarrollo [67]. En general, se considera favorable para el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas que la humedad relativa se mantenga entre el 88% y el 95% [65]. Como se ha mencionado, existe una alta correlación entre esta variable y las temperaturas elevadas, siendo ambos factores responsables de manera sinérgica de la producción de micotoxinas, como la fumonisina B1 (FB1) [68].

2.4.3. Actividad del agua: La actividad del agua (a_w) se refiere a la cantidad de agua disponible para que los organismos crezcan [69]. Esta variable ha demostrado tener un impacto significativo en el crecimiento de los hongos y la producción de micotoxinas [65]. En particular, en el caso de *Aspergillus flavus*, se ha determinado que las condiciones óptimas para su desarrollo son una actividad del agua entre 0.92 y 0.96 a_w , junto con una temperatura de 28-37°C. Una baja actividad del agua afecta diversas características del hongo, como el tamaño de las esporas, la tasa de germinación, la morfología de los hongos y la integridad de la membrana [69].

Un estudio que investigó la relación entre la toxigenicidad de *A. flavus* y la actividad del agua utilizando transcriptómica confirmó que esta variable influye en la biosíntesis de aflatoxinas. De manera similar, *A. parasiticus* mostró un comportamiento comparable [69].

2.4.4. pH: El medio que rodea a los hongos cumple un papel importante en su desarrollo y en la posterior producción de micotoxinas. A pesar de que algunas especies de géneros fúngicos como *Aspergillus* y *Penicillium* pueden modular el pH circundante por medio de la secreción de metabolitos, los hongos que no poseen esta capacidad se ven afectados por esta característica. Esto se debe a que el pH influye en las

interacciones entre la actividad del agua y la temperatura, afectando procesos a nivel metabólicos involucrados en la esporulación y morfogénesis [65].

Además, se ha demostrado que también puede condicionar la producción de micotoxinas, como las OTA en *Penicillium verrucosum*. En términos generales, se sabe que la producción de aflatoxinas necesita un pH de 4.0. Por otro lado, la producción de OTA por *Aspergillus ocraceus* parece ser mayor en cuanto el del medio es menor. Por parte de las fumonisinas, la FB1 no es estable en un medio alcalino, por lo que necesita un medio de entre 4.0-5.0 de pH para producirse [65].

2.4.5. Sustrato: La razón específica por la que un tipo de hongo micotoxigénico predomina en un sustrato específico no está claro, pero, debido a su amplio requerimiento de carbono y nitrógeno para crecer, son frecuentes en alimentos ricos en carbohidratos. Sin embargo, el hecho de que el sustrato promueva su crecimiento no significa que también promueva la producción de micotoxinas, ya que estos hongos requieren también de otras condiciones como el pH y la luz. Si el sustrato posee azúcares simples, como la glucosa, sacarosa y maltosa, se facilitará la producción de estos metabolitos. Esto se respalda en que se ha observado que un aumento en la concentración de azúcares solubles promueve la producción de AFB1 en cultivo celular. De igual manera, se ha podido relacionar el aumento de la producción de AFB1 por *A. flavus* con el aumento de contenido de azúcar en el medio [65, 70].

III. Hipótesis de investigación

Si las harinas de maíz comercializadas en los mercados mayoristas de Lima Metropolitana destinadas al consumo humano y animal presentan hongos micotoxigénicos, entonces podrían representar un riesgo potencial para la salud pública y animal.

IV. Objetivos

4.1. Objetivo general

- Determinar la presencia de potenciales hongos micotoxigénicos en harinas de maíz destinadas para consumo humano y animal en mercados mayoristas en Lima Metropolitana.

4.2. Objetivos específicos

- Identificar hongos contaminantes en las harinas de maíz mediante descripción microscópica de sus estructuras fúngicas.
- Identificar y cuantificar las principales micotoxinas contaminantes en las harinas de los mercados en Lima Metropolitana mediante ELISAs competitivo de los kits de extracción de Veratox MAX.
- Establecer la relación de los hongos aislados y la presencia de micotoxinas detectadas y cuantificadas.

V. Materiales y métodos

5.1. Lugar de muestreo

Se seleccionaron diez mercados en diferentes áreas de Lima Metropolitana, teniendo en cuenta la diversidad demográfica y geográfica de la ciudad. Estos fueron Unicachi de Pro (Los Olivos), Unicachi de Comas (Comas), Mercado Los Incas (Independencia), Mercado de Caquetá (San Martín de Porres), Mercado Central (Cercado de Lima), Gran Mercado Mayorista de Lima (Santa Anita), Mercado Mayorista de Canto Grande (San Juan de Lurigancho), Unicachi Sur (Villa el Salvador), Mercado Central Nro 2 (Villa María del Triunfo) y Mercado N° 2 de Surquillo (Surquillo). Estos lugares, al ser centros mayoristas, son responsables de abastecer posteriormente a los micro comercios.

5.2. Selección de muestras y procesamiento

Para garantizar la representatividad de las muestras, se siguieron los siguientes pasos:

5.2.1. Muestreo en mercados y toma de datos ambientales

Se utilizó la fórmula de Cochran W.G. [71] para determinar que el tamaño adecuado de la muestra era de 37, asumiendo una población infinita (*Anexo 3*). Dado que esta fórmula permite calcular el tamaño mínimo necesario para obtener resultados significativos y representativos de la población evaluada, se decidió recolectar 40 muestras de cada tipo de harina de maíz (para consumo humano y animal), sumando un total de 80 muestras. Cada muestra pesó 600 gramos para garantizar la replicabilidad de los resultados.

En cada locación se identificaron los puntos de venta de harina de maíz disponibles para ambos tipos de consumo. Una vez adquiridas, las muestras fueron selladas herméticamente en bolsas tipo Ziploc, codificadas según número y tipo de harina, y almacenadas a 4°C en cajas de tecnopor hasta su traslado al laboratorio. Por cada mercado, se compraron 4 muestras de harina de maíz para consumo humano y 4 para consumo animal de forma equitativa.

5.2.2. Criterios de selección de muestras

Se seleccionaron al azar, siendo cada una de distintos puestos en cada mercado, asegurando así una distribución homogénea a lo largo de la jornada de compras.

Se tuvo en cuenta consideraciones planteadas por el Codex Alimentarius para evaluar la apariencia, olor y la limpieza del producto para garantizar que todas las muestras estuvieran dentro de los estándares de consumo [72]. La harina de maíz podía ser blanca o amarilla, ya que eso dependía de la materia prima con la que se hizo, como se muestra en el *Anexo 2*. Visualmente, se evitó los productos con contaminantes [73] y de colores diferentes a los mencionados.

5.2.3. Toma de datos ambientales

La temperatura ambiente y la humedad relativa de los mercados se registraron el día del muestreo utilizando un termohigrómetro digital con sonda HTC-2 de la marca Philips.

5.2.4. Etiquetado

Cada muestra se etiquetó de manera única según se indica en la tabla del *Anexo 4*, con información que incluye el lugar del mercado, el nombre del mercado, la fecha del muestreo y el tipo de harina, para consumo humano (H) o animal (A).

5.2.5. Almacenamiento de muestras

Las muestras se almacenaron en una conservadora TORREY modelo R16-260 a 5°C en el laboratorio previamente al análisis.

5.3. Preparación de diluciones

Se inició el análisis de muestras siguiendo la recomendación de protocolos estándar de manipulación de muestras según el “Manual de Análisis microbiológicos de Alimentos” de DIGESA [74] y el Capítulo 18 sobre Levaduras, Mohos y Micotoxinas del Manual de Análisis Bacteriológico (BAM) de la FDA [75] para garantizar la integridad de las mismas.

A partir de cada una de las muestras, se tomaron 25 gramos para realizar diluciones decimales seriadas utilizando soluciones de agua peptona (AP) al 0,1% (p/v) estériles [75].

Como se muestra en el *Anexo 5*, la primera dilución fue con 225 ml de AP, y las siguientes fueron 1 ml + 9 ml de 0,1% de AP, hasta la dilución 10^{-6} . La primera dilución fue homogeneizada en el homogeneizador STOMACHER-400 CIRCULATOR por 2 minutos, y las siguientes en un vortex marca Scientific Industries SI™ modelo Vortex-Genie™ 2, por 45 segundos.

5.4. Aislamiento y cuantificación de colonias

Se utilizó el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA) + cloranfenicol 5% debido a su capacidad de favorecer el crecimiento y desarrollo de una amplia variedad de hongos filamentosos, además de evitar el crecimiento bacteriano por el medicamento agregado [75]. Se empleó el método de siembra por placa extendida, como se muestra en el *Anexo 5* y se explica a continuación:

- 1) Se tomó una alícuota de 0.1 mL de la muestra y se colocó en la placa Petri estéril con el medio PDA + cloranfenicol 5% sólido.
- 2) Con la ayuda de un asa de siembra de vidrio en forma de “L” esterilizada, se procedió a extender la muestra inoculada, Se realizó triplicados de placa por cada dilución.
- 3) Se incubaron a una temperatura controlada de 25°C en una incubadora marca MEMMERT modelo IF260 plus.

Se examinaron las colonias y se contaron en las diferentes placas en el rango de 10-150. Los resultados se expresaron como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g).

Para aislar las colonias de hongos de manera individual, se seleccionaron colonias representativas de cada tipo observado en las placas iniciales. Estas se transfirieron a placas Petri con medio PDA suplementado con 5% de cloranfenicol, con el objetivo de facilitar su posterior identificación.

5.5 Descripción morfológica

Se identificaron las muestras mediante taxonomía clásica usando la guía taxonómica *Food and Indoor Fungi* de Samson et al. [76].

5.5.1. Descripción macroscópica

Después de la incubación de las placas, se observó y analizó las colonias de hongos en un estereoscopio de la marca Nikon modelo SMZ445.

Se examinaron las placas para identificar las colonias de hongos puras y caracterizarlas por su forma, tamaño, color, textura, y cualquier otra característica macroscópica relevante. Estas observaciones se registraron junto con el conteo y su distribución en la superficie del medio de cultivo.

5.5.2. Descripción microscópica

Se llevó a cabo una caracterización morfológica adicional de las colonias mediante el montaje del micelio en portaobjetos, utilizando tinción con azul de lactofenol. Las observaciones se realizaron con un microscopio óptico Nikon TS100, empleando un aumento de 400X para estructuras generales y 1000X para el análisis detallado de las esporas.

Durante esta etapa, se describieron las estructuras microscópicas, incluyendo forma, color y tamaño de las esporas, tipo de micelio, número de fiálides, con el propósito de registrar las características morfológicas de los principales hongos micotoxigénicos, como *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. y *Fusarium* spp. [76] ver Anexo 6.

5.6. Análisis de micotoxinas

Las muestras aisladas clasificadas como posibles productoras de micotoxinas sirvieron como indicador para seleccionar las muestras de harina que puedan presentar aflatoxinas, ocratoxinas o fumonisinas. Estas muestras se sometieron a un análisis con el uso de ELISAs competitivo mediante los kits de extracción de Veratox MAX [77, 78, 79].

5.6.1. Preparación de las muestras

Se siguió las indicaciones del fabricante del kit de extracción. Se obtuvo una muestra representativa de cada muestra (>100 g) y se molió hasta que al menos el 95% del material pudiera pasar por un tamiz de malla 20 µm [77, 78, 79].

5.6.2. Extracción

Se siguieron las instrucciones de los manuales de los kits de Veratox MAX [77, 78, 79].

1. Pesar 10 g \pm 0.1 g de muestra en un recipiente. Verter el contenido de 1 sobre de extracción acuosa MAX 2 en el recipiente.
2. Agregar 50 mL de agua destilada o desionizada sobre la muestra y el polvo de extracción.
3. Agitar vigorosamente, ya sea con la mano o mediante medios mecánicos, durante 3 minutos. Dejar que la muestra se asiente durante 10 minutos.
4. Filtrar el extracto utilizando una jeringa de filtro o a través de un papel de filtro Whatman #4 para obtener al menos 3 mL de filtrado de muestra en un microtubo de recolección de muestra. Transferir 1 mL de la muestra a un tubo de microcentrífuga de 2.0 mL y centrifugar por 30 segundos utilizando una microcentrífuga.

5.6.3. Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA)

Los reactivos fueron puestos previamente a temperatura ambiente (18-22°C) durante al menos dos horas antes. Se procedió a hacer la preparación de las ELISAs según las indicaciones del fabricante [77, 78, 79].

1. Extraer 1 pocillo de la mezcla señalada en color rojo para cada muestra que se someterá a análisis, así como 4 pozos también marcados en rojo para los controles. Posteriormente, disponer estos pocillos en el soporte destinado para ellos.
2. Sacar un número igual de pozos recubiertos con anticuerpos. Devolver los pozos de anticuerpos que no se

utilizarán de inmediato al paquete de papel de aluminio con desecante. Volver a sellar el paquete de papel de aluminio para proteger los anticuerpos. Marcar un extremo de la tira con un "1" y colocar la tira en el soporte para pozos con el extremo marcado a la derecha. No marcar el interior ni la parte inferior de los pozos.

3. Mezclar cada reactivo agitando la botella del reactivo antes de usarlo.
4. Colocar 100 μ L de conjugado de la botella marcada en azul en cada pocillo de mezcla marcado en rojo.
5. Utilizando una punta nueva de pipeta para cada uno, transferir 100 μ L los de controles y las muestras a sus respectivos pozos de mezcla marcados en rojo como se describe a continuación.

| | | | | | | | | | | | | |
|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--------|
| 0 | 5 | 15 | 50 | S1 | S2 | S3 | S4 | S5 | S6 | S7 | S8 | Tira 1 |
| S9 | S10 | S11 | S12 | S13 | S14 | S15 | S16 | S17 | S18 | S19 | S20 | Tira 2 |

6. Con una micropipeta multicanal de 12, mezclar el líquido en los pozos pipeteando 5 veces. Transferir 100 μ L a los pozos recubiertos con anticuerpos. Desechar los pozos de mezcla marcados en rojo.
7. Configurar el temporizador durante 5 minutos, mezclando los pozos durante los primeros 30 segundos de las incubaciones a temperatura ambiente deslizando el soporte de microcubetas hacia adelante y hacia atrás sobre una superficie plana sin salpicar reactivos desde los pozos logrando una homogenización.
8. Agitar los contenidos de los pozos de anticuerpos. Llenar los pozos con agua destilada o desionizada y vuelque el agua. Repetir este paso 5 veces, luego girar los pozos boca abajo y golpearlos en una toalla de papel hasta que se haya eliminado el agua restante.

9. Verter el volumen necesario de sustrato de la botella marcada en verde en el banco de reactivos marcado en verde.
10. Con nuevas puntas en la micropipeta multicanal de 12, coleccionar y pipetear 100 μ L de sustrato en cada pozo.
11. Configurar el temporizador durante 5 minutos, mezclando los pozos durante los primeros 30 segundos deslizando hacia adelante y hacia atrás sobre una superficie plana. Desechar el sustrato restante y enjuagar el barco de reactivos con agua.
12. Verter la solución de Red Stop de la botella marcada en rojo en el reservorio de reactivos marcado en rojo.
13. Pipetear 100 μ L de solución de Red Stop para cada pozo. Homogeneizar en una superficie plana realizando movimientos hacia adelante y hacia atrás. Desechar las puntas.
14. Limpiar el fondo de los micropozos con un paño o toalla seca y leer con un filtro de 650 nm en un lector de microcubetas. Las burbujas de aire deben eliminarse, ya que podrían afectar los resultados analíticos. Los resultados estarán listos para su lectura en 20 minutos después de la adición de la solución de detención roja.
15. Calcular las absorbancias de las muestras en el lector de microcubetas Lector de ELISA elx 800. Posteriormente analizar los resultados de las absorbancias en el software Veratox 3.7.0, verificando que la curva de calibración de los controles y/o estándares logren un coeficiente de determinación (R) cercano a 1 y no menos a 0.970. Una vez validado el coeficiente, registrar los resultados obtenido en el software en ppb (μ g/kg), si es el caso de aflatoxinas los controles van de 0-15 ppb y ocratoxinas de

0-25 ppb; o ppm (mg/kg) como en el caso de las fumonisinas, que los controles van de 0-6 ppb.

5.6.4. Clasificación de muestras

Teniendo en cuenta los umbrales mencionados en cada kit para determinar los límites máximos permisibles de cada micotoxina, se clasificaron las muestras en positivas y negativas.

5.7. Análisis estadístico

Se evaluó la normalidad de los datos mediante el test de Shapiro-Wilk para determinar qué pruebas paramétricas o no paramétricas eran las propicias para el análisis de las concentraciones de micotoxinas. En caso de que los datos siguieran una distribución normal, se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) para comparar las concentraciones de cada micotoxina entre las muestras de los diferentes mercados y para evaluar las diferencias según el tipo de consumo al que estaba destinada la harina. En aquellos casos donde no se cumplió el supuesto de normalidad, se optó por pruebas no paramétricas. Para comparar las concentraciones entre los mercados se empleó la prueba de Kruskal-Wallis, y para evaluar las diferencias según el tipo de consumo, la prueba de Mann-Whitney. Todos los análisis fueron realizados con un nivel de significancia de 0.05.

VI. Resultados

6.1. Identificación taxonómica macroscópica y microscópica de los hongos contaminantes en las harinas de maíz

A partir de los cultivos realizados en PDA, se logró identificar las especies fúngicas *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum* y *Fusarium moniliforme*. Las características macroscópicas y microscópicas observadas en estas especies, como la coloración de la placa, las estructuras y los patrones de formación de esporas, se pueden evidenciar a continuación para distinguir su morfología.

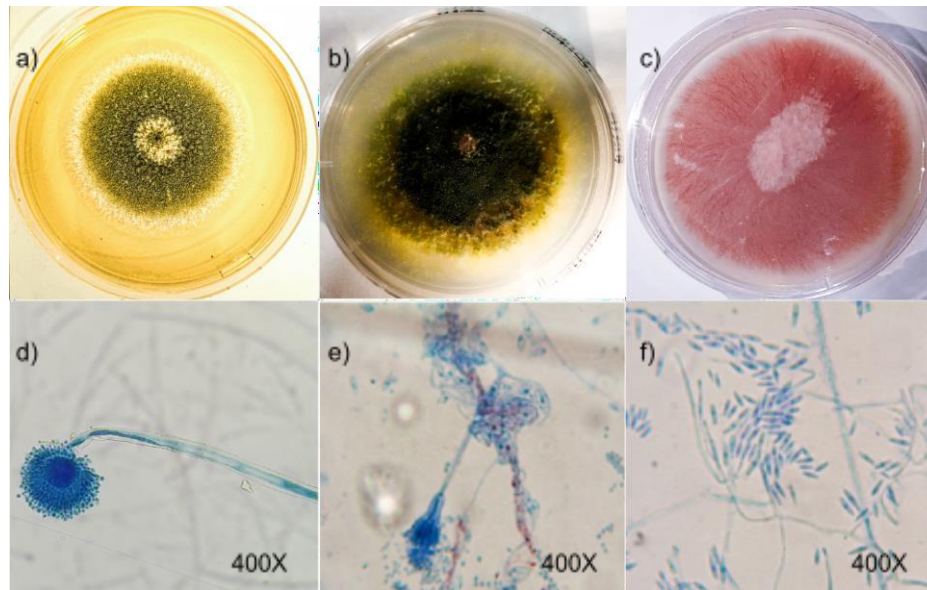


Figura 4. Fotografías macroscópicas (a,b,c) y microscópicas (d,e,f) de *Aspergillus flavus* (a,d), *Penicillium verrucosum* (b,e) y *Fusarium moniliforme* (c,f) a 400X.
(Fuente: imagen propia).

En el análisis de las muestras de harinas aisladas que fueron cultivadas en medio de cultivo PDA + cloranfenicol al 5%, se identificaron las tres especies fúngicas principales: *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum* y *Fusarium moniliforme*. En su aspecto macroscópico, las colonias de *A. flavus* mostraron una textura algodonosa y un color verde oliva inicial que evolucionaron hacia amarillo verdoso conforme avanzó la incubación (figura 4a). En cuanto al ámbito microscópico (figura 4d) se utilizó la guía taxonómica Food and Indoor Fungi de Samson et al., las cabezas conidiales de *A. flavus* se observaron predominantemente radiadas, con vesículas subesféricas de 10–20 μm de diámetro. Los conidios, de forma globosa y con una superficie rugosa, variaron en tamaño entre 3 y 5 μm , características que lo clasifican en el género *Aspergillus* dentro de la familia *Trichocomaceae*. Las especies de *Penicillium* aisladas presentaron colonias macroscópicamente aterciopeladas, con colores que oscilaron entre verde azulado y tonos grisáceos, dependiendo del tiempo de incubación (figura 4b). Desde una perspectiva microscópica (figura 4e), *Penicillium verrucosum* mostró conidióforos ramificados en forma de pincel, con fiáldes dispuestas en verticilos. Los conidios fueron unicelulares, de forma elipsoidal o globosa, y presentaron tamaños entre 2.5 y 5 μm . Finalmente, *Fusarium moniliforme* formó colonias

macroscópicamente algodonosas, de color blanco a rosado salmón (figura 4c). En el análisis microscópico (figura 4f), se observaron macroconidios fusiformes, septados, con paredes lisas y tamaños que variaron entre 20 y 35 μm . Los microconidios, de forma ovalada, se agruparon en cadenas cortas o cabezales falsos, con tamaños que oscilaron entre 5 y 8 μm .

6.2. Condiciones medioambientales durante la toma de muestras

Durante la recolección de muestras en cada uno de los mercados, se registraron in situ los valores de temperatura y humedad utilizando un termohigrómetro digital. Estos datos permiten tener un conocimiento sobre las condiciones de almacenamiento de los productos al momento del muestreo. En la Tabla 2 se presentan estos datos, donde se observa que las temperaturas registradas oscilan entre 24.2 y 29.1 $^{\circ}\text{C}$, mientras que la humedad relativa varía entre 72% y 82%.

Tabla 2. Temperatura y humedad relativa de los mercados en los días de muestreo.

| Día | Mercado | T ($^{\circ}\text{C}$) | Humedad relativa (%) |
|-----|-----------------------------------|--------------------------|----------------------|
| 1 | Unicachi PRO | 26.5 $^{\circ}$ | 80% |
| 2 | Unicachi Comas | 27.8 $^{\circ}$ | 75% |
| 3 | Gran mercado mayorista de Lima | 26.2 $^{\circ}$ | 79% |
| 4 | Mercado Caquetá | 28.9 $^{\circ}$ | 81% |
| 5 | Mercado Mayorista de Canto grande | 27.3 $^{\circ}$ | 74% |
| 6 | Unicachi SUR | 25.6 $^{\circ}$ | 75% |
| 7 | Mercado Central Nro 2 | 29.1 $^{\circ}$ | 79% |
| 8 | Mercado central | 28.3 $^{\circ}$ | 82% |
| 9 | Mercado Los Incas | 24.2 $^{\circ}$ | 72% |
| 10 | Mercado N°2 de Surquillo | 26.1 $^{\circ}$ | 82% |

6.3. Análisis de micotoxinas

En términos generales, las concentraciones promedio y las desviaciones estándar de las tres micotoxinas evaluadas han sido mayores en las harinas destinadas al consumo humano que en aquellas destinadas al

consumo animal (Tabla 3). Los valores detallados de las concentraciones se presentan en el *Anexo 7*, mientras que los boxplots correspondientes se encuentran en los *Anexos 8 y 9*.

Tabla 3. Promedios y desviaciones estándar de las concentraciones de micotoxinas en harinas destinadas a consumo humano y animal.

| Tipo de consumo | Aflatoxinas | | Ocratoxinas | | Fumonisinias | |
|-----------------|-------------|------------|-------------|------------|--------------|------------|
| | Promedio | Desv. Est. | Promedio | Desv. Est. | Promedio | Desv. Est. |
| Humano | 9.509 | 4.034 | 0.601 | 1.094 | 0.347 | 0.721 |
| Animal | 7.565 | 3.739 | 0.332 | 0.365 | 0.275 | 0.582 |

$n_{humana}=40$ $n_{animal}=40$

La totalidad de las cuarenta harinas analizadas para consumo humano resultaron positivas para aflatoxinas (100%), cuatro para ocratoxinas (10%) y ocho para fumonisinias (20%). En contraste, el análisis de las cuarenta harinas destinadas a consumo animal reveló que treinta y nueve contenían aflatoxinas (97.5%), cero dieron positivo para ocratoxinas (0%) y ocho para fumonisinias (20%) (Tabla 4).

Tabla 4. Resumen de muestras positivas por micotoxina y por tipo de consumo.

| Micotoxina | Harina | n° Positivas/n° muestras totales | Muestras Positivas |
|--------------|--------|----------------------------------|--|
| Aflatoxinas | Humano | 40/40 | M1–M40 |
| | Animal | 39/40 | M41–M80 (excepto M54) |
| Ocratoxinas | Humano | 4/40 | M21, M22, M23, M24 |
| | Animal | 0/40 | Ninguna |
| Fumonisinias | Humano | 8/40 | M5, M6, M7, M8, M15, M16, M21, M22 |
| | Animal | 8/40 | M45, M46, M47, M48, M55, M56, M61, M62 |

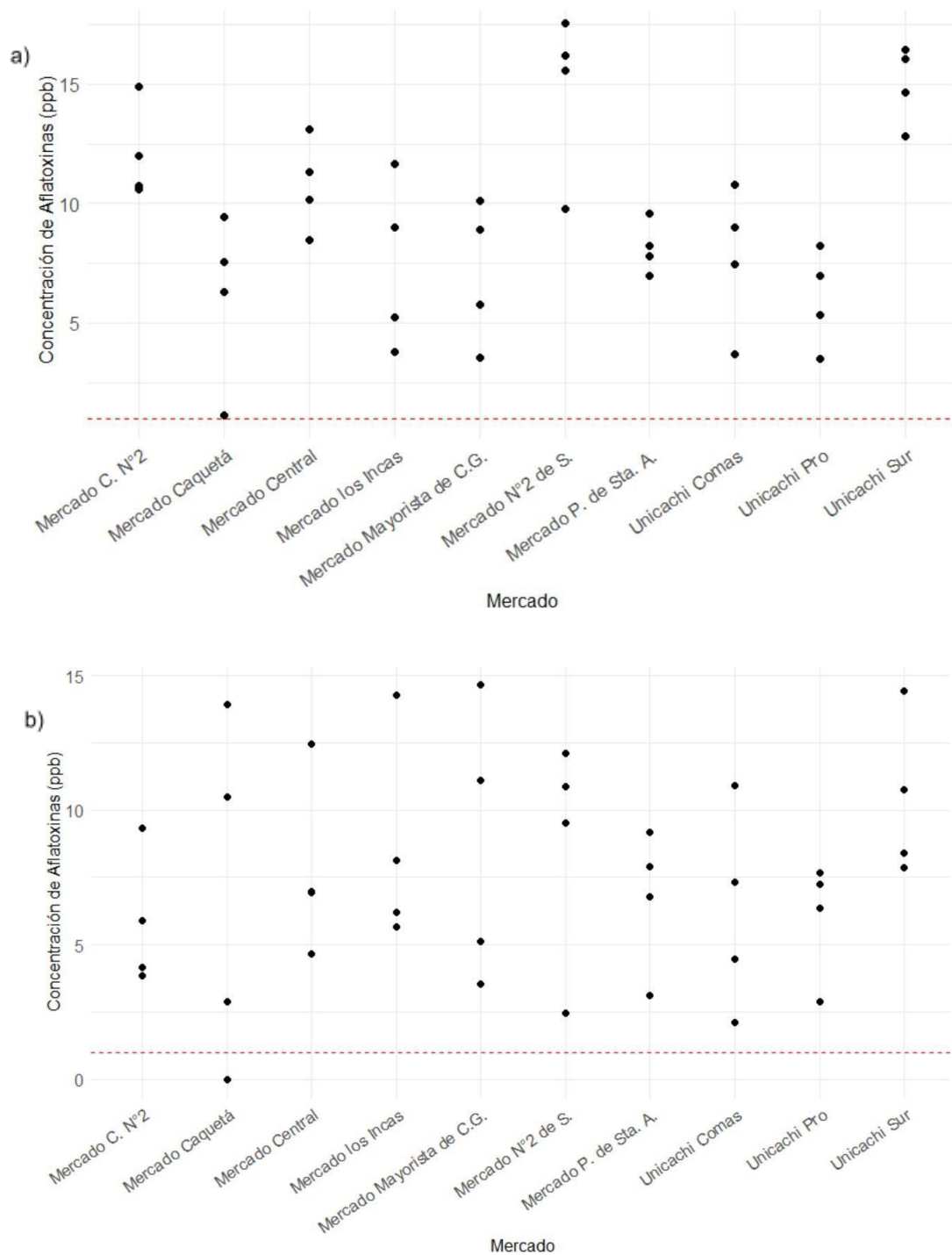


Gráfico 1. Concentraciones de aflatoxinas en a) harinas de maíz destinadas al consumo humano y b) harinas de maíz destinadas al consumo animal. La línea roja indica el límite de detección para clasificar las muestras como positivas, establecido en ≥ 1 ppb. SN2: N°2 de Surquillo, CN2: Central N°2.

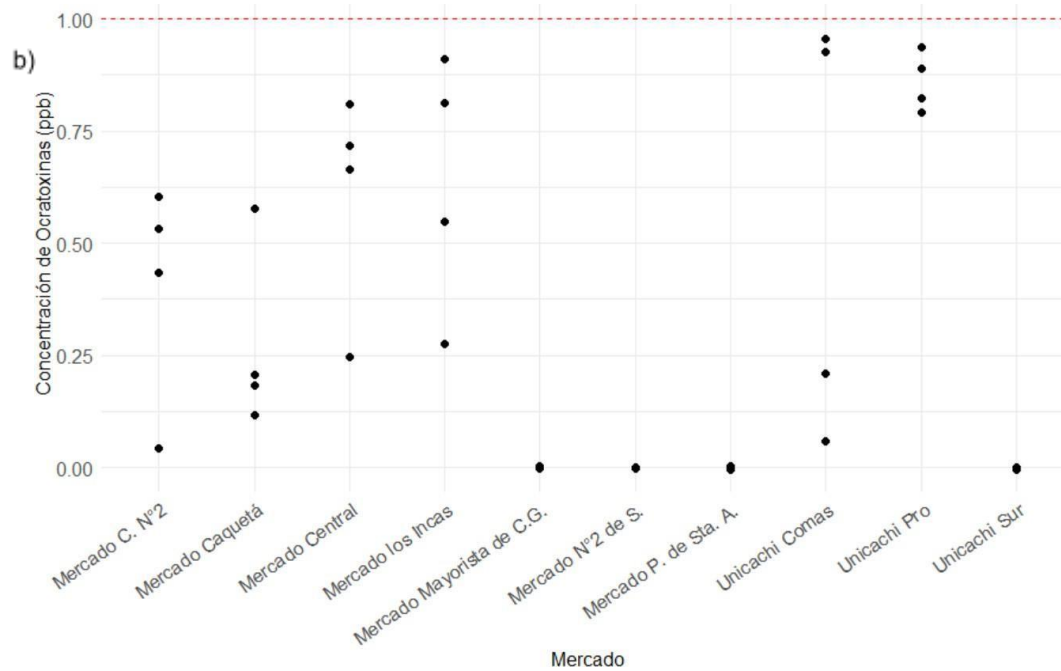
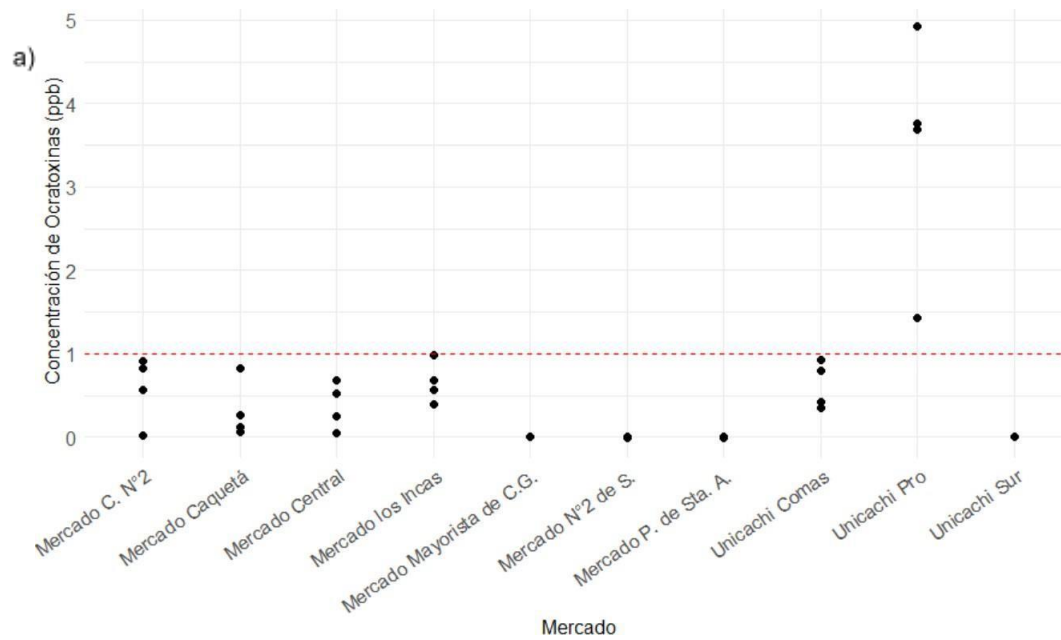


Gráfico 2. Concentraciones de ocratoxinas en a) harinas de maíz destinadas al consumo humano y b) harinas de maíz destinadas al consumo animal. La línea roja indica el límite de detección para clasificar las muestras como positivas, establecido en ≥ 1 ppb. SN2: N°2 de Surquillo, CN2: Central N°2.

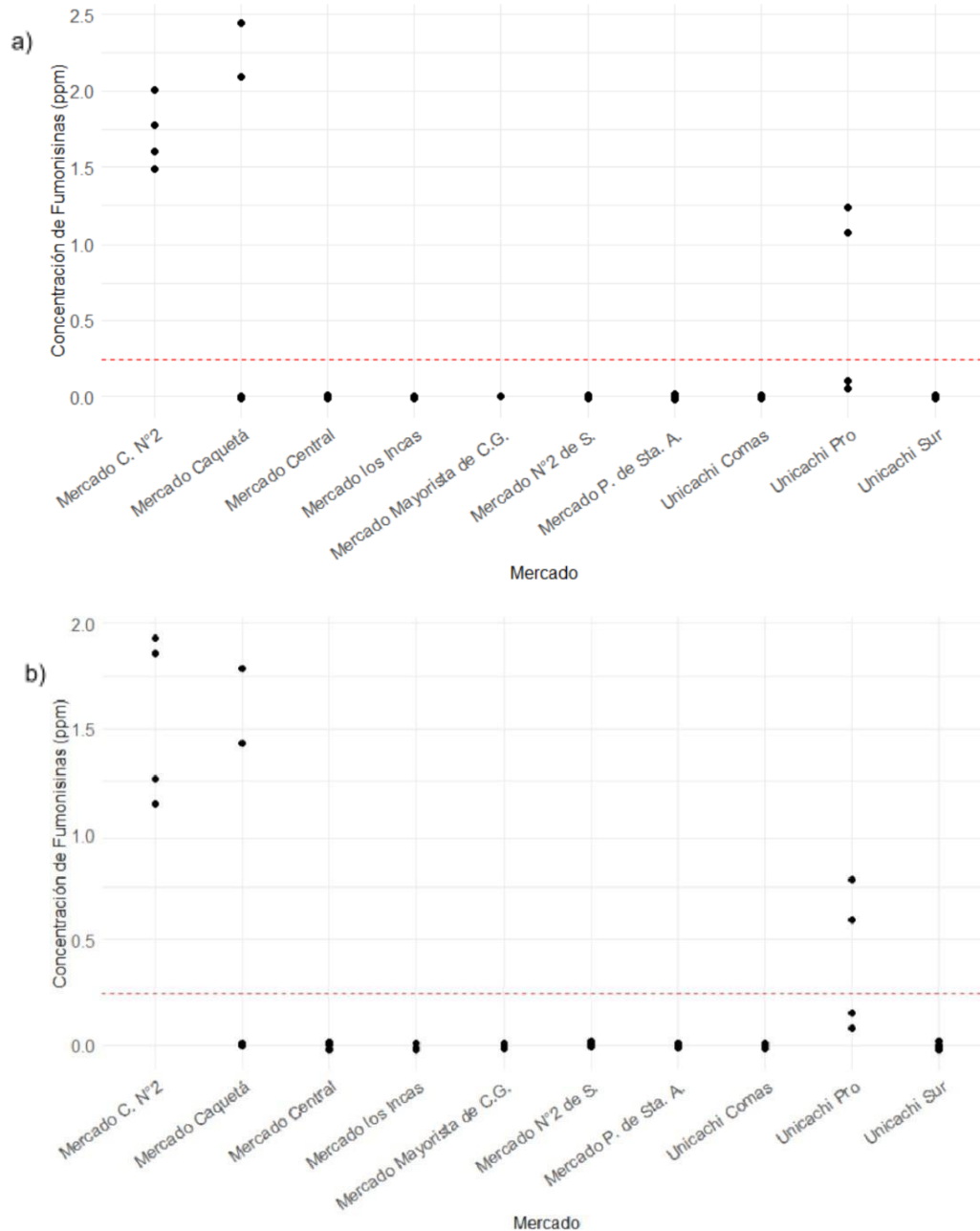


Gráfico 3. Concentraciones de fumonisinas en a) harinas de maíz destinadas al consumo humano y b) harinas de maíz destinadas al consumo animal. La línea roja indica el límite de detección para clasificar las muestras como positivas, establecido en ≥ 0.25 ppm. SN2: N°2 de Surquillo, CN2: Central N°2.

Los mercados con las concentraciones promedio más altas de aflatoxinas en harinas destinadas al consumo humano fueron el Mercado N°2 de Surquillo y Unicachi Sur, siendo este último el que presentó menor variabilidad. Por el contrario, en las harinas de consumo animal no se

observaron diferencias claras en las concentraciones de aflatoxinas entre los mercados (Gráfico 1).

En cuanto a las ocratoxinas, las muestras de harinas de consumo humano provenientes de Unicachi Pro registraron la mayor concentración, acompañada de una alta variabilidad. Para las harinas de consumo animal, las muestras del mismo mercado presentaron también las mayores concentraciones de ocratoxinas, aunque con una variabilidad mucho menor (Gráfico 2).

Respecto a las fumonisinas en harinas de consumo humano, aunque el Mercado de Caquetá registró la muestra con la concentración más alta, esta mostró una gran disparidad con respecto al resto de las muestras del mismo mercado. En las harinas de consumo animal, el Mercado Central N°2 presentó las mayores concentraciones promedio de fumonisinas, con una variabilidad baja (Gráfico 3).

A través del test de Shapiro-Wilk, se determinó que las concentraciones de aflatoxinas, tanto de forma global como separadas por tipo de consumo, seguían una distribución normal. En contraste, las concentraciones de fumonisinas y ocratoxinas no cumplían con este criterio (*Anexos 10-12*). Por esta razón, se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para las aflatoxinas y pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis y Mann-Whitney) para las otras dos micotoxinas, con el objetivo de evaluar diferencias significativas entre los mercados y según el destino de consumo de las harinas. En las harinas destinadas al consumo humano, el ANOVA indicó diferencias significativas entre mercados en las concentraciones de aflatoxinas ($p < 0.001$). Por otro lado, en las harinas destinadas al consumo animal, el ANOVA no encontró diferencias significativas entre mercados para esta micotoxina ($p = 0.811$) (*Anexo 13*). Las pruebas de Kruskal-Wallis, aplicadas a las fumonisinas y ocratoxinas, revelaron diferencias significativas entre mercados tanto en las harinas de consumo humano como en las de consumo animal ($p < 0.001$) (*Anexos 14 y 15*). El ANOVA y las pruebas de Mann-Whitney realizadas para determinar diferencias generales en las concentraciones

de las tres micotoxinas según el destino de consumo indicaron que solo existían diferencias significativas en el caso de las aflatoxinas ($p = 0.0283$) (Anexos 13 y 16).

VII. Discusión

El análisis macroscópico y microscópico permitió identificar a *Aspergillus flavus*, *Penicillium verrucosum* y *Fusarium moniliforme* como los principales hongos contaminantes en las harinas de maíz destinadas al consumo humano y animal. Estos resultados coinciden con investigaciones previas realizadas en otros países. Por ejemplo, Asa et al. [80] reportaron, en mercados locales de Abidján, una prevalencia similar de *A. flavus* y diversas especies de *Penicillium*. Asimismo, Koskei et al. señalaron que *Fusarium verticillioides*, también conocido como *F. moniliforme*, fue la especie predominante en productos derivados del maíz comercializados en África Subsahariana [81].

En Latinoamérica, Astudillo y Nacipucha documentaron una alta prevalencia de especies del género *Aspergillus* en muestras de granos y harina de maíz recolectadas en mercados de Cuenca, Ecuador [82]. De forma similar, Coromoto et al. identificaron en el estado Aragua, Venezuela, a *Aspergillus* spp., *A. flavus* y *Penicillium* spp. como las principales especies fúngicas toxigénicas presentes en harina de maíz comercializada [83]. Aunque *Aspergillus* es un contaminante significativo en harinas de maíz, otros géneros como *Fusarium* presentan alta incidencia en condiciones específicas. Por ejemplo, un estudio en Resistencia, Chaco, Argentina, encontró que *Fusarium* spp. estaba presente en el 100% de las muestras de harina de maíz analizadas, mientras que *Aspergillus* spp. se detectó en el 87% [84]. La prevalencia de *Aspergillus* está influenciada por factores como la temperatura y la humedad características de regiones tropicales y subtropicales, incluyendo Costa de Marfil, México y Perú.

En el contexto nacional, estos hallazgos son consistentes con el estudio de Reyes et al., quienes reportaron una alta incidencia de *F. moniliforme* en diferentes etapas de la cadena productiva del maíz, incluida la harina comercializada a granel [85]. Además, un estudio realizado en Lima sobre la contaminación por *A. flavus* en maní vendido a granel en los mercados de Productores de Santa Anita y Caquetá encontró una correlación significativa entre

las prácticas inadecuadas de manejo de alimentos y la presencia de este hongo [86].

Con respecto a las aflatoxinas, internacionalmente, los valores obtenidos en este estudio son comparables a los registrados en regiones tropicales como México, pero considerablemente mayores que los reportados en Europa, donde regulaciones más estrictas y mejores prácticas postcosecha han reducido su incidencia [87]. A nivel nacional, son similares a los reportados por Rojas et al. [88], quienes identificaron concentraciones de hasta 33.2 ppb en muestras de una variedad de *Zea mays* (mote) en Lima. Estos valores superaron a los registrados en Cusco y Trujillo, donde también se encontraron aflatoxinas en harina de maíz [89, 90]. Sin embargo, en otro estudio hecho en mercados de Villa María del Triunfo, aunque se detectaron aflatoxinas en harinas de maíz comercializadas, estas no excedieron los estándares internacionales [91].

La alta prevalencia de aflatoxinas detectada es preocupante debido a sus efectos carcinogénicos y genotóxicos bien documentados [47]. La exposición crónica a la aflatoxina B1, producida principalmente por *A. flavus* [35, 48, 90], se asocia con un mayor riesgo de cáncer hepático, efectos inmunosupresores y genotóxicos [50, 91]. En casos agudos, puede causar aflatoxicosis, una condición con alta mortalidad [34, 49].

En contraste, las concentraciones de ocratoxinas (10% en harinas para consumo humano) y fumonisinas (20% en harinas para consumo humano y 10% en harinas para consumo animal) fueron menores, aunque en algunas muestras superaron los límites permitidos de 1 ppb y 0.25 ppm, respectivamente. Las bajas prevalencias de ocratoxinas observadas son consistentes con otros estudios que destacan la variabilidad en los niveles de esta micotoxina en productos almacenados, la cual está influenciada por factores como la gestión agrícola y las condiciones ambientales durante el almacenamiento [92]. Por otro lado, la presencia de fumonisinas en el maíz y sus subproductos es un hallazgo común, como se ha reportado en diversos estudios sobre productos comercializados [93]. Este patrón también fue observado por Maldonado en su investigación sobre muestras de harina de maíz comercializadas en Resistencia, Chaco, donde se detectaron niveles significativos de fumonisinas [84].

El clima de Lima, caracterizado por alta humedad y temperaturas moderadas, favorece la proliferación de hongos micotoxigénicos como *Aspergillus* spp. (27-33°C), *Fusarium* spp. (22-28°C) y *Penicillium* spp. (15-30°C) [94]. Factores como mala ventilación, herramientas compartidas y condiciones de almacenamiento deficientes observados en los mercados también contribuyen a la diseminación de esporas fúngicas.

El análisis ANOVA mostró diferencias significativas en los niveles de aflatoxinas entre mercados en harinas para consumo humano, lo que refleja la variabilidad en las condiciones de almacenamiento, transporte y manipulación. Por ejemplo, en un estudio hecho en el 2017 por Zárte y Huamán en los mercados del Cercado de Lima, se determinó que aproximadamente el 78.5% de las personas encargadas de manipular los productos no cumplían con las buenas prácticas de manipulación de alimentos [95]. Sin embargo, estas diferencias no se observaron en harinas para consumo animal, posiblemente debido a prácticas de manejo más homogéneas en su cadena de suministro o un mismo origen de materia prima.

Finalmente, las pruebas de Kruskal-Wallis realizadas para las ocratoxinas y fumonisinas evidenciaron diferencias significativas entre mercados de Lima, tanto en harinas para consumo humano como animal. Estas diferencias pueden atribuirse a factores externos, como variaciones en la humedad relativa, las temperaturas promedio y la duración del almacenamiento, así como las prácticas postcosecha específicas [96], como el secado, la limpieza del grano y el manejo durante el transporte [97].

Una limitación importante de este estudio fue la falta de medición de la actividad de agua (a_w), un factor crítico para evaluar el riesgo de presencia de micotoxinas [65, 86, 98].

VIII. Conclusiones

- Esta investigación confirmó la presencia de hongos potencialmente micotoxigénicos en todas las harinas de maíz analizadas, tanto para consumo humano como animal, recolectadas en mercados mayoristas de Lima Metropolitana.
- Las especies predominantes identificadas fueron *Aspergillus flavus* (potencial productor de aflatoxinas), *Penicillium verrucosum* (potencial productor de ocratoxinas) y *Fusarium moniliforme* (potencial productor de fumonisinas), lo que confirma la posible relación entre estos hongos y la presencia de micotoxinas en las harinas de maíz.
- Los análisis realizados mediante ELISA competitivo mostraron una alta contaminación por aflatoxinas, detectadas en el 100% de las muestras destinadas al consumo humano y en el 97.5% de las muestras para consumo animal, con algunos valores que superan los límites internacionales establecidos. Por otro lado, se identificaron fumonisinas en menor proporción (20% en ambos tipos de muestras), mientras que las ocratoxinas estuvieron presentes de manera limitada, detectándose sólo en el 10% de las harinas para consumo humano.
- Los mercados con las mayores concentraciones de micotoxinas fueron: para aflatoxinas el Mercado N2 de Surco y Mercado Mayorista Canto Grande, para ocratoxinas fue Unicachi PRO, y para fumonisinas, el Mercado de Caquetá y Mercado Central N°2.
- Se encontró que la prevalencia y los niveles de micotoxinas variaron entre los mercados evaluados, mostrando mayores concentraciones de aflatoxinas en comparación con las otras. Esto podría estar relacionado con las condiciones específicas de almacenamiento y distribución de cada mercado.
- Los resultados revelaron una relación entre las especies fúngicas identificadas y las micotoxinas cuantificadas, destacando la influencia de *Aspergillus flavus* en la posible producción de aflatoxinas. Además, las harinas destinadas al consumo humano presentaron concentraciones significativamente mayores de aflatoxinas en comparación con las harinas

para consumo animal, lo que podría evidenciar deficiencias específicas en el manejo y almacenamiento de estos productos.

IX. Recomendaciones

Es imperativo el implementar controles más estrictos en los mercados mayoristas para garantizar la inocuidad de los alimentos procesados como las harinas; con análisis periódicos de micotoxinas y uso de sensor es para monitorear la humedad durante el almacenamiento. Para que estas medidas funcionen, se necesita capacitar a los comerciantes y productores de maíz sobre buenas prácticas agrícolas tales como el almacenamiento y manejo de los productos, control de temperatura y humedad, uso de materiales limpios y rotación de inventarios para evitar la proliferación de hongos.

Aunque este estudio proporciona una evaluación de la contaminación por micotoxinas en el producto final, se resalta la importancia de realizar estudios longitudinales que analicen no solo la estacionalidad; especialmente en climas tropicales como el de Lima Metropolitana; sino también las distintas etapas de la cadena de producción de la harina de maíz. Estos estudios permitirán identificar los puntos críticos donde ocurre la contaminación y diseñar intervenciones específicas para su prevención.

La capacitación de los agricultores en el manejo adecuado de los alimentos durante las etapas pre, peri y post cosecha es crítica para garantizar la calidad y seguridad de los productos agrícolas, así como para minimizar pérdidas y riesgos por contaminación; por lo cual se recomienda monitorear estas condiciones para determinar los factores asociados a la contaminación de las harinas de maíz.

X. Bibliografía

1. Académico E, Limaco CC, Salazar G, José T, Aburto S. Evaluation of environment fungi in markets from Tacna, Peru. *Rev Mex Mic* [Internet]. 2010 [citado 17 nov 2023];31. Disponible en: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmm/v31/v31a9.pdf>
2. De García C, Caridad M. *Biología de hongos*. Ediciones Uniandes-Universidad de los Andes; 2012.
3. Gonzales C. Alergias y el sistema inmune: una revisión desde el aula. [revista en la Internet]. 2013 [citado 17 nov 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Laura-Gonzalez-4/publication/291611569_Alergias_y_el_sistema_inmune_una_revision_desde_el_aula/links/574e05ad08ae061b330388f8/Alergias-y-el-sistema-inmune-una-revision-desde-el-aula.pdf
4. Mazzani C, CB. Mohos toxigénicos y micotoxinas en maíz y otros cultivos en Venezuela. *Rev Fac Agron (UCV)* [Internet]. 2022 [citado 17 nov 2023];224-224. Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_agro/article/view/25610
5. Lopez M, Yulieth N. Efectos, prevención y control de las aflatoxinas que se producen en el pienso de las aves de corral. 2019 [citado 10 ene 2024]. Disponible en: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/28407>
6. Ravelo Abreu A, Rubio Armendáriz C, Gutiérrez Fernández AJ, Hardisson de la Torre A. La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutr Hosp* [Internet]. 2011 [citado 10 ene 2024];26(6):1215-26. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-1611201100060004&lng=es
7. Torres-Sánchez L, López-Carrillo L. Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud Publica Mex* [Internet]. 2010 [citado 8 nov 2023];52(5):461-7. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-3634201000500014

8. Godswill Awuchi C, Nyakundi Ondari E, Josiah Eseoghene I, Twinomuhwezi H, Otuosorochi Amagwula I, Morya S. Fungal growth and mycotoxins production: Types, toxicities, control strategies, and detoxification. *Fungal Reproduction and Growth* [Internet]. IntechOpen; 2022. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.100207>
9. Jaime J, Molina C. Lima, un clima de desierto litoral. [Internet]. Core.ac.uk. [citado 18 nov 2023]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/38823183.pdf>
10. Tarazona MIL, Galarza Silva JM, Flores FGF. Vigilancia de factores de riesgo de inocuidad alimentaria en mercados de abasto de municipios locales de Amarilis y Huánuco, 2016 [Internet]. 2017 [citado 25 nov 2023];11(2):103-111. Disponible en: <https://revistas.unheval.edu.pe/index.php/riv/article/view/113/111>
11. Appendini K, García Barrios R, de la Tejera B. Seguridad alimentaria y 'calidad' de los alimentos: ¿una estrategia campesina? *Revista Europea de Estudios Latinoamericanos y del Caribe*. 2003 [citado 28 nov 2023];(75):65. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Raul-Garcia-Barrios/publication/237774924_Seguridad_alimentaria_y_'calidad'_de_los_alimentos_una_estrategia_campesina/links/53d00d0a0cf2f7e53cfa9bc7/Seguridad-alimentaria-y-calidad-de-los-alimentos-una-estrategia-campesina.pdf
12. DIGESA/MINSA. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo, 2008. [citado 28 nov 2023]. Disponible en: https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf
13. NGFA. FDA Regulatory Guidance for Mycotoxins [Internet]. National Grain and Feed Association; 2011 [citado 18 nov 2023]. Disponible en: <https://www.aflatoxinpartnership.org/wp-content/uploads/2021/05/NGFAComplianceGuide-FDARegulatoryGuidanceforMycotoxins8-2011.pdf>

14. Center for Food Safety, Applied Nutrition. Guidance for industry: Fumonisin levels in human foods and animal feeds [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2023 [citado 01 ene 2024]. Disponible en: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-fumonisin-levels-human-foods-and-animal-feeds>
15. Commission Regulation (EU) 2023/915. Maximum levels for certain contaminants in food and repealing Regulation (EC) No 1881/2006. *Official Journal of the European Union*. 2023 [citado 18 nov 2023];L 119:103-125. Disponible en: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=uriserv:OJ.L_.2023.119.01.0103.01.SPA
16. Pumahualcca RR, Cjuno-Huanca OL, Mostajo-Zavaleta MN. Cuantificación de aflatoxinas totales en harina de maíz que se expende en tres mercados de la ciudad del Cusco-Perú. *Cantua*. 2018 [citado 18 dic 2023];17:27-35. Disponible en: https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:2QTbX1pFTosJ:scholar.google.com/+Cuantificaci%C3%B3n+de+aflatoxinas+totales+en+harina+de+ma%C3%ADz+que+se+expende+en+tres+mercados+de+la+ciudad+del+Cusco-Per%C3%BA%E2%80%9D&hl=es&as_sdt=0,5
17. Fermin JR. Proceso de fabricación de la harina precocida de maíz. 2018 [citado 18 dic 2023]. Disponible en: https://www.academia.edu/35808891/PROCESO_DE_FABRICACION_DE_LA_HARINA_PRECOCIDA_DE_MAIZ
18. Bressani R, Turcios JC, Reyes L, Mérida R. Caracterización física y química de harinas industriales nixtamalizadas de maíz de consumo humano en América Central. *Arch Latinoam Nutr* [Internet]. 2001 [citado 02 ene 2024];51(3):309-13. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-0622200100030015&lng=es
19. Micotoxinas [Internet]. Who.int. [citado 18 nov 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>

20. Orellana A, Muchaypiña JJ, Guillermo JJ. Prevalencia de hongos en harina de *Lepidium peruvianum* «Maca» en mercados de Andahuaylas, Ica y Cañete, Perú. *Rev Peru Biol* [Internet]. 2005 [citado 18 nov 2023];12(3):445-8. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/2420>
21. Astudillo Ochoa GJ, Nacipucha Astudillo AF. Aislamiento de hongos productores de micotoxinas presentes en granos de cereales expendidos en la ciudad de Cuenca y grado residual en productos elaborados a partir de dichos cereales. Universidad del Azuay; 2010 [citado 10 dic 2023]. Disponible en: <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/6658/1/07539.pdf>
22. Pascale M. Detection methods for mycotoxins in cereal grains and cereal products. *Zbornik Matice Srpske za Prirodne Nauke*. 2009 [citado 15 dic 2023];117:15. 10.2298/ZMSPN0917015P. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/47749255_Detection_methods_for_mycotoxins_in_cereal_grains_and_cereal_products
23. Ríos-Ruiz WF, Tarrillo-Chujutalli RE, Rojas-García JC, Tuanama-Reátegui C, Pompa-Vásquez DF, Zumaeta-Arévalo CA. The biotechnological potential of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) cultivations in the San Martin region, Peru. *Plants*. 2024;13(15):2075. <https://doi.org/10.3390/plants13152075>
24. Macuri Núñez ER. Estudio de la diversidad fenotípica del maíz (*Zea mays* L.) en la sierra baja y media del Perú. 2016. Disponible en: <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/1981/F30-M32-T.pdf?sequence=9&isAllowed=y>
25. Gálvez Ranilla L. The application of metabolomics for the study of cereal corn (*Zea mays* L.). *Metabolites*. 2020;10(8):300. <https://doi.org/10.3390/metabo10080300>
26. Erenstein O, Jaleta M, Sonder K, et al. Global maize production, consumption, and trade: Trends and R&D implications. *Food Sec*. 2022;14:1295-1319. <https://doi.org/10.1007/s12571-022-01288-7>

27. Salvador-Reyes R, Pedrosa Silva Clerici MT. Peruvian Andean maize: General characteristics, nutritional properties, bioactive compounds, and culinary uses. *Food Res Int.* 2020;130:108934.
28. Reyes García M. Tablas peruanas de composición de alimentos [Internet]. Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud. 2017 [citado 17 jul 2024]. Disponible en: https://lamejorreceta.ins.gob.pe/sites/default/files/2020-12/tablas-peruanas-QR_0.pdf
29. Kale SH, Bennett JW. Strain instability in filamentous fungi. In: Handbook of Applied Mycology. CRC Press; 2024. p. 311-331.
30. Rúa-Giraldo ÁL. Taxonomía de los hongos: un rompecabezas al que le faltan muchas piezas. *Rev Bioméd.* 2023;43:288-311.
31. Jiménez Nieva FJ, Sánchez González F de A, Caetano Sánchez C. Hongos. Ecología y biodiversidad en ecosistemas litorales de Huelva. En: Biología de Huelva: naturaleza, biodiversidad, bioindicadores y biomarcadores. Huelva: Universidad de Huelva; 2022. p. 145-186. ISBN 978-84-18984-95-2.
32. Guarro J. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30(1):33-9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X11003016>
33. Vargas Manotas JE, Vélez Ascanio JF, Chalela Blanco NA. Aspergillus, un asesino desconocido. *Acta Neurol Colomb.* 2021;37(1):112-6.
34. Martínez Padrón H, Hernández Delgado S, Reyes Méndez CA, Vázquez Carrillo G. El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México: Problemática y Perspectivas. *Rev Mex Fitopatol* [Internet]. 2013 [citado 2024 Jul 01];31(2):126-146. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-3309201300200005&lng=es
35. Shabeer S, Asad S, Jamal A, Ali A. Aflatoxin contamination, its impact and management strategies: an updated review. *Toxins.* 2022;14(5):307. <https://doi.org/10.3390/toxins14050307>

36. Luciano-Rosario D, Keller NP, Jurick WM. *Penicillium expansum*: biology, omics, and management tools for a global postharvest pathogen causing blue mould of pome fruit. *Mol Plant Pathol.* 2020;21(11):1391-1404.
37. El Hajj Assaf C, Zetina-Serrano C, Tahtah N, Khoury AE, Atoui A, Oswald IP, Puel O, Lorber S. Regulation of secondary metabolism in the *Penicillium* genus. *Int J Mol Sci.* 2020;21(24):9462.
38. Flores Bonilla RA, Hernández Ruiz J. Micosis pulmonar causada por *Penicillium* spp: reporte de caso en paciente con fibrosis quística. *Neumol Pediatr.* 2024;34-37.
39. Carrillo L. Los hongos de los alimentos y forrajes. Facultad de Ciencias Agrarias. Micología de los alimentos. Curso de postgrado del Doctorado regional de ciencias y tecnología de los alimentos. Jujuy – Argentina. Disponible en: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4365/Grecia_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
40. Paiva Rodrigues MH, Ribeiro AC, de Borba VS, Rodrigues Cerqueira MB, Kupski L, Furlong EB. Ochratoxin A and defense mechanisms of tomatoes against *Penicillium verrucosum* and *Aspergillus ochraceus*. *ACS Food Sci Technol.* 2024;4(10):2384-2391.
41. Gobierno de México. *Fusarium* spp. (*Hypocreales nectriaceae*) Podredumbre de raíces [Internet]. 2020 [citado el 11 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/633031/Fusarium_spp_maz_2020.pdf
42. Ekwomadu TI, Akinola SA, Mwanza M. *Fusarium* mycotoxins, their metabolites (free, emerging, and masked), food safety concerns, and health impacts. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(22):11741. <https://doi.org/10.3390/ijerph182211741>
43. Otero C, Arredondo C, Echeverría-Vega A, Gordillo-Fuenzalida F. *Penicillium* spp. mycotoxins found in food and feed and their health effects. *World Mycotoxin J.* 2020;13(3):323-343.

44. Soriano JM. Micotoxinas en alimentos. Ediciones Díaz de Santos; 2007. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=wgRVcFvk--IC&oi=fnd&pg=PA3&dq=micotoxinas+&ots=IVZZTY6mK8&sig=L8LZo0ZyZNPXT2ypVBCYSvynFBE#v=onepage&q=micotoxinas&f=false>
45. Guerre P. Mycotoxin and gut microbiota interactions. *Toxins*. 2020;12(12):769. <https://doi.org/10.3390/toxins12120769>
46. Liu M, Zhao L, Gong G, Zhang L, Shi L, Dai J, et al. Invited review: Remediation strategies for mycotoxin control in feed. *J Anim Sci Biotechnol*. 2022;13(1):19.
47. Jallow A, Xie H, Tang X, Qi Z, Li P. Worldwide aflatoxin contamination of agricultural products and foods: From occurrence to control. *Compreh Rev Food Sci Food Saf*. 2021;20(3):2332-2381.
48. Cornejo J. Antecedentes generales sobre las aflatoxinas y otras micotoxinas y elementos a tener en cuenta para el diseño de prácticas correctas de cultivo y elaboración de nueces [Internet]. Ministerio de Salud de Chile. [citado 2024 Jul 18]. Disponible en: <https://www.minsal.cl/portal/url/item/72fd6274dad8792ee04001011f0109e4.pdf>
49. Urrego Novoa JR, Díaz GJ. Aflatoxinas: Mecanismos de toxicidad en la etiología de cáncer hepático celular. *Rev Fac Med Univ Nac Colomb* [Internet]. 2006 [citado 2024 Jul 18];54(2):108–16. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-00112006000200006&script=sci_arttext
50. Kumar A, Pathak H, Bhadauria S, et al. Aflatoxin contamination in food crops: causes, detection, and management: a review. *Food Prod Process Nutr*. 2021;3:17. doi:10.1186/s43014-021-00064-y
51. Wang L, Hua X, Shi J, et al. Ochratoxin A: Occurrence and recent advances in detoxification. *Toxicon*. 2022;210:11-18.

52. Leitão AL, Enguita FJ. Systematic structure-based search for ochratoxin-degrading enzymes in proteomes from filamentous fungi. *Biomolecules*. 2021;11(7):1040. doi: 10.3390/biom11071040.
53. Klingelhöfer D, Braun M, Schöffel N, Oremek GM, Brüggmann D, Groneberg DA. Ochratoxin—Characteristics, influences and challenges of global research. *Food Control*. 2020;114:107230.
54. Ganesan AR, Mohan K, Rajan DK, Pillay AA, Palanisami T, Sathishkumar P, Conterno L. Distribution, toxicity, interactive effects, and detection of ochratoxin and deoxynivalenol in food: A review. *Food Chem*. 2022;378:131978.
55. De Cerain AL, Jiménez AM, Ezpeleta O, J. B. Efectos tóxicos de la ocratoxina A [Internet]. [citado 2024 Ago 03]. Disponible en: https://www.quiveter.com/ftp_public/articulo804.pdf
56. El Khoury A, Atoui A. Ochratoxin A: General overview and actual molecular status. *Toxins (Basel)* [Internet]. 2010 [citado 2024 Ago 03];2(4):461–93. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2072-6651/2/4/461>
57. Obafemi BA, Adedara IA, Rocha JB. Neurotoxicity of ochratoxin A: Molecular mechanisms and neurotherapeutic strategies. *Toxicol*. 2023;153630.
58. Rodilla i Alamá V, Ruiz Planas. Detección y eliminación de fumonisinas en alimentos [Internet]. *Upc.edu*. [citado 2024 Ago 19]. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/13053/Mem%c3%b2ria.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
59. Yu S, Jia B, Liu N, Yu D, Wu A. Evaluation of the individual and combined toxicity of fumonisin mycotoxins in human gastric epithelial cells. *Int J Mol Sci*. 2020;21(16):5917. doi: 10.3390/ijms21165917.
60. Mirón-Mérida VA, Gong YY, Goycoolea FM. Aptamer-based detection of fumonisin B1: A critical review. *Anal Chim Acta*. 2021;1160:338395. doi:10.1016/j.aca.2021.338395.

61. Li Z, Wang Y, Liu Z, Jin S, Pan K, Liu H, et al. Biological detoxification of fumonisin by a novel carboxylesterase from Sphingomonadales bacterium and its biochemical characterization. *Int J Biol Macromol*. 2021;169:18-27.
62. Chen J, Wen J, Tang Y, Shi J, Mu G, Yan R, et al. Research progress on fumonisin B1 contamination and toxicity: A review. *Molecules*. 2021;26(17):5238. doi: 10.3390/molecules26175238.
63. Chen J, Wei Z, Wang Y, Long M, Wu W, Kuca K. Fumonisin B1: Mechanisms of toxicity and biological detoxification progress in animals. *Food Chem Toxicol*. 2021;149:111977.
64. Voss KA, Smith GW, Haschek WM. Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Anim Feed Sci Technol* [Internet]. 2007;137(3–4):299–325. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.007>
65. Daou R, Joubrane K, Maroun RG, Khabbaz LR, Ismail A, El Khoury A. Mycotoxins: Factors influencing production and control strategies. *AIMS Agriculture and Food*. 2021;6(1):416-447.
66. Kortei NK, Badzi S, Nanga S, Wiafe-Kwagyan M, Amon DNK, Odamtten GT. Survey of knowledge, and attitudes to storage practices preempting the occurrence of filamentous fungi and mycotoxins in some Ghanaian staple foods and processed products. *Sci Rep*. 2023;13(1):8710.
67. Popoola GB, Okungbowa FI. Enzyme activity of fungi associated with stored maize grains obtained from some selected farms near Benin City, Nigeria. *Afr J Health Saf Environ*. 2021;2(2):45-54.
68. Carbas B, Simões D, Soares A, Freitas A, Ferreira B, Carvalho AR, et al. Occurrence of *Fusarium spp.* in maize grain harvested in Portugal and accumulation of related mycotoxins during storage. *Foods*. 2021;10(2):375.
69. Jia S, Li C, Wu K, Qi D, Wang S. Effect of Water Activity on *Conidia* Germination in *Aspergillus flavus*. *Microorganisms*. 2022;10(9):1744.

70. Caceres I, Al Khoury A, El Khoury R, Lorber S, Oswald IP, El Khoury A, Atoui A, Puel O, Bailly JD. Biosynthesis and genetic regulation of aflatoxins: a review. *Toxins*. 2020;12(3):150. doi:10.3390/toxins12030150
71. Pilco JS. Orientaciones para la selección y el cálculo del tamaño de la muestra en investigación [Internet]. 2022 [citado el 22 de diciembre de 2023]. Disponible en:
<http://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/20.500/12390/3096/1>
72. OMS, FAO. CODEX ALIMENTARIUS: Norma para la harina integral de maiz CXS 154-1985; 1985 [citado el 15 de diciembre de 2023]. Disponible en:
https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXS%2B154-1985%252FCXS_154s.pdf
73. DIGESA. Guía para la comercialización de Segura de Alimentos en bodegas. 2006 [citado el 20 de diciembre de 2023]. Disponible en:
http://www.digesa.minsa.gob.pe/publicaciones/descargas/guia_bodega.pdf
74. DIGESA. Manual de Análisis Microbiológico de Alimentos. 2001. Disponible en:
https://bvs.minsa.gob.pe/local/DIGESA/61_MAN.ANA.MICROB.pdf
75. BAM chapter 18: Yeasts, molds and mycotoxins [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. FDA; 2024 [citado el 29 de febrero de 2024]. Disponible en:
<https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-18-yeasts-molds-and-mycotoxins>
76. Samson RA, Houbraken J, Th U, editores. *Westerdijk Laboratory Manual Series No. 2: Food and Indoor Fungi*. 2nd ed. Utrecht (Netherlands): Westerdijk Fungal Biodiversity Institute; 2019.
77. Neogen. Veratox® MAX for Total Aflatoxin, Kit Insert. 2023. Disponible en:
https://www.neogen.com/globalassets/pim/assets/original/10017/16536c-verat-ox-max-for-total-aflatoxin_8035_kitinsert.pdf

78. Neogen. Veratox® MAX for Fumonisin, Kit Insert. 2023. Disponible en: https://www.neogen.com/globalassets/pim/assets/original/10021/1551f-veratox-for-fumonisin_8830_8831_kitinsert.pdf
79. Neogen. Veratox® MAX for Ochratoxin, Kit Insert. 2023. Disponible en: https://www.neogen.com/globalassets/pim/assets/original/10021/1549g-veratox-for-ochratoxin_8610_kitinsert.pdf
80. Aasa AO, Njobeh PB, Fru FF. Incidence of filamentous fungi in some food commodities from Ivory Coast. *J Agric Food Res.* 2022;8:100304.
81. Koskei P, Bii C, Musotsi P, Karanja S. Presence of *Fusarium* species and fumonisin contamination of maize in Sub-Saharan Africa: A systematic review. *Afr J Educ Sci Technol.* 2020;5(4):132-146.
82. Astudillo Ochoa GJ, Nacipucha Astudillo AF. Aislamiento de hongos productores de micotoxinas presentes en granos de cereales expendidos en la ciudad de Cuenca y grado residual en productos elaborados a partir de dichos cereales [tesis de licenciatura]. Cuenca: Universidad del Azuay; 2010.
83. Marleny Coromoto C, Mazzani Cardinalis CB, Luzón O, Garrido MJ. Detección de hongos toxigénicos en harinas de maíz precocidas distribuidas en el estado Aragua, Venezuela. *Rev Soc Venez Microbiol.* 2012;32(2):126-30.
84. Maldonado, Liliana. Fumonisin 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 (HPLC), de referencia para la detección y cuantificación [Internet]. [citado 2024 dic 14]. Disponible en: https://repositorio.unne.edu.ar/bitstream/handle/123456789/27603/RIUNNE_FMED_TM_Maldonado_E.pdf?sequence=1&isAllowed=y
85. Reyes CVJ, Yábar VEF. Detección de hongos toxigénicos en la cadena productiva del maíz (*Zea mays L.*). *Prospectiva Universitaria.* 2010;7(1):50-53.

86. Quenta-Valeriano RM. Condiciones de almacenamiento y la presencia de hongos *Aspergillus* en *Arachis hypogaea* L. (maní). 2018. Disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UAPI_fe622f2a5d0533b0da27c320221e201c
87. Espinosa-Plascencia A, Bermúdez-Alamada MC. Aflatoxins a toxic that continues to present in food and its biological effects in humans and animals. 2024; 26:e553. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-888X2023000100204&script=sci_arttext
88. Rojas JJ, Chacón CM, Castañeda PL, Díaz TA. Cuantificación de aflatoxinas carcinogénicas en alimentos no procesados y su implicación para el consumo en Lima, Perú. *Nutrición Hospitalaria*. 2021;38(1):146-151. doi:10.20960/nh.03240.
89. Pumahualcca RR, Cjuno-Huanca OL, Mostajo-Zavaleta MN. Cuantificación de aflatoxinas totales en harina de maíz que se expende en tres mercados de la ciudad del Cusco-Perú. *Cantua*. 2018;17:27-35.
90. Acuña NM, Salinas PA, Valles NV. Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en mercados de Trujillo (Perú). *Rev REBIOLEST*. 2014;2(2):5-11.
91. Calisaya Tipo ML, Pinto Quea JC. Aflatoxinas en cereales comercializados a granel en mercados del distrito de Villa María del Triunfo, Lima. 2018. Disponible en: <https://repositorio.uigv.edu.pe/item/30841ca1-b7ca-4abd-93c2-a84768d55b5c>
92. García-Cela E, Sanchis V, Ramos AJ, Marín S. Efecto de las prácticas de almacenamiento en la producción de ocratoxina A en cereales. *Nutrición Hospitalaria*. 2011;26(6):1247-1254. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112011000600004

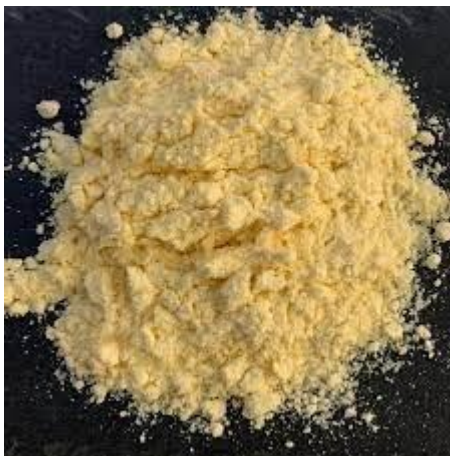
93. Denli M, Pérez J. Contaminación por micotoxinas en los piensos: efectos, tratamiento y prevención. *Avances en nutrición y alimentación animal*. 2006 Jan 1:1–17. ISBN: 84-611-2965-2.
94. Wu F, Groopman JD, Pestka JJ. Public health impacts of foodborne mycotoxins. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2016;7:351-372. DOI:10.1146/annurev-food-041715-033251.
95. Zárate Murillo W, Huamán Santos E. Análisis situacional de las condiciones higiénico-sanitarias del manipulador de alimentos en los mercados de abastos de Lima Cercado, enero-junio 2017 [Internet]. Lima: Universidad Privada Norbert Wiener; 2019.
96. Adaniya ZNC. Micotoxinas no milho roxo peruano [tesis de maestría]. Santa Maria (RS): Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária; 2017.
97. Vieira DO, Souza KR, Magalhaes LA, Vêras Ítala VUM, Santos SCL. La contaminación de la nuez de Brasil por aflotoxinas y su efecto carcinogénico: una revisión narrativa. *RSD* [Internet]. 2022;11(7):e52911730309.
98. Manna M, Kim KD. Influence of Temperature and Water Activity on Deleterious Fungi and Mycotoxin Production during Grain Storage. *Mycobiology*. 2017;45(4):240-254. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2017.45.4.240>

ANEXOS

Anexo 1. Cuadro de límite en gramos de las unidades formadoras de colonias permisibles para el consumo.

| V.2 Harinas y sémolas. | | | | | | |
|------------------------|-----------|-------|---|---|--------------|--------|
| Agente microbiano | Categoría | Clase | n | c | Límite por g | |
| | | | | | m | M |
| Moho | 2 | 3 | 5 | 2 | 10^4 | 10^5 |

Anexo 2. Referencia a la harina de maíz amarillo y blanco al granel.



Anexo 3. Fórmulas estadísticas para la estimación del tamaño de muestra requerido.

$$n = \frac{N \times Z^2 \times p \times (1-p)}{(N-1) \times E^2 + Z^2 \times p \times (1-p)}$$

Fórmula para hallar tamaño de muestra de una población infinita de Cochran W. G., donde:

- n es el tamaño de muestra requerida.
- N es el tamaño de la población.
- Z es el valor correspondiente al nivel de confianza deseado.
- p es la proporción estimada de la población que tiene la característica estudiada.

- E es el margen de error deseado expresado como proporción.

Se reemplazan los valores y obtenemos un n mínimo igual a 37 para que sea un resultado significativo.

$$N= 20000, Z=1.96, p=0.95, E=0.07$$

$$n = \frac{20000 \times (1.96)^2 \times 0.95 \times (1-0.95)}{(20000-1) \times (0.07)^2 + (1.96)^2 \times 0.95 \times (1-0.95)}$$

$$n = \frac{20000 \times 3.8416 \times 0.95 \times 0.05}{19999 \times 0.0049 + 3.8416 \times 0.95 \times 0.05}$$

$$n = \frac{3656}{98.9991 + 0.1824}$$

$$n \approx \frac{3656}{99.1815}$$

$$n \approx 36.931$$

Si la muestra total es de n=40, y son 10 mercados en tu área de muestreo, entonces se puede distribuir equitativamente tu muestra de manera aleatoria entre los mercados para obtener una muestra representativa.

Dividiendo n entre el número de mercados te dará la cantidad recomendada de muestra por mercado:

$$\text{Muestra por mercado} = \frac{n}{\text{Número de mercados}} = \frac{40}{10} = 4$$

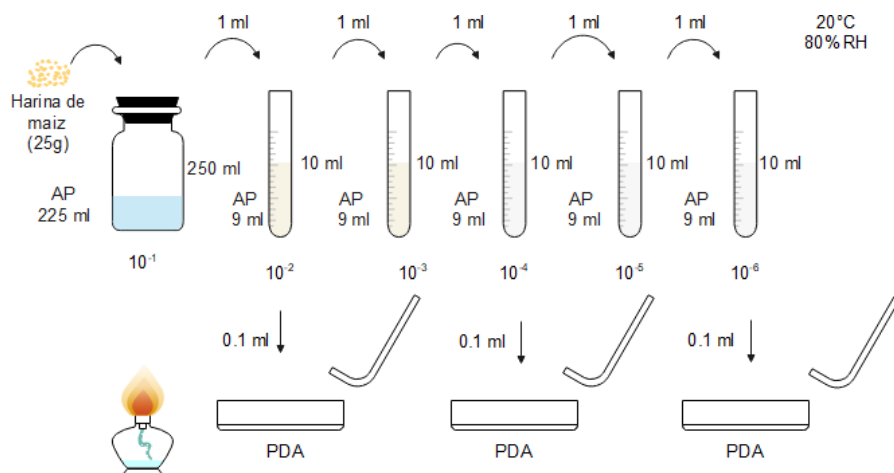
Por lo tanto, sería recomendable tomar 4 muestras de cada mercado para asegurar que cada uno esté representado de manera adecuada.

Anexo 4. Tabla de etiquetado, identificación y procedencia de la muestra de harina de maíz.

| Distritos | Nombre del mercado | Tipo de muestra | especie | codigo de muestra | Nombre del mercado | Tipo de muestra | especie | codigo de muestra |
|-------------------|--------------------|-----------------|-------------|-------------------|--------------------|-----------------|---------------|-------------------|
| Villa el Salvador | Unicachi SUR | Humana | Maiz Blanco | H17 | | Animal | Maiz Amarillo | A17 |
| | Unicachi SUR | Humana | Maiz Blanco | H18 | | Animal | Maiz Amarillo | A18 |
| | Unicachi SUR | Humana | Maiz Blanco | H19 | | Animal | Maiz Amarillo | A19 |
| | Unicachi SUR | Humana | Maiz Blanco | H20 | | Animal | Maiz Amarillo | A20 |

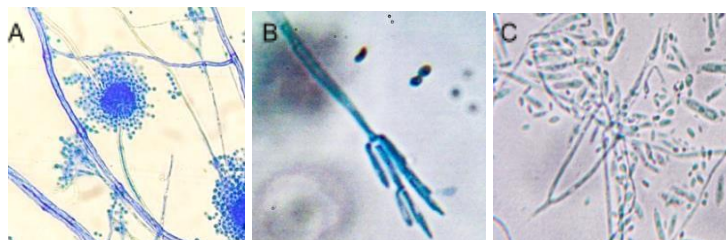
Anexo 5: Procedimiento de diluciones seriadas con factor de dilución en base a 10 según la octava edición del “Manual de análisis bacteriológico” del FDA.

(Fuente: imagen propia).



Anexo 6. Imagen referencial de las características del género *Aspergillus spp*

(A), *Penicillium spp* (B) y *Fusarium spp* (C), respectivamente. (Fuente: imagen propia).



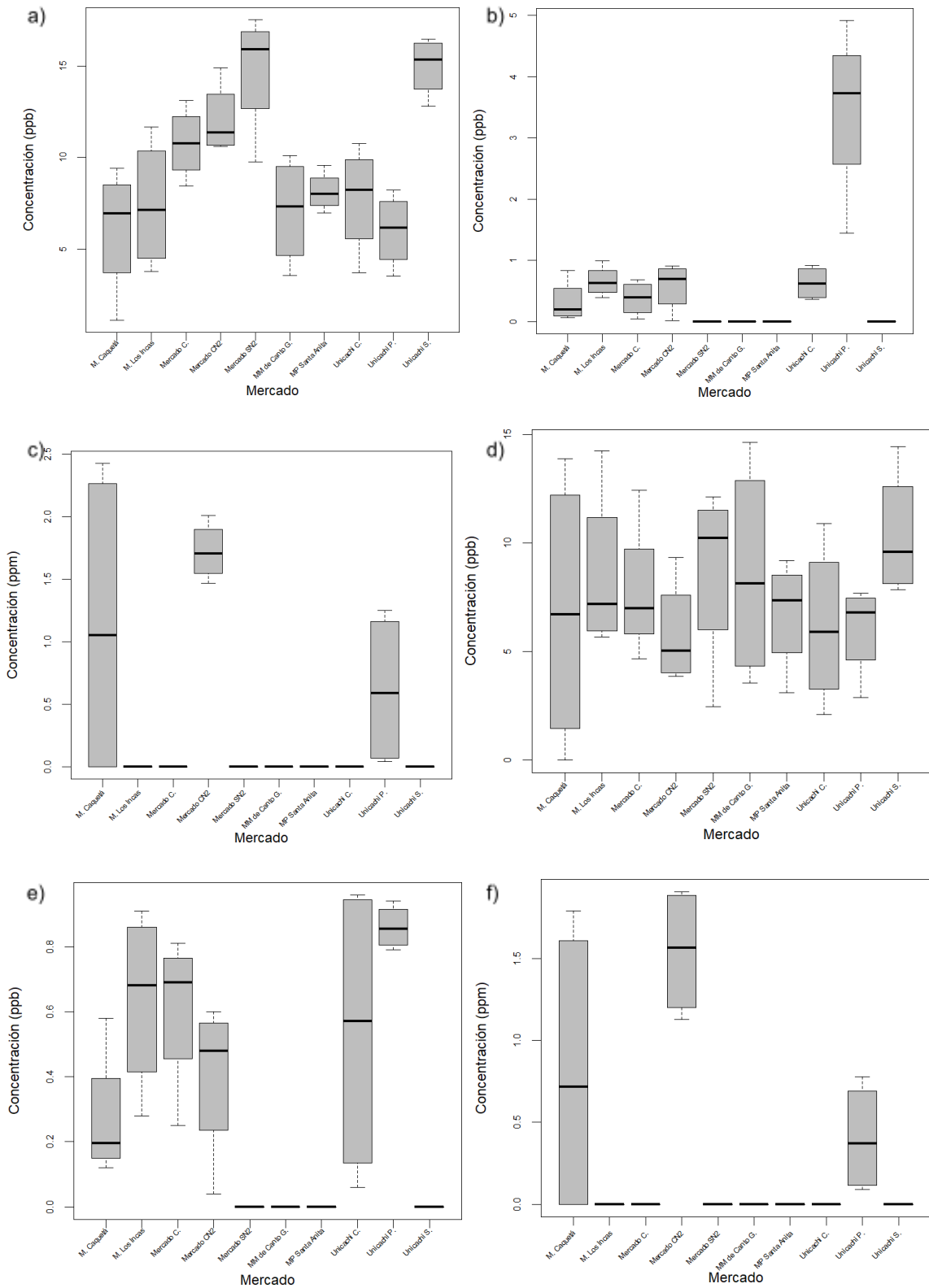
Anexo 7. Tabla de concentraciones de aflatoxinas (ppb), ocratoxinas (ppb) y fumonisinas (ppm) para las muestras de harina de consumo humano y animal de todos los mercados.

| Muestra ID | Mercado | Consumo | Aflatoxinas (ppb) | Ocratoxinas (ppb) | Fumonisin (ppm) |
|------------|--------------------------|---------|-------------------|-------------------|-----------------|
| M1 | Unicachi SUR | Humano | 16.04 | 0.003 | 0.001 |
| M2 | | Humano | 16.47 | 0.002 | 0.003 |
| M3 | | Humano | 14.67 | 0.004 | 0.003 |
| M4 | | Humano | 12.81 | 0.001 | 0.002 |
| M5 | Mercado Central Nro 2 | Humano | 10.75 | 0.56 | 1.47 |
| M6 | | Humano | 10.62 | 0.91 | 1.62 |
| M7 | | Humano | 14.89 | 0.82 | 2.01 |
| M8 | | Humano | 12.00 | 0.02 | 1.79 |
| M9 | Mercado N°2 de Surquillo | Humano | 15.57 | 0.002 | 0.001 |
| M10 | | Humano | 17.55 | 0.003 | 0.001 |
| M11 | | Humano | 9.76 | 0.002 | 0.001 |
| M12 | | Humano | 16.22 | 0.002 | 0.001 |
| M13 | Mercado Caquetá | Humano | 7.56 | 0.26 | 0.002 |
| M14 | | Humano | 1.12 | 0.12 | 0.002 |
| M15 | | Humano | 9.43 | 0.83 | 2.43 |
| M16 | | Humano | 6.29 | 0.06 | 2.10 |
| M17 | Mercado los Incas | Humano | 3.77 | 0.57 | 0.002 |
| M18 | | Humano | 9.01 | 0.99 | 0.001 |
| M19 | | Humano | 11.68 | 0.39 | 0.002 |
| M20 | | Humano | 5.22 | 0.68 | 0.002 |
| M21 | Unicachi PRO | Humano | 5.34 | 1.44 | 1.25 |
| M22 | | Humano | 3.51 | 3.76 | 1.07 |
| M23 | | Humano | 6.97 | 4.92 | 0.04 |
| M24 | | Humano | 8.21 | 3.69 | 0.10 |
| M25 | Unicachi Comas | Humano | 10.77 | 0.80 | 0.001 |
| M26 | | Humano | 9.00 | 0.92 | 0.001 |

| | | | | | |
|-----|-----------------------------------|--------|-------|-------|-------|
| M27 | | Humano | 7.44 | 0.36 | 0.001 |
| M28 | | Humano | 3.70 | 0.43 | 0.001 |
| M29 | Mercado Central | Humano | 13.13 | 0.04 | 0.001 |
| M30 | | Humano | 8.45 | 0.53 | 0.001 |
| M31 | | Humano | 11.35 | 0.25 | 0.001 |
| M32 | | Humano | 10.18 | 0.68 | 0.001 |
| M33 | Mercado Mayorista de Canto Grande | Humano | 10.10 | 0.003 | 0.001 |
| M34 | | Humano | 3.56 | 0.001 | 0.001 |
| M35 | | Humano | 8.90 | 0.004 | 0.002 |
| M36 | | Humano | 5.75 | 0.004 | 0.002 |
| M37 | Mercado Productores Santa Anita | Humano | 6.98 | 0.002 | 0.001 |
| M38 | | Humano | 8.22 | 0.001 | 0.001 |
| M39 | | Humano | 7.80 | 0.004 | 0.001 |
| M40 | | Humano | 9.56 | 0.003 | 0.001 |
| M41 | Unicachi SUR | Animal | 14.44 | 0.002 | 0.002 |
| M42 | | Animal | 10.75 | 0.001 | 0.001 |
| M43 | | Animal | 8.41 | 0.004 | 0.002 |
| M44 | | Animal | 7.84 | 0.002 | 0.002 |
| M45 | Mercado Central Nro 2 | Animal | 3.86 | 0.60 | 1.86 |
| M46 | | Animal | 4.15 | 0.43 | 1.13 |
| M47 | | Animal | 9.32 | 0.04 | 1.91 |
| M48 | | Animal | 5.90 | 0.53 | 1.27 |
| M49 | Mercado N°2 de Surquillo | Animal | 12.12 | 0.004 | 0.001 |
| M50 | | Animal | 9.54 | 0.002 | 0.001 |
| M51 | | Animal | 2.45 | 0.001 | 0.001 |
| M52 | | Animal | 10.90 | 0.001 | 0.001 |
| M53 | Mercado Caquetá | Animal | 10.50 | 0.21 | 0.002 |
| M54 | | Animal | 0.00 | 0.18 | 0.002 |
| M55 | | Animal | 2.90 | 0.58 | 1.43 |
| M56 | | Animal | 13.90 | 0.12 | 1.79 |

| | | | | | |
|-----|-----------------------------------|--------|-------|-------|-------|
| M57 | Mercado los Incas | Animal | 5.67 | 0.81 | 0.001 |
| M58 | | Animal | 6.20 | 0.55 | 0.001 |
| M59 | | Animal | 14.25 | 0.28 | 0.001 |
| M60 | | Animal | 8.13 | 0.91 | 0.001 |
| M61 | Unicachi PRO | Animal | 7.68 | 0.82 | 0.78 |
| M62 | | Animal | 2.87 | 0.94 | 0.60 |
| M63 | | Animal | 6.35 | 0.89 | 0.14 |
| M64 | | Animal | 7.23 | 0.79 | 0.09 |
| M65 | Unicachi Comas | Animal | 10.90 | 0.06 | 0.002 |
| M66 | | Animal | 7.33 | 0.21 | 0.001 |
| M67 | | Animal | 4.45 | 0.96 | 0.001 |
| M68 | | Animal | 2.10 | 0.93 | 0.001 |
| M69 | Mercado Central | Animal | 4.66 | 0.66 | 0.001 |
| M70 | | Animal | 6.99 | 0.81 | 0.002 |
| M71 | | Animal | 6.95 | 0.72 | 0.002 |
| M72 | | Animal | 12.45 | 0.25 | 0.001 |
| M73 | Mercado Mayorista de Canto Grande | Animal | 14.66 | 0.003 | 0.001 |
| M74 | | Animal | 5.12 | 0.004 | 0.002 |
| M75 | | Animal | 11.12 | 0.002 | 0.002 |
| M76 | | Animal | 3.55 | 0.003 | 0.001 |
| M77 | Mercado Productores Santa Anita | Animal | 9.18 | 0.002 | 0.002 |
| M78 | | Animal | 3.10 | 0.001 | 0.001 |
| M79 | | Animal | 7.89 | 0.001 | 0.002 |
| M80 | | Animal | 6.78 | 0.003 | 0.001 |

Anexo 8. Variaciones en las concentraciones de Aflatoxinas (a, d), Ocratoxinas (b, e) y Fumonisinas (c, f) en harinas destinadas a consumo humano (a, b, c) y a consumo animal (d, e, f) entre diferentes mercados. SN2: N°2 de Surquillo, CN2: Central N°2.



Anexo 9. Tabla con resumen de la prueba de Shapiro-Wilk para la evaluación de normalidad para las muestras de consumo humano.

| Micotoxinas | W | valor P |
|--------------|---------|-------------------------|
| Aflatoxinas | 0.97786 | 0.5953 (Normal) |
| Ocratoxinas | 0.57944 | 1.23×10^{-9} |
| Fumonisinias | 0.54795 | 4.787×10^{-10} |

Anexo 10. Tabla con resumen de la prueba Shapiro-Wilk para la evaluación de normalidad para las muestras de consumo animal.

| Micotoxinas | W | valor P |
|--------------|---------|-------------------------|
| Aflatoxinas | 0.97677 | 0.5556 (Normal) |
| Ocratoxinas | 0.80293 | 7.803×10^{-6} |
| Fumonisinias | 0.53239 | 4.168×10^{-10} |

Anexo 11. Tabla con resumen de la prueba de Shapiro-Wilk para la evaluación de normalidad para todas las muestras.

| Micotoxinas | W | valor P |
|--------------|---------|-------------------------|
| Aflatoxinas | 0.98549 | 0.5035 (Normal) |
| Ocratoxinas | 0.55689 | 3.648×10^{-14} |
| Fumonisinias | 0.53579 | 1.671×10^{-14} |

Anexo 12. Tabla con resumen de ANOVAs aplicados a Aflatoxinas.

| Grupos | | Grados de libertad | Suma de cuadrados | Media de cuadrados | Valor F | Valor P |
|--|------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------|------------------------|
| Aflatoxinas en harinas de consumo humano | Mercado | 9 | 420.8 | 46.76 | 6.562 | $3.96 \times 10^{-5*}$ |
| | Residuales | 30 | 213.8 | 7.13 | | |
| Aflatoxinas en harinas de consumo animal | Mercado | 9 | 79.6 | 8.844 | 0.57 | 0.811 |
| | Residuales | 30 | 465.7 | 15.524 | | |
| Aflatoxinas en harinas totales | Tipos de consumo | 1 | 75.6 | 75.58 | 4.997 | 0.0283* |
| | Residuales | 78 | 1179.9 | 15.13 | | |

Anexo 13. Tabla con resumen de Kruskal-Wallis aplicadas a Ocratoxinas.

| Grupos | Chi-cuadrado | df | Valor P |
|--|--------------|----|-------------------------|
| Ocratoxinas en harinas de consumo humano | 34.721 | 9 | 6.671x10 ^{-5*} |
| Ocratoxinas en harinas de consumo animal | 33.544 | 9 | 0.0001074* |

Anexo 14. Tabla con resumen de Kruskal-Wallis aplicadas a Fumonisinias.

| Grupos | Chi-cuadrado | df | Valor P |
|--|--------------|----|------------|
| Fumonisinias en harinas de consumo humano | 31.58 | 9 | 0.0002353* |
| Furmonisinias en harinas de consumo animal | 32.592 | 9 | 0.0001573* |

Anexo 15. Tabla con resumen de Mann-Whitney aplicadas.

| Grupos | W | Valor P |
|---------------------------------|-------|---------|
| Ocratoxinas en harinas totales | 771 | 0.7768 |
| Fumonisinias en harinas totales | 788.5 | 0.8893 |