

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD

DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



TESIS

**“DETERMINACIÓN DE OCRATOXINA A Y FUMONISINAS TOTALES POR
ELISA A PARTIR DE MAÍZ MORADO (*Zea mays*) DE CENTROS DE
EXPENDIO DEL CUSCO”**

PRESENTADO POR:

Bach. MUÑOZ GROVAS, JOSSELIN MADELEYNE

Bach. PFURO CABEZAS, HELLEN JESSICA

**PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL
DE BIÓLOGO**

ASESORA:

Blga. OLGA LIBIA CJUNO HUANCA

CUSCO-PERÚ

2023

DEDICATORIA

Quiero dedicar el presente trabajo de investigación a Dios por guiarme en el largo camino de la vida, por darme fortaleza y sabiduría para cumplir mis objetivos.

A mis padres: Samuel Muñoz y Isabel Grovas por ser la base fundamental de mi formación como persona con valores y principios. Por brindarme su amor y apoyo incondicional en todo momento

De igual forma a mis hermanas Miriam y Any con quienes he compartido momentos muy hermosos, quienes me han brindado su apoyo y deseo de superación.

Al Elgo. Freddy Loayza gracias por estar ahí para darme la fuerza y los ánimos que necesitaba en todo momento♥.

Y a toda la familia de la Clínica Avant Salud.

JOSSELIN M. MUÑOZ GROVAS

DEDICATORIA

Quiero dedicar el presente trabajo a mi mamá Antolina Cabezas y hermana Yovana quienes me apoyan continuamente.

A mi hijo Sebastián Paulo que es la razón de mi ser por quien me esfuerzo y sacrifico a diario.

HELLEN J. PFURO CABEZAS

AGRADECIMIENTO

Dar gracias a Dios por siempre estar guiándonos y dándonos la fuerza necesaria para seguir adelante.

A la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por habernos acogido durante nuestra formación profesional, así mismo a los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas por guiarnos y habernos impartido conocimientos durante nuestra formación.

A nuestra asesora Blga. Olga Libia Cjuno Huanca por permitirnos desarrollar el presente trabajo de investigación otorgándonos toda su confianza y amabilidad en dicho proyecto. Agradecemos su apoyo, dedicación, confianza y paciencia que han sido fundamentales para la culminación del presente trabajo de investigación.

Al MSc. Jorge Acurio Saavedra por el apoyo recibido, así como también por habernos brindado las facilidades en el uso del laboratorio y los equipos durante la elaboración del presente trabajo.

A la Dra. Hedy Espinoza Carrasco, por el apoyo recibido, la confianza y amabilidad.

Al T.M. Abelardo por la paciencia, instrucción y experiencia que fue de mucha ayuda en el desarrollo del presente trabajo.

Al Blgo. Freddy Loayza por la paciencia y apoyo en todo el trayecto de elaboración de la tesis.

A nuestros amigos: Yuri Cjuno, Brandon Soto, por su colaboración y amistad.

ÍNDICE

RESUMEN.....	I
INTRODUCCIÓN.....	II
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	IV
JUSTIFICACIÓN.....	VI
OBJETIVOS.....	VIII
HIPÓTESIS	IX

CAPITULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES	1
1.1.1. Internacionales	1
1.1.2. Nacionales.....	4
1.1.3. Locales	6
1.2. ORIGEN DEL MAÍZ	7
1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL MAÍZ	7
1.3.1. Posición taxómica del maíz	8
1.4. IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL MAÍZ EN EL PERU.....	8
1.5. EL MAÍZ CON RESPECTO AL CONSUMO HUMANO Y DE LOS ANIMALES	9
1.5.1. Clasificación del maíz.....	10
1.5.2. Maíz morado	11
1.6. CONTAMINACIÓN DE GRANOS DE MAÍZ POR MOHOS	13
1.7. HONGOS PRODUCTORES DE MICOTOXINAS	13
1.8. MICOTOXINAS	14
1.8.1. Factores determinantes en la producción de micotoxinas.....	16
1.8.2. Toxicidad de micotoxinas	17
1.8.3. Clasificación de micotoxinas	18
1.9. OCRATOXINA A (OTA).....	19
1.9.1. Características de Ocratoxina A.....	20
1.9.2. Composición química de Ocratoxina A.....	20
1.9.3. Biosíntesis de Ocratoxina A.....	21
1.9.4. Toxicidad de Ocratoxina A.....	21
1.9.5. Hongos productores de Ocratoxina A.....	22
1.10. FUMONISINA	26
1.10.1. Características de Fumonisina	26

1.10.2.	Composición química de Fumonisina.....	26
1.10.3.	Biosíntesis de Fumonisina	27
1.10.4.	Toxicidad de la Fumonisina.....	27
1.10.5.	Hongos productores de Fumonisina.....	28
1.11.	MÉTODOS PARA DETERMINAR MICOTOXINAS EN ALIMENTOS ...	29
1.12.	ELISA.....	30
1.13.	NORMAS Y REGULACIONES DE MICOTOXINAS	31
1.13.1.	Norma del Codex Alimentarius	31

CAPITULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.	ÁREA DE ESTUDIO	32
2.1.1.	Lugar donde se realizó la investigación	33
2.2.	MATERIALES.....	35
2.3.	METODOLOGÍA.....	38
2.3.1.	Tipo de investigación	38
2.3.2.	Flujograma de investigación	39
2.3.3.	Determinación de los puntos de muestreo.....	40
2.3.4.	Obtención de la muestra	40
2.3.5.	Acondicionamiento de muestra para análisis	41
2.4.	CUANTIFICACIÓN DE MOHOS EN MUESTRA DE MAÍZ MORADO según (ANMAT, 2014)	41
2.4.1.	Método por diluciones en agua peptonada (AP)	41
2.4.2.	Siembra por el Método de Incorporación.....	42
2.5.	IDENTIFICACIÓN DE GÉNERO DE HONGO según (Basilico et al., 2005).....	42
2.6.	ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO DE MAÍZ MORADO (Humedad, Acidez y pH).....	42
2.6.1.	Determinación del Contenido de Humedad por el Método de Desecación en Estufa según NTP, 205.037: 1975. Revisado el 2016.....	43
2.6.2.	Determinación de Acidez por el Método Volumétrico según NTP 205.039: 1975. Revisado el 2011	43
2.6.3.	Determinación de pH por el Método Colorimétrico Papel Indicador de pH (PAPEL MERCK)	44
2.7.	CUANTIFICACIÓN DE OCRATOXINA A POR EL MÉTODO INMUNOENZIMÁTICO ELISA.	44
2.8.	CUANTIFICACIÓN DE FUMONISINAS TOTALES POR EL MÉTODO INMUNOENZIMÁTICO ELISA. ACEPTADA POR AOAC-2001.06 ...	46
2.9.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	49
2.9.1.	Frecuencia	49
2.9.2.	Prueba de Normalidad – Saphiro Wilk	49

2.9.3. Coeficiente de Correlación de Pearson (Rxy)	49
--	----

CAPITULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Cuantificación de mohos en muestras de maiz morado.....	50
3.2. Identificación de géneros de mohos que contaminan el maíz morado.	52
3.3. Análisis Físico – Químicos	54
3.4. Correlación entre recuento de mohos, humedad, acidez y pH en maíz morado. .	63
3.5. Cuantificación y frecuencia relativa de Ocratoxina A determinada por ELISA en muestras de maíz morado provenientes de centros de expendio del cusco. ...	65
3.6. Cuantificación y frecuencia relativa de Fumonisinias totales determinada por elisa en muestras de maíz morado provenientes de centros de expendio del Cusco.	71
CONCLUSIONES.....	77
SUGERENCIAS.....	79
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA.....	80
ANEXOS	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Grupos de micotoxinas según estructura química.....	19
Tabla 2: Métodos para la detección de micotoxinas.....	29
Tabla 3: Número de puestos y muestras de maíz morado obtenidas en 10 centros de expendio: 6 mercados y 4 supermercados de la ciudad del Cusco (2022).	40
Tabla 4: Cuantificación de mohos (UFC/g) de muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco (2022)..	50
Tabla 5: Numero y porcentaje de muestras aceptables y no aceptables.....	51
Tabla 6: Porcentaje de los géneros de mohos contaminantes de maíz morado por centro de expendio.....	52
Tabla 7: Porcentaje de humedad en las muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco (2022).	54
Tabla 8: Desviación estándar y media de la humedad en muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco (2022)	56
Tabla 9: Prueba de ANOVA para determinar la diferencia entre las medias de humedad.	56
Tabla 10: Acidez de las muestras de maíz morado procedentes de los centros de expendio del Cusco (2022).	57
Tabla 11: Media y desviación estándar para acidez en muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco.	58
Tabla 12: Prueba ANOVA para determinar la diferencia entre las medias de acidez.....	59
Tabla 13: pH de las muestras de maíz morado procedentes de los centros de expendio del Cusco (2022).	60
Tabla 14: Media y desviación estándar del pH para muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco (2022).	61
Tabla 15: Prueba de ANOVA para determinar las diferencias de media de pH.	62
Tabla 16: Cuantificación de ocratoxina A por ELISA en muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco (2022).	65
Tabla 17: Frecuencia relativa de ocratoxina A en maíz morado en centros de expendio del Cusco.....	68
Tabla 18: Cuantificación de Fumonisinias totales por ELISA de muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco (2022).	71

Tabla 19: Frecuencia relativa de Fumonisinias totales en maíz morado de centros expendio del Cusco (2022).	74
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Maíz morado	11
Figura 2: Estructura de las antocianinas en frutos y vegetales.	12
Figura 3: Fases de crecimiento fúngico y localización de la síntesis de micotoxinas....	15
Figura 4: Riesgos para la salud humana.	17
Figura 5: Estructura química de las ocratoxinas.....	21
Figura 6: Crecimiento de cepa de <i>Penicillium sp.</i>	23
Figura 7: Tipos de ramificación de <i>Penicillium</i>	24
Figura 8: Características morfológicas de las principales especies de <i>Aspergillus</i> implicadas en la patogenia humana.	25
Figura 9: Estructura química de las fumonisinas del grupo B.....	27
Figura 10: Características microscópicas morfológicas del género <i>Fusarium</i>	28
Figura 11: Mapa de ubicación de los centros de expendio de maíz morado Cusco.	34
Figura 12: Flujograma de investigación.	39
Figura 13: Porcentaje de UFC/g en muestras de maíz morado.	51
Figura 14: Frecuencia de géneros de mohos contaminantes en el total de las muestras de maíz morado.....	53
Figura 15: Porcentaje de muestras Aceptables y No aceptables según humedad (%). ..	55
Figura 16: Frecuencia de acidez de las muestras de maíz morado.....	58
Figura 17: Rango del pH total de las muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco.....	60
Figura 18: Correlación entre el recuento de colonias de mohos con la Humedad	63
Figura 19: Correlación entre el recuento de mohos con el pH	63
Figura 20: Correlación entre recuento de mohos y la acidez.	64
Figura 21: Cuantificación de Ocratoxina A.....	66
Figura 22: Porcentaje de Ocratoxina A en muestras de maíz morado (<i>Zea mays</i>).....	67
Figura 23: Correlación entre Ocratoxina A y mohos	69
Figura 24: Cuantificación de Fumonisinas totales..	72
Figura 25: Porcentaje de Fumonisinas totales en muestras de maíz morado (<i>Zea mays</i>).	73
Figura 26: Correlación entre Fumonisinas totales y mohos	75

RESUMEN

Los mohos tienen la capacidad de colonizar diferentes sustratos, estos a su vez son capaces de producir micotoxinas las cuales son causantes de micotoxicosis en el hombre y animales tales como la ocratoxina A, producida por el género *Aspergillus* y *Penicillium* y las fumonisinas producidas por el género *Fusarium*. Se procesaron 38 muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco: 06 mercados y 02 supermercados, durante los meses de enero a abril del 2022, con el objetivo de cuantificar ocratoxina A y fumonisinas totales en muestras de maíz morado (*Zea mays L.*). Se determinó por ELISA ocratoxina A donde 7,9% (3) sobrepasan los límites máximos permisibles según el Codex Alimentarius (5ppb), con un rango entre 5,08 – 72,44 ppb. La producción de Ocratoxina A se relaciona con la presencia de *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* Se determinó por ELISA Fumonisinás totales donde el 53% (20) superan los límites máximos permisibles según el Codex Alimentarius (4ppm) con un rango entre 2,15 – 13,80 ppm. La producción de Fumonisinás totales se relaciona con la presencia de *Fusarium sp.* Se identificaron hongos de los géneros: *Penicillium sp.* 44.9%, *Aspergillus sp.* 31.4%, *Fusarium sp.* 18.9%, *Mucor sp.* 4.1%, *Scropulariopsis sp.* 0.5% y *Rhizopus sp.* 0.2%. También, se determinó una media para humedad de 32,06 ($\pm 7,07$), resultando que el 100% de muestras superan los límites máximos permisibles; Respecto a la acidez el 52,6% (20) presentaron valores por encima del límite máximo permisible y el 47,4% (18) con valores por debajo del límite máximo permisible. Respecto al pH el 7,9% (3) de las muestras son considerados no aceptables por la NTP 209.064. La correlación entre la cuantificación de mohos con humedad, acidez y pH fue positiva, pero no existe diferencia significativa.

Palabras clave: Ocratoxina A, Fumonisinás totales, maíz morado, ELISA.

INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays L.*) es uno de los principales cereales cultivados a nivel mundial por las cualidades alimenticias que posee, para la producción de proteína animal, el consumo humano y uso industrial; por lo cual tiene gran importancia para el mercado mundial. (Robles et al., 2018). Particularmente el maíz morado se caracteriza por su alto contenido de antioxidantes que retarda el proceso de envejecimiento celular, además de contrarrestar los efectos nocivos de los radicales libres, estrés oxidativo y la carcinogénesis, así como de ser un sustituto para colorantes alimenticios artificiales. (Guillén et al., 2014).

Es muy utilizado en la dieta humana, pero es un alimento muy susceptible a la contaminación por hongos y muchas veces es consecuencia del mal manejo de los granos durante la cosecha, así como también del almacenamiento de estos; generando pérdidas económicas, debido a la disminución en la calidad nutritiva del alimento y cambios en las condiciones organolépticas. (Medina, 2009)

Los hongos producen diversas micotoxinas como: aflatoxinas, ocratoxinas, tricocenos, fumonisinas, zearalenona, alcaloides entre otros; estas pueden causar enfermedades que se presentan tanto en humanos como en animales, las micotoxinas son moléculas tóxicas sintetizadas por hongos que crecen en plantas, hojas de árboles, restos de madera, henos, silos, granos, subproductos y otros alimentos almacenados; así como en lugares húmedos y en animales. (Perusia & Rodríguez, 2001)

Las micotoxinas pueden provocar en el hombre alteraciones en diversos órganos y sistemas, hasta la fecha existe evidencia que pueden ser potencialmente cancerígenas como la aflatoxina B1, fumonisinas y ocratoxina A. (Medina, 2009)

La ocratoxina A (OTA), es producida principalmente por hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*, que en concentraciones moderadas puede ser nefrotóxicas, así como a altas

concentraciones puede llegar a ser hepatotóxica, esta micotoxina es capaz de actuar como teratogénica, mutagénica y posiblemente embriotóxica. (Perusia & Rodríguez, 2001)

Las fumonisinas son micotoxinas que contaminan principalmente el maíz y son producidas por los hongos del género *Fusarium* como: *Fusarium moniliforme* y *Fusarium proliferatum*, durante el cultivo y almacenamiento del grano. La concentración de fumonisinas presentes en el maíz podría ser la causa de cáncer esofágico relacionado con la exposición a estas micotoxinas. (Torres & López, 2010)

Por lo mencionado anteriormente se realizó la determinación de Ocratoxina A y Fumonisinis totales por ELISA a partir de maíz morado procedentes de diferentes centros de expendio de la ciudad del Cusco.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El expendio de maíz morado en los centros de abasto no contempla un buen manejo por parte de las expendedoras quienes almacenan dicho producto de manera inadecuada (sacos, cajas o en el suelo), actuando sobre ello factores ambientales como la temperatura y humedad. Además, este producto no llega completamente seco siendo este un principal factor para la contaminación. Los factores antropogénicos como son: la mala manipulación de los alimentos, el inadecuado proceso en el lavado de manos, la segregación de residuos sólidos cerca a los centros de abasto; siendo estos los factores más relevantes para que el maíz morado pueda contaminarse con hongos y estas a su vez producir micotoxinas dañinas para la salud pública.

Las malas prácticas en la cosecha, transporte y almacenamiento de este alimento pueden provocar contaminación por hongos del género *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*, que son productores de micotoxinas.(MINAGRI, 2018)

Las micotoxinas son metabolitos secundarios producidos por algunas especies de hongos, lo que representa un peligro para la salud humana y de los animales, estas son sustancias tóxicas y pueden ser cancerígenas.(Bolet & Socarrás, 2005)

Se han identificado varios cientos de micotoxinas, las más frecuentes son: las aflatoxinas, la ocratoxina A, las fumonisinas, la zearalenona, la patulina, el nivalenol y desoxinivalenol. Las micotoxinas aparecen en la cadena alimentaria a consecuencia de la infección de los cultivos por mohos, ya sea antes o después de la cosecha. (OMS, 2018).

Los órganos más sensibles a la acción de la ocratoxina A son los riñones y el hígado, pudiendo causar necrosis tubular en los riñones y enteritis en el intestino delgado. (Bolet & Socarrás, 2005).

La fumonisina, es la más tóxica para los humanos, se ha asociado esta micotoxina con efectos hepatotóxicos, neurotóxicos, nefrotóxicos e inmunosupresores en humanos y

animales. Esta micotoxina se encuentra presente en cereales, siendo el maíz el más afectado, seguido de trigo y cebada. (Deepthi & Sreenivasa, 2021).

Las micotoxinas consumidas en alimentos son acumuladas por años en el ADN, causando efectos dañinos como mutaciones, malformaciones en fetos, abortos y diferentes tipos de cáncer (hígado, páncreas, pulmón o cervicouterino). (Carvajal, 2013)

En el Perú, durante el periodo del 2014 al 2018 la distribución de los casos de cáncer fue: al estómago 11,1%; a la próstata 5,4%; al sistema hematológico 3,3%, al hígado 1,8% y al riñón 1,4%. (MINSa, 2021)

Por lo mencionado anteriormente nos hicimos la siguiente interrogante:

¿Las concentraciones de Ocratoxina A y Fumonisinias totales presentan valores que superan los límites máximos permisibles según Codex Alimentarius en muestras de maíz morado (*Zea mays L.*) procedentes de centros de expendio de la ciudad del Cusco?

JUSTIFICACIÓN

La Seguridad Alimentaria Nutricional, es un estado por el cual todas las personas gozan de forma oportuna y permanente, el acceso económico, físico y social a los alimentos que necesitan, en calidad y cantidad, para su adecuado consumo y utilización, garantizándoles un estado de bienestar que coadyuve al logro de su desarrollo. (FAO, 2006).

Son importantes las Buenas Prácticas Agrícolas de higiene y manipulación con el fin de disminuir las causas de riesgo que pueden predisponer la contaminación de los cereales cultivados por micotoxinas de los hongos.(Elika, 2013)

El maíz es uno de los alimentos más susceptibles a la acumulación de micotoxinas con carácter hepatotóxico, nefrotóxico y carcinógeno. Por otro lado, el control de calidad de los alimentos en el Perú según la RM 591-MINSA-2008, contempla controles microbiológicos mas no criterios que comprenden la determinación de micotoxinas.

Los principales factores asociados a la toxicidad de las micotoxinas en humanos son: la biodisponibilidad y la toxicidad, así como la cantidad de micotoxinas y la concentración del alimento consumido, el peso y la edad de la persona. Por ende, los niños y jóvenes son mucho más susceptibles a contaminarse debido a que ellos no cuentan con suficientes mecanismos de detoxificación. En los niños el cerebro continua desarrollándose durante muchos años por ende son mucho más susceptibles pudiendo verse afectado el sistema nervioso central, poniendo en riesgo su salud.(Gimeno & Martins, 2003)

El *Zea mays L.* variedad morada, es una variedad genética de maíz peruano, este fruto contiene el pigmento denominado antocianina, que se encuentra en mayor cantidad en la coronta y en menor proporción en el grano, siendo este uno de los principales alimentos en la dieta peruana, utilizado a menudo en la preparación de bebidas como la chicha morada, api y postres como la mazamorra morada. (Guillén et al., 2014).

Los factores fisicoquímicos que influyen en la producción de micotoxinas en los alimentos ya sea durante el crecimiento del cultivo o tras la cosecha, el almacenamiento, transporte son: la temperatura, humedad y la actividad de los insectos son factores ambientales que pueden favorecer la diseminación y crecimiento del hongo y la producción de toxinas. Por otro lado, son importantes también las condiciones ambientales la presencia y concentración de las toxinas es variable durante todo el año a las condiciones climáticas. (Blandon & Denli, 2011).

En el Perú existe escasa investigación sobre las micotoxinas en alimentos de primera necesidad motivo por el cual se propuso realizar esta investigación en el maíz morado para así demostrar la existencia de Ocratoxina A y Fumonisin totales en dicho producto.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar las concentraciones de Ocratoxina A y Fumonisinas totales por ELISA a partir de muestras de maíz morado (*Zea mays L.*), procedentes de centros de expendio del Cusco.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar la cuantificación e identificación de mohos a partir de muestras de maíz morado (*Zea mays L.*).
2. Realizar el análisis físico - químico (humedad, acidez y pH) del maíz morado (*Zea mays L.*).
3. Determinar la concentración de Ocratoxina A y Fumonisinas totales, por el método ELISA.
4. Establecer correlación entre la concentración de Ocratoxina A y Fumonisinas totales respecto a la cuantificación de hongos.

HIPÓTESIS

La concentración de ocratoxina A y fumonisinas totales determinadas por ELISA, a partir de muestras de maíz morado (*Zea mays*), obtenidos de los centros de expendio del Cusco, sobrepasan los límites máximos permisibles según el Codex Alimentarius.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES

1.1.1. INTERNACIONALES

- **Robledo, et al., (2001).** En su estudio titulado "Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México)" estudiaron la presencia de micotoxinas para maíz forrajero (zearalenona, fumonisina B1, toxina T-2 y diacetoxiscirpenol) y para café verde (ocratoxina A), en muestras procedentes del estado de Nayarit (México). Las muestras de maíz analizadas presentaron una contaminación por fumonisina B1 con una concentración promedio de 2,541 µg/Kg, además el 15% contenían zearalenona con un promedio de 1,610 µg/Kg y para la toxina T2 el promedio fue de 7 µg/Kg. Para las muestras de café verde se encontró un promedio de ocratoxina A de 30,1 µg/Kg.
- **Ortiz & Ramírez, (2006).** En su tesis titulada "Determinación de la composición química proximal y fibra dietaria de 43 variedades de criollas de maíz de 7 municipios del sureste de estado de Hidalgo", en México determinaron la composición química del maíz criollo, en 43 muestras de maíz encontraron un promedio de 8.61% de humedad, 1.44% de ceniza, 10.06% de proteína, 5.08% de grasa y 15.19% de fibra. En general se encontró una humedad de 8.61 (±0.81).
- **Vega, (2012).** Realizo el estudio "Hongos micotoxigénicos y aflatoxinas en granos de maíz de diferentes orígenes geográficos de la república mexicana" Determinando la presencia de mohos y aflatoxinas en muestras de maíz, de distintos puntos como: campos, silos y restos de cultivos de: Chiapas Nayarit, Guanajuato, Michoacán, Coahuila, Hidalgo, Jalisco,

Sonora, Taulipas, Oaxaca, Quintana Roo, Veracruz, Nuevo León y Zacatecas. Se determinaron mohos toxico génicos como: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium* y *Penicillium*. Presentaron una incidencia para *Fusarium* de 76.99%, *A. flavus* con 11.72%, *A. parasiticus* con 0.57% y *Penicillium sp.* con 0.53%. La cuantificación de aflatoxinas se realizó mediante el método de Aflatest de Vicam modificado, en el cual todas las cepas sobrepasan todos los límites máximos permitidos según la norma Oficial Mexicana NOM – 187-SSAI/SCFI-2001 constituidos por 20pb, para las harinas y cereales; las concentraciones de aflatoxina variaron entre 22 – 2250 ppb.

- **Villela et al., (2018).** En la investigación que realizaron, hicieron la determinación cuantitativa y cualitativa de micotoxinas (aflatoxinas, fumonisinas, ocratoxina A y desoxinivalenol) en granos de maíz producidos y consumidos en diferentes localidades de los municipios de Jocotán, Camotán y San Juan Ermita del departamento de Chiquimula-Guatemala. Del total de las 96 muestras tomadas por etapas en tapisca (cosecha de maíz), se obtuvo el 15.2% aflatoxinas, 0,73% ocratoxina y 0% desoxinivalenol; para la etapa de almacenamiento 33,3% aflatoxinas, 33,3% ocratoxina, 23,5% fumonisinas y 0% desoxinivalenol mostrando alta presencia y para la etapa de consumo se obtuvo fumonisinas en un 6,7% en un nivel alto de micotoxina. Los niveles de las micotoxinas aumentan durante el almacenamiento por factores como la humedad del grano en la cual se almacena y la temperatura ambiental durante este periodo. El 100% de las muestras resultaron positivas para las micotoxinas en estudio asumiendo un nivel de confianza del 95%.
- **Esposito & Ferraguti (2019).** En su trabajo de investigación titulado "Identificación de hongos en espigas de maíz tardío y acumulación de fumonisinas y DON durante el secado

a campo” en la localidad de Oliveros (Argentina). Seleccionaron aleatoriamente 50 muestras. Seleccionaron 50 muestras aleatoriamente y determinaron fumonisinas y DON por ELISA encontrando que se hallaban dentro del rango de recomendación según la FDA (Food and Drugs Administration) de los Estados Unidos.

- **Maldonado (2020).** En su tesis titulada “Fumonisinas en muestras de harina de maíz comercializadas en Resistencia – Chaco: Comparación de un método comercial rápido de ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de referencia para la detección y cuantificación”. En la localidad de Córdoba (Argentina). Realizó la detección de fumonisinas en 30 muestras de harina de maíz envasada y 30 sueltas, colectadas de diferentes comercios como: minoristas, supermercados y almacenes de barrio. El 30% del total de muestras (envasadas más sueltas) presentaron valores entre el límite de detección y 1,00ppm; el 20% entre 1,00 y 2,00ppm; el 24% entre 2,00 y 3,00ppm y el 26% mayor a 3,00ppm. Asimismo, encontró que las harinas de almacén tuvieron mayor grado de contaminación respecto a las envasadas de los supermercados. La comparación de 15 muestras que sobrepasan 2,0ppm por el método de ELISA y por HLPC, se halló el promedio de fumonisinas totales de 7,36ppm. Y de las otras 15 muestras analizadas por el método de ELISA fumonisinas en 4,67ppm. Los dos métodos demostraron una buena correlación de $R^2=0.82$, de las muestras analizadas estas contenían el género *Fusarium*, entre ellas la especie de *Fusarium verticillioides*, fue la principal especie productora de fumonisinas, en 13 muestras se aisló *Aspergillus*, en 9 muestras especies de *Penicillium*, en 4 de las muestras *Alternaria* y en 1 muestra *Aspergillus* sección *Flavi* y también sección *Nigri* y *Mucor spp.*

1.1.2. NACIONALES

- **Salcedo et al. (2001).** En su trabajo de investigación titulado "Determinación de ocratoxina en maíz utilizado en granjas porcinas de Lima – Perú". Determinaron ocratoxina A en maíz usado en granjas porcinas de Lima. De 62 muestras de maíz amarillo mediante método Inmunoenzimático de ELISA, observaron que el 35.5% de las muestras estaban contaminadas con ocratoxina A en un promedio de 8 ug/kg según la FAO.
- **Reyes, (2006).** En el estudio titulado "Determinación de Aflatoxinas y Ocratoxinas en la maca seca y harina de maca (*Lepidium meyenii walp*)". Determinó las concentraciones de aflatoxinas y ocratoxina de las muestras que recolectó en 4 comunidades y 4 mercados en diferentes lugares del Perú (Junín, Cerro de Pasco, Huancavelica y Lima) por el método de ELISA. Encontró en maca seca, 29.17% con concentraciones menores de al límite máximo permitido según la USFDA para aflatoxina total; para ocratoxina A el 1.4% se encuentran libres de toxinas y el 76.4% por debajo del límite máximo, sin embargo, se observó que el 22,2% representa un peligro, porque sobrepasan los límites máximos permitidos según la norma USFDA siendo no aptos para el consumo. En las muestras de harina de maca aflatoxinas total el 91.67% de las muestras se encuentran sobre el límite máximo permitido, estas no se encuentran aptas para el consumo y en ocratoxina A el 75% tuvieron concentraciones en niveles menores al límite máximo permitido indicando riesgo de contaminación; pero, el 25% del total de las muestras de harina de maca representa peligro porque contiene ocratoxina A en niveles superiores al límite máximo permitido según la USFDA.
- **Pino, (2011).** En su tesis titulada "Caracterización fisicoquímica de la harina de maíz criollo (*Zea mays amylacea*) y su aplicación en la elaboración de pan". Caracterizó la harina

de maíz amiláceo por sus propiedades físico químicas con una densidad de 0,60g/cm³; pH de 6,53; acidez total de 0,14% expresado por ácido sulfúrico; humedad de 11,31; proteínas 10,0; carbohidratos 72,01. Además de estudiar la composición de la masa para pan.

- **Guerrero & Parreño, (2018).** En su tesis “Determinación de micotoxinas por el método de ELISA en soya para aves en producción en la provincia de Chincha – Lima”. En 20 molinos de 5 distritos (Chincha Alta, Pueblo Nuevo, Grocio Prado, Sunampe y Alto Larán), del 100% de las muestras analizadas para aflatoxinas ninguna de las muestras sobrepaso los límites permisibles (10ppb). Con respecto a la ocratoxina A (OTA) el 20% se encontraban por encima de la norma (50ppb) según GIMENO y el 80% se encontraba dentro de los límites máximos permitidos. Referente a la toxina T-2 el 60% de las muestras con valores por encima de la norma (150ppb) y el 40% se encontraba dentro de los límites máximos permitidos según Gimeno.
- **Cabanillas & Castro, (2022).** En su tesis titulada “Evaluación de ocratoxina A y análisis micotoxigénicos en *Zea mays L.* maíz morado” en Lima. Evaluaron ocratoxina A por el método de HPLC separadas por columnas de afinidad además identificaron la presencia de hongos por método directo e indirecto. Las muestras presentaron un nivel de contaminación de 10,92; 13,27 ppb de OTA; el contenido de OTA supera los límites máximos permisibles (5µg/kg) establecidos por la Unión Europea. Se identificaron la presencia de *Penicillium sp.* *Rhizopus sp.*, *Geotrichum sp.* mediante el método directo y *Rhizopus sp.* mediante el método indirecto.

1.1.3. LOCALES

- **Romero et al. (2018).** En su tesis “Cuantificación de aflatoxinas totales en harina de maíz que se expende en tres mercados de la ciudad del Cusco”. De las 36 muestras de harina de maíz procedentes de los mercados de San Pedro, Ttio y Vinocanchón. En los resultados para aflatoxinas se obtuvo que el 92% de las muestras se encuentran dentro de los límites máximos permisibles y en el 8% no se detectó. El género *Fusarium* presento frecuencia de 77.17%, *Penicillium* 17.14%, *Mucor* 5.01%, *Aspergillus* 0.19%, *Rhizopus* 0.49% y *Scropulariopsis* 0.05%. En la determinación de humedad, de las 36 muestras el 5.56% superan estos límites máximos permisibles según la norma del CODEX STAN 154 – 1985, estas muestras fueron provenientes del mercado San Pedro. Para la determinación del pH el 81% de las muestras presento una media de 4,59 los cuales, se encuentran dentro del rango según la NTP 209.064.

1.2. ORIGEN DEL MAÍZ

El maíz es uno de los tres granos esenciales para la alimentación de la humanidad, además de ser un recurso filogenético social y cultural legado por los antiguos peruanos al mundo. Es originario de la cultura andina peruana, las evidencias son los fitolitos mazorcas y granos de prototipos de las razas: Kculli, Confite y Morocho encontrados en las cuevas de Guitarreros Choquequirao, así también en los fardos funerarios de las planicies de Casma y Huarney, las cuales fueron sometidas al carbono 14, demostrando que tienen una antigüedad de 4756, 6081, 12000 a.C. (Pérez, 2020)

La importancia en el consumo del maíz permitió el desarrollo de culturas peruanas como son Paracas, Chimú, Nazca, así como también el imperio incaico; considerándose al maíz como base de la alimentación de las culturas americanas. (MINAGRI, 2019)

1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DEL MAÍZ

El maíz perteneciente a la familia de las poaceae, es una planta robusta y anual, presenta una raíz fasciculada que da el anclaje de la planta al suelo, el tallo es simple erecto y de elevada longitud con pocos macollos o ramificaciones; por su aspecto se asemeja a la caña de azúcar por la presencia de nudos y entrenudos y una medula esponjosa.(MINAM, 2018)

Las hojas son alargadas de borde áspero, lanceoladas y paralelinervadas las cuales nacen de los nudos de manera alterna a lo largo del tallo; estas abrazan al tallo por medio de una vaina que envuelve el entrenudo y la yema floral.(Kato et al., 2009).

Las yemas presentan un limbo ancho, alargado y flexuoso; del tallo nacen dos o tres inflorescencias muy densas o mazorcas envueltas en espatas de la axila de la hoja. Además, el maíz es una planta monoica ya que las flores femeninas están separadas de las

masculinas, la inflorescencia masculina es una panoja y la inflorescencia femenina se desarrolla dentro de la mazorca. (MINAM, 2018)

En las mazorca se ven filas de granos cuyo número puede variar de ocho a treinta.(Freddy, 2008).

1.3.1. POSICIÓN TAXÓMICA DEL MAÍZ

En cuanto a su posición sistemática, el maíz según la nomenclatura ofrecida por Linneo en 1737 (Fernández, 2009) en su libro “Genera Plantarum”, se nombra como *Zea mays*, con la siguiente clasificación:

Reino: Vegetal (Plantae)

División: Angiospermae (Magnoliophyta)

Subdivisión: Pteropsidae

Clase: Monocotyledoneae

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Tribu: Maideae

Género: *Zea*

Especie: *Zea mays L.* (MINAM, 2018)

1.4.IMPORTANCIA DEL CULTIVO DEL MAÍZ EN EL PERÚ

El maíz es el tercer cultivo más importante en el mundo por su gran adaptabilidad, este alimento se cultiva en casi todo el mundo siendo este el alimento básico para millones de personas en América Latina.(Sánchez, 2021)

El maíz es uno de, los principales cultivos en el Perú. En promedio se siembran unas 520 mil hectáreas de maíz al año a nivel nacional y alrededor de 82 mil familias dependen

directamente de este cultivo, lo que demuestra su importancia socioeconómica para el país. En el caso del maíz amarillo duro (MAD), aproximadamente el 90% del área de MAD está destinada a la producción de grano usado para la alimentación de pollos cerdos y vacunos y el 10% del área restante se destina a la producción de forraje para la alimentación de ganado lechero. En los últimos años se viene usando la planta del maíz para la alimentación de animales menores como los cuyes. (León, 2020).

Cuando hablamos del maíz peruano, debemos saber que en el Perú existen alrededor de 52 razas de maíces y cientos de variedades, a las que se suman los maíces híbridos y los maíces introducidos de otras regiones del mundo que lograron adaptarse a las características edafológicas y climáticas de nuestro país. (MIDAGRI, 2021)

La producción de maíz amiláceo se lleva a cabo en 19 departamentos del Perú, sin embargo, el 37% de la producción nacional se concentra en Cusco y Apurímac. En caso del Cusco, ocupa el primer lugar como zona de producción por la creciente demanda del maíz blanco gigante del Cusco; que es un maíz harinoso de grandes granos con solo ocho filas por mazorca. (MINAGRI, 2019)

1.5.EL MAÍZ CON RESPECTO AL CONSUMO HUMANO Y DE LOS ANIMALES

La desnutrición es uno de los más grandes problemas, ya que este afecta a 178 millones de niños en todo el mundo, de los cuales 55 millones son menores de 5 años estos, sufren desnutrición aguda, una enfermedad que termina con la vida de nueve niños cada minuto. (Mazón et al., 2012)

Actualmente el maíz constituye el tercer cereal más cultivado en el mundo, después del trigo y el arroz, considerándolo, así como la base de la alimentación de muchos países. El maíz es un alimento muy completo, que contiene muchas vitaminas y minerales que

favorecen al metabolismo de los humanos. Por ello la OMS recomienda el consumo de este alimento. (Pénelo, 2018). El maíz es un cereal que tiene un consumo diferencial, según el ámbito geográfico; por el lugar donde habitan el mayor consumo se da en el ámbito rural 12.60 kilogramos cuatro veces más que en el área urbana que tiene un consumo promedio per cápita de 2.9 kilogramos al año. (INEI, 2009).

La calidad de la producción de maíz afecta la alimentación de los animales, por lo cual se busca un alto rendimiento. Cabe señalar que la distribución, envejecimiento y preservación de la materia seca, las cuales establecen el valor nutritivo del cultivo de maíz. (Flores, 2020)

1.5.1. CLASIFICACIÓN DEL MAÍZ

El maíz posee una variabilidad en el color del grano, la textura, la apariencia y la composición. Puede ser clasificado en diferentes tipos según: la constitución del endospermo y del grano, el ambiente en que es cultivado, el color del grano, la madurez y el uso que se le da.(FAO, 2001).

De acuerdo al caso evolutivo del Perú se establecieron 9 grupos, razas y subrazas:

1. Grupo Tunicados: raza Pesqoruntu y subraza Oq'e.
2. Grupo Reventones: raza Confite, subraza Blanco puntiagudo, Puneño, Morocho y Wayra.
3. Grupo Colorantes: raza Kculli subraza; Yanasara.
4. Grupo Dulces: raza Chullpi, subraza; P'acchu, Amarillo y Rojo.
5. Grupo Cristalinos: razas Cuzco cristalino amarillo y Cuzco cristalino blanco.
6. Grupo Morochos: raza Morocho, subraza; Amarillo, Amarillo Mollepata, Chaminco, Rojo Mollepata y Morado canán.

7. Grupo Amiláceos Propiamente Dichos: raza Cuzco Gigante, subrazas; Amarillo Calca, Saqta t'ika, Q'asa lucuchanca, Saqsa cuti, Wayra y Waccamolle.
8. Grupo Amiláceos de Montaña - Yunga: razas Laurel y Punayso.
9. Grupo Amiláceos Cancheros: razas Pesqoruntu, Rabo de zorro, Huancavelicano yuraq y waccamolle, Granada t'ika, Granada yuraq piña. (Pérez, 2020)

1.5.2. MAÍZ MORADO

El maíz morado se puede sembrar entre los 1200 y 2400 metros de altitud. Las épocas más propicias de siembra en la sierra corresponden entre los meses de agosto y octubre; y en la costa entre los meses de abril y setiembre. (Chávez, 2000). En el Perú se siembran aproximadamente 500 ha de maíz morado, las variedades más conocidas son Negro de Junín, Morado de Caraz, Cusco morado, Arequipeño y Canteño entre otras variedades mejoradas. (Vásquez et al., 2020)

El maíz morado es oriundo de América, posee un epispermo (granos) y la tusa (coronta) las cuales poseen los pigmentos llamados antocianinas, estos pertenecientes al grupo de los flavonoides. Esta coloración es resultado de la acción de los genes que se encuentran localizados en los cromosomas. (Guillén et al., 2014)

Figura 1: Maíz morado

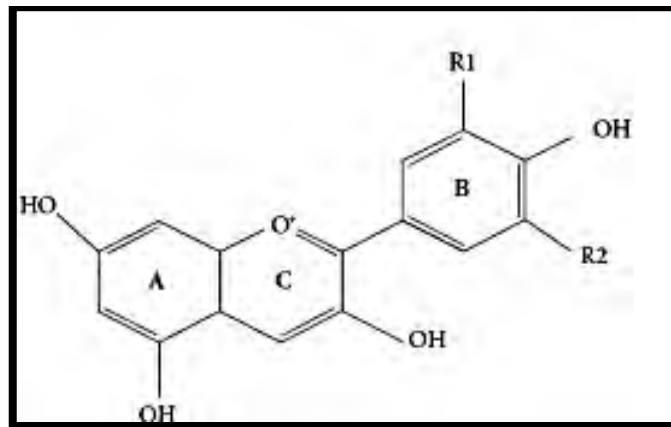


(MIDAGRI, 2021)

Composición Química del Maíz Morado

Los componentes químicos que posee el maíz morado son: ácido salicílico, grasas, resinas, saponinas, sales de potasio y sodio, azufre y fósforo y sus compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos que se encuentran en el maíz morado, actúan como antioxidantes secuestrando especies reactivas de oxígeno e inhibiendo enzimas productoras de radicales libres; dentro de estos compuestos tenemos las antocianinas, que son pigmentos hidrosolubles ampliamente distribuidos en los vegetales. La cianidina 3-glucosido, es una importante antocianina presente en el maíz morado; esta puede suprimir el 7, 12- dimetilbenzo antraceno el cual induce a la carcinogénesis mamaria, lo cual indicaría que el color morado puede ser un agente quimioterapéutico prometedor. (Guillén et al., 2014).

Figura 2: Estructura de las antocianinas en frutos y vegetales.



(Guillén et al., 2014)

Importancia del Maíz Morado

El maíz morado es usado de forma casera como colorante natural para la “mazamorra morada” y la “chicha”. A nivel industrial es usado para obtener colorante de la coronta debido al alto contenido de antocianinas que posee; este pigmento es usado a nivel

industrial para la coloración de bebidas, productos de panadería, lácteos, vegetales, conservas de pescado, mermeladas, aceites, frutas en almíbar y confitadas, jarabes de fruta; también son usadas para el teñido de tejidos y para la industria de los cosméticos. Así como también del grano se aprovecha el almidón para la preparación de alimento de animales. (MIDAGRI, 2021).

1.6.CONTAMINACIÓN DE GRANOS DE MAÍZ POR MOHOS

En la actualidad el interés de los hongos y las micotoxinas es grande, no solo desde el punto científico sino desde una perspectiva económica. Son varios los problemas que se originan desde el agricultor hasta el consumidor final, por ejemplo, el bajo rendimiento de las cosechas, el empeoramiento de los índices técnicos de los animales de granja, las enfermedades en estos, la alteración de los alimentos; así como, pérdida de las características organolépticas y nutricionales de estas. Además de los costos elevados para la prevención y tratamiento descontaminante para citar alguno de ellos. (Almudena & Lizaso, 2001).

Las micotoxinas que se encuentran en los alimentos son las aflatoxinas, la ocratoxina A, la patulina, las fumonisinas, la zearalenona y el nivalenol y desoxinivalenol. (OMS, 2018)

1.7.HONGOS PRODUCTORES DE MICOTOXINAS

Los mohos crecen sobre materias vegetales produciendo su deterioro. Formando así metabolitos secundarios que ejercen función como antibióticos, favoreciendo la prevalencia del moho frente a otros microorganismos, muchos de estos son tóxicos para plantas o para animales. Estos metabolitos que pueden provocar enfermedad o la muerte a los animales que los consumen se conocen como micotoxinas y la afección que produce recibe el nombre de micotoxicosis. (Gómez, 2007).

Las micotoxinas son compuestos químicos producidos de manera natural por diferentes hongos, principalmente de los géneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* y *Fusarium*. (Elika, 2018).

Los mohos productores de aflatoxinas son de diversas especies del género *Aspergillus*. La patulina es una micotoxina presente en manzanas malogradas contaminadas por *Penicillium expansum*. La Ocratoxina A producida por varias especies de *Aspergillus* y *Penicillium*. Las fumonisinas, son un grupo de micotoxinas producidas por *Fusarium moniliforme*. Los tricotecenos son un grupo de micotoxinas producidas por hongos del género *Fusarium* y otros géneros relacionados.(Gómez, 2007)

1.8.MICOTOXINAS

Las micotoxinas son metabolitos fúngicos secundarios que son producidos por mohos filamentosos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea, que puede llegar a generar diferentes enfermedades o incluso la muerte en personas y animales. Estos compuestos ya han causado daños a la humanidad desde tiempos ancestrales; pero, hasta principios de la década de los 60 del siglo XX empezaron a ser caracterizados, tras el descubrimiento de las aflatoxinas. (Ramos et al., 2011).

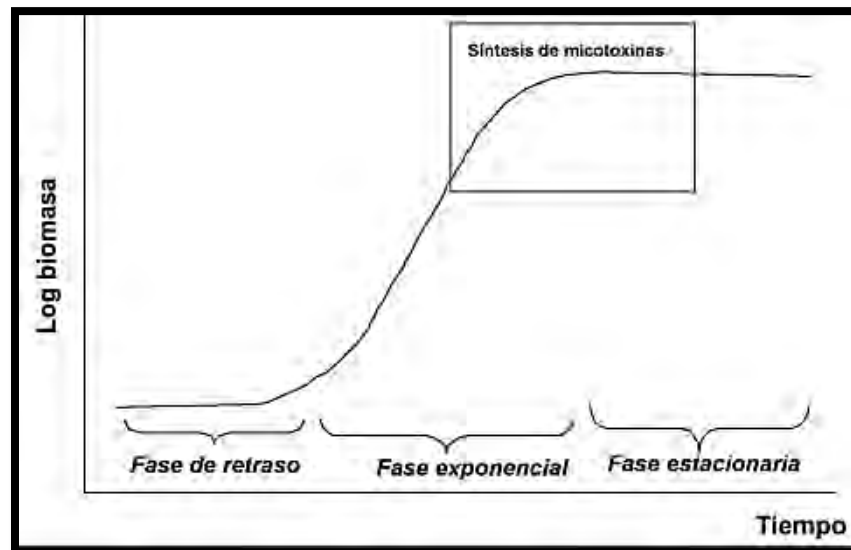
Las micotoxinas son compuestos tóxicos producidos de forma natural por algunos mohos. Estos mohos productores de micotoxinas crecen en diferentes alimentos, como: cereales, frutos secos y especias. El crecimiento de estos organismos puede tener lugar antes o después de la cosecha, el almacenamiento o en el entorno cálido, húmedo de estos alimentos. La mayoría de micotoxinas son químicamente estables y persisten tras el procesamiento de los alimentos. (OMS, 2018)

Según la FAO, el 25% de los cultivos alimentarios mundiales son alterados por hongos productores micotoxinas. (Elika, 2018).

Las micotoxinas, son compuestos producidos cuando la fase de crecimiento llega a su etapa final y durante la fase estacionaria, siendo asociados a la diferenciación y esporulación.

Las micotoxinas son uno de los riesgos que se asocian a los alimentos que integran la dieta habitual. Cereales, frutos secos y sus subproductos son los alimentos más susceptibles de acumular toxinas fúngicas. El bajo contenido hídrico de estos alimentos favorece la conservación de las micotoxinas. Si las condiciones de cultivo o de almacenamiento no son las más idóneas, los mohos pueden sintetizar toxinas, que, tras ser ingeridas por el consumidor, desencadenarán la llamada micotoxicosis primaria. En otros casos, la enfermedad por micotoxinas llega a la población a través de productos de origen animal (carne o leche) no contaminados directamente por mohos: es lo que se denomina micotoxicosis secundaria. (Gómez, 2007).

Figura 3: Fases de crecimiento fúngico y localización de la síntesis de micotoxinas.



(Soriano, 2007)

1.8.1. FACTORES DETERMINANTES EN LA PRODUCCION DE MICOTOXINAS

Según la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación (FAO), aproximadamente el 25% de los cultivos mundiales se ven afectados por hongos productores de micotoxinas. (Vukasevic, 2020)

Al tratarse de metabolitos secundarios, su producción depende de la temperatura y la humedad, en zonas con temperaturas elevadas y clima húmedo, la producción máxima se da entre temperaturas de 24 y 28 °C.(Elika, 2018)

De toda la flora contaminante en los alimentos, sin tener en cuenta las condiciones de almacenamiento y conservación, solamente un aparte de la flora contaminante inicial llega a proliferar lo suficiente para que esta produzca alguna alteración sobre el producto. Podemos considerar una serie de factores que influyen sobre los microorganismos que son seleccionados de la microflora inicial. (Soriano, 2015)

A. Factores intrínsecos: relacionado con la composición química y las propiedades biológicas y físicas del alimento. Así también como la actividad del agua y el pH.

B. Factores extrínsecos: estos son propios del medio ambiente donde se almacena y conserva el alimento como: la temperatura, tensión de oxígeno, humedad ambiental, presencia o ausencia de luz.

C. Factores relacionados con el tratamiento tecnológico a la cual es sometido producto, como por ejemplo los tratamientos físicos (térmicos), químicos y biológicos.

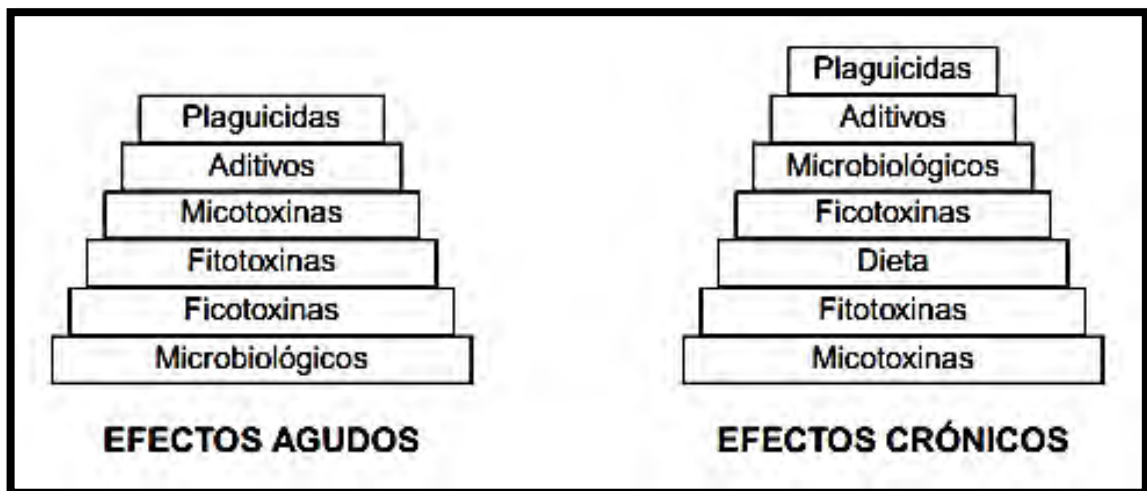
D. Factores implícitos, relacionados a la competencia y dependencia de los microorganismos que se encuentran sobre el alimento. (Soriano, 2007)

1.8.2. TOXICIDAD DE MICOTOXINAS

Elevadas cantidades de micotoxinas en la alimentación puede producir efectos adversos agudos y crónicos tanto para la salud de hombre y de las especies animales. Estos efectos pueden afectar a distintos órganos, aparatos o sistemas, especialmente a los riñones, el hígado, sistema nervioso, inmunitario o endocrino. Los síntomas que pueden causar estas micotoxinas suelen ser diferentes unas de otras por las estructuras químicas que poseen. (Soriano, 2007)

El riesgo de sufrir intoxicaciones agudas por micotoxinas es caso del hombre es bajo o moderado a comparación de intoxicaciones de origen microbiológico o por contaminación química. La exposición crónica a estas puede ser muy severa (cáncer), las micotoxinas presentan mayor riesgo toxico que otros contaminantes de origen antropogénico, plaguicidas o aditivos alimentarios.(OMS, 2018)

Figura 4: Riesgos para la salud humana.



(Soriano, 2007)

1.8.2.1. MODO DE ACCIÓN DE LAS MICOTOXINAS

El mecanismo de acción de las micotoxinas sobre el sistema inmunitario difiere del tipo de la micotoxina de cual se trate. La inmunosupresión que es producida por toxinas se presenta como una disminución de linfocitos T o B, retraso de la actividad de los macrófagos y neutrófilos, supresión de anticuerpos o la disminución de la actividad de complemento. (Soriano, 2007)

Las micotoxinas también pueden desenvolverse sobre el metabolismo de glúcidos y lípidos. Sobre el metabolismo de los glúcidos actúan la ocratoxina A, citrininas, aflatoxina B y rubratoxina, mientras que sobre los lípidos tienen acción las aflatoxinas, citrininas, ocratoxinas y tricocenos. Además, estas presentan efectos tóxicos específicos en el sistema nervioso central, hígado, riñón, piel y tracto intestinal. (Veneros et al., 2017)

1.8.3. CLASIFICACIÓN DE MICOTOXINAS

Se han identificado varias micotoxinas, pero las más frecuentes que acarrear un problema para la salud humana y de los animales son: aflatoxinas, ocratoxina A, fumonisinas, zearalenona, patulina, nivalenol y desoxinivalenol. Estas micotoxinas parecen en la cadena alimenticia a consecuencia de la contaminación de los cultivos por mohos, sea esta antes o después de la cosecha. La exposición a las micotoxinas puede darse directamente al consumir alimentos infectados o indirectamente a partir de animales alimentados con comida infectada, en particular la leche. (OMS, 2018)

La clasificación más usada fue en base al género de hongo productor de micotoxina; pero, actualmente la clasificación más utilizada es basada en la estructura química y su polaridad dividiéndose en 7 grupos.(Alcázar, 2013)

Tabla 1: Grupos de micotoxinas según estructura química.

GRUPO	MICOTOXINAS	PRINCIPALES HONGOS PRODUCTORES	ESTRUCTURA QUÍMICA
Aflatoxinas	Aflatoxina B1 Aflatoxina B2 Aflatoxina G1 Aflatoxina G2	Aspergillus sp	Dihidro o tetrafuranos
Ocratoxinas	Ocratoxina A Ocratoxina B	Aspergillus sp Penicillium sp	Derivados isocumarinicos
Tricocenos (Tipo A y B)	DAS, T2, TH-2, etc. DON, nivanol, etc	Fusarium sp	Esqueleto tetracíclico
Fumonisinias	Fumonisinina A Fumonisinina B	Fusarium sp	Cadena hidrocarbonada
Zearalenona	Zearalenona	Fusarium sp	Lactonas macrocíclicas
Alcaloides	Ergot, etc...	Claviceps sp	Alcalenos
Otros	Patulina, Roquefortina,etc	Penicillium sp	Varias

Citado por (Alcázar, 2013)

1.9.OCRATOXINA A (OTA)

Esta micotoxina fue descubierta en 1965 en Sudáfrica, producida por *Aspergillus ochraceus* que causaron la muerte de pavos y ratas por la ingesta de maíz contaminado, *Penicillium verrucosum* y otras especies de *Penicillium*. (Guerrero & Parreño, 2018)

La ocratoxina A (OTA), producida por especies de *Aspergillus* y *Penicillium*, es una micotoxina que contamina alrededor del mundo alimentos como: cereales, granos de café, vino, pasas, especias y regaliz. La OTA se forma durante el almacenamiento de los cultivos

y esta puede causar una serie de efectos tóxicos en diferentes especies de animales. El efecto más notable de esta toxina es el daño renal, aunque también puede tener efectos sobre el desarrollo fetal y el sistema inmunitario. Contrario a las pruebas de toxicidad renal y cáncer de riñón debido a la exposición de OTA en animales, la asociación en humanos no es clara, pese a que se han demostrado efectos renales.(OMS, 2018)

1.9.1. CARACTERÍSTICAS DE OCRATOXINA A

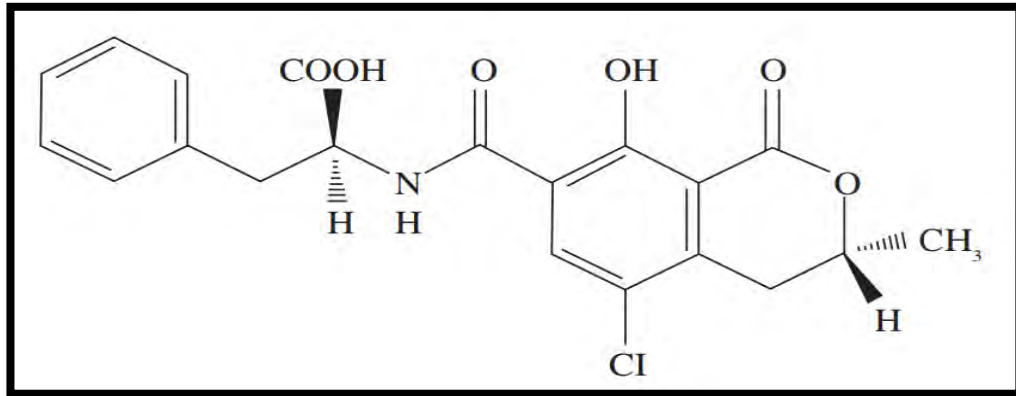
Desde el punto de vista físico-químico, la OTA es una sustancia cristalina e incolora que presenta fluorescencia azulada bajo la luz ultravioleta. Por la presencia de un grupo ácido en su estructura, es considerada moderadamente soluble en solventes orgánicos polares como el cloroformo, metanol, acetonitrilo y se disuelve libremente en solución acuosa diluida de bicarbonato sódico.(AFHSE, 2015)

Cabe destacar que, para favorecer la proliferación y producción de esta micotoxina, los valores óptimos de humedad se dan entre 95% – 99% y una temperatura de 24°C. Las diversas especies de hongos que pueden producir OTA como *A. ochraceus* entre 12 – 37°C y *P. verrucosum* entre 4 – 31°C. Particularmente la OTA es muy estable y resistente a altas temperaturas y acidez. (Elika, 2013)

1.9.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE OCRATOXINA A

La OTA es la más tóxica de todas las ocratoxinas y está formada por una dihidroisocumarina unida por el grupo 7- carboxilo a una molécula de L- beta-fenilalanina mediante un enlace amida. (Soriano, 2015).

Figura 5: Estructura química de las ocratoxinas.



(Ravelo et al., 2011)

1.9.3. BIOSÍNTESIS DE OCRATOXINA A

Existen 3 etapas principales para la síntesis de OTA. La primera se produce por la biosíntesis de anillo isocumarínico a partir de acetato y malonato, siguiendo la ruta se forma melleina como producto final. Posteriormente esta última es metilada y oxidada formando ocratoxina 6, luego un átomo de cloro es incorporado para formar OT-a. Separadamente se produce la síntesis de fenilalanina por la ruta del ácido siquimico y se activa por esterificación. En la ultima etapa un aminoácido se une a la molécula OT- o por la OTA sintetasa, este paso da la formación de ocratoxina C que se hidroliza y forma OTA. (Gil et al., 2015)

1.9.4. TOXICIDAD DE OCRATOXINA A

La ocratoxina A, provoca alteración sobre la respiración celular y actúa inhibiendo la actividad de la ATPasa, el succinato deshidrogenasa y el citocromo C oxidasa, además genera lesión celular obteniendo como productos finales radicales hidroxilados por peroxidación lipídica. Además, también provoca una alteración en la síntesis de proteínas producidas a nivel post-transcripcional por inhibición competitiva de la Phe-ARNt sintetasa.(Ravelo et al., 2011)

La OTA, es una de las principales toxinas que presentan características nefróticas inmunosupresoras y neurotóxicas. Además, la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) considera a la OTA como un posible cancerígeno humano. Debido a que posee propiedades tóxicas y su amplia distribución. Sin embargo, son muy pocos los métodos desarrollados para la cuantificación de OTA en especies, ya que la complejidad de estas matrices hace que, a pesar de obtener resultados precisos y reproducibles, los métodos requieran costosos y complicados tratamientos en la muestra. (Caballero et al., 2013)

Por las propiedades fisicoquímicas que posee la OTA es absorbida fácilmente por el tracto gastrointestinal. Su biodisponibilidad en especies de mamíferos es del 50%; presentando alta afinidad por proteínas plasmáticas, este determina la persistencia de la micotoxina en el organismo. Diversos estudios refieren que los efectos tóxicos afectan el sistema inmune y el sistema nervioso; además, también posee un efecto hemorrágico semejante al que se produce por la deficiencia de vitamina K y provoca la acumulación de glucógeno en el hígado. (López et al., 2000)

1.9.5. HONGOS PRODUCTORES DE OCRATOXINA A

Los hongos productores de ocratoxina A son:

A. GÉNERO *Penicillium*.

Estas especies son consideradas como contaminantes habituales de sustratos y tienen la capacidad de producir diferentes toxinas, la mayoría de estas especies son consideradas saprofitas existiendo pocas consideradas patógenas oportunistas. Estas especies forman colonias que crecen rápidamente de forma densa en agrupaciones de conidióforos y la lanosa, funiculosa, o sinematosa. La estructura

de su reproducción sexual es un conidióforo la mayoría presentan coloración verdosa. La textura de la colonia es aterciopelada, formado por un estipe diferenciado que finaliza en un pincel. La temperatura en la cual tiene un desarrollo fácil es a 20°C, pero puede crecer entre 3 y 32°C y una humedad relativamente alta. (Carrillo, 2003).

Clasificación Taxonómica de *Penicillium*

Penicillium presentan formas perfectas consideradas verdaderos hongos. Presentan la siguiente clasificación.

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

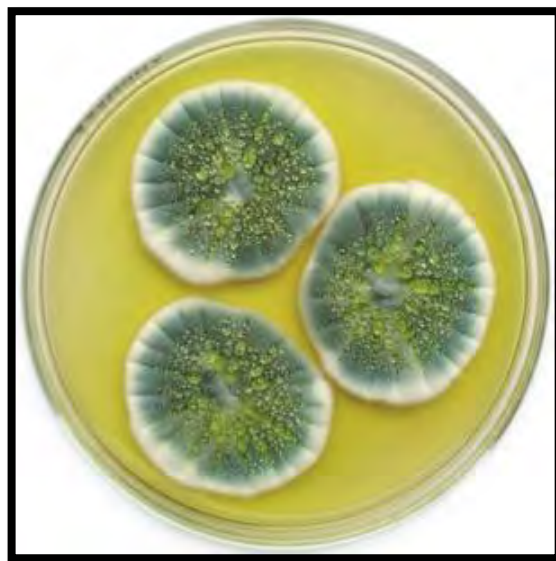
Clase: Eueascomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichomaceae

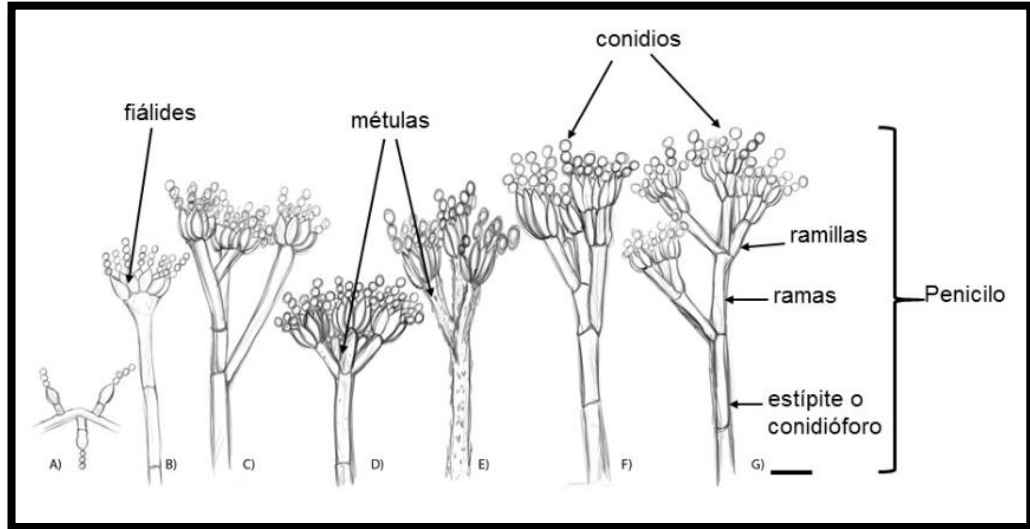
Género: *Penicillium* (Martínez, 2003)

Figura 6: Crecimiento de cepa de *Penicillium sp.*



(García et al., 2011)

Figura 7: Tipos de ramificación *Penicillium*: a) Conidióforos con fiálides solitarias; b) Monoverticilados; c) Divaricado; d-e) Biverticilado; f) Terverticilado; g) Cuadriverticilado



(Houbraken et al., 2011)

B. GÉNERO *Aspergillus*.

Las especies del género *Aspergillus* son mayormente ubicuas, se aíslan en diferentes sustratos, aunque son de climas cálidos. Algunas de estas especies presentan importancia industrial otras son agentes de biodeteriolo o producen micotoxinas. Las colonias se forman rápidamente y son de muchas tonalidades: blanquecinas, amarillentas, marrones, negruzcas; formadas por agrupaciones de conidióforos sobre estas se encuentran las células conidiógenas que son las que originan las esporas sexuales o conidios. (Soriano, 2015)

Son termo tolerantes pudiendo vivir entre los 12 y 57°C, las esporas pueden sobrevivir hasta los 70°C. (INSST, 2021)

Las características como: el color de los conidios, la forma de la cabeza, la superficie y la dimensión del conidióforo, así como también la forma y la textura de las esporas nos permite agrupar a este género en grupos y secciones. (Carrillo, 2003)

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Aspergillus*

Los hongos del género *Aspergillus* considerados hongos verdaderos, presentan la siguiente clasificación:

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

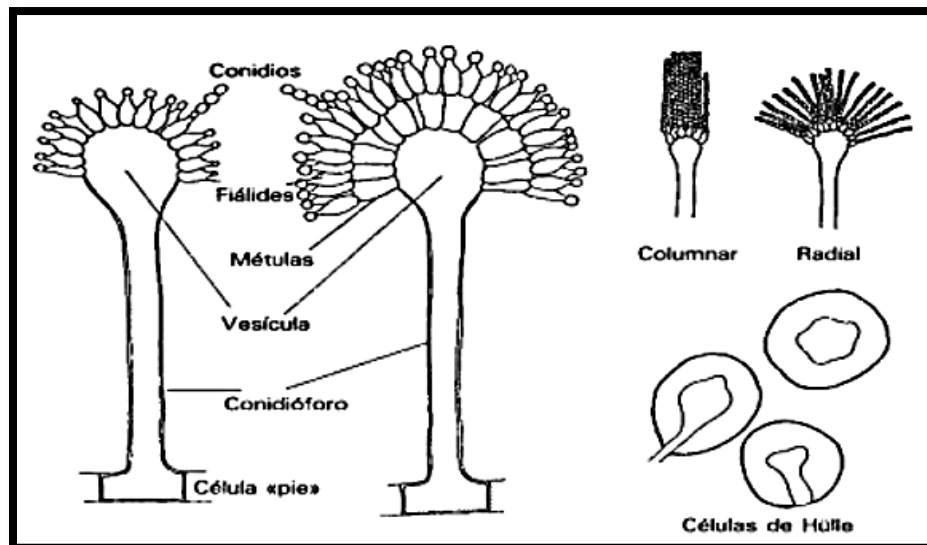
Clase: Eurotiomycetes

Orden: Eurotiales

Familia: Trichomaceae

Género: *Aspergillus* (Moreno et al., 2012)

Figura 8: Características morfológicas de las principales especies de *Aspergillus* implicadas en la patogenia humana.



(Alcalá et al., 2002)

1.10. FUMONISINA

Las fumonisinas son toxinas producidas por hongos como: *Fusarium verticillioides* siendo este el principal hongo patógeno que afecta la productividad del maíz en el mundo, este hongo penetra a la planta por distintas rutas e infecta raíces, tallo y mazorca. El patógeno produce varias toxinas en el tejido y en los granos de maíz, lo que disminuye su calidad. (De la Torre et al., 2014)

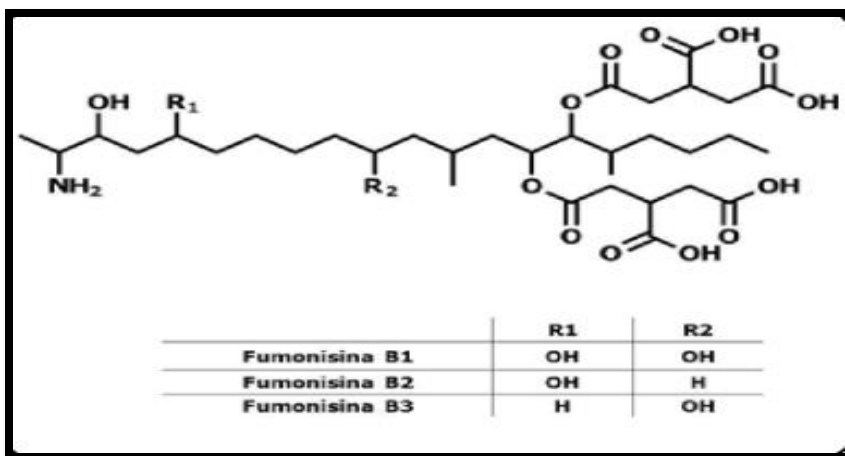
1.10.1. CARACTERÍSTICAS DE FUMONISINA

Se forma principalmente en cultivos con temperaturas moderadas (20-25°C) y elevada humedad, pero también puede formarse durante la recolección, transporte y almacenamiento por inadecuadas prácticas de conservación. Las fumonisinas son muy termoestables, resistiendo temperaturas hasta 150°C. La Fumonisina 1 (FB1) es carcinogénica, especialmente tóxica para el hígado y riñones. (Elika, 2013)

1.10.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE FUMONISINA

La estructura de las fumonisinas es similar a la esfingosina que es un componente de los esfingolípidos, componente activo de la membrana celular. La rotura de sus metabolitos puede ocasionar una serie de defectos en el crecimiento, respuesta inmunitaria y diferenciación celular. Las fumonisinas son capaces de romper el ciclo de la esfingomielina por inhibición de la ceramida sintasa y de la esfinganina-N-acetiltransferasa dado a la acumulación de esfinganina y menos cantidad de esfingosina; esta última se acumula en el hígado y una parte va a la sangre. (Soriano, 2015)

Figura 9: Estructura química de las fumonisinas del grupo B.



(De la Torre et al., 2014)

1.10.3. BIOSÍNTESIS DE FUMONISINA

Los genes que se encuentran presentes fuera del locus FUM participan en las vías de señalización y expresión de los genes del locus y la producción de fumonisinas. La síntesis de estas se da a partir de unidades de acetato para formar un policétido dimetilado que se condensa con un aminoácido L-alanina, seguido de 5 reacciones de oxigenación y 2 esterificaciones. El primer caso es catalizado por policétido sintasa (PKS) codificada por el gen FUM1, la cual tiene dominios catalíticos β -cetoacil sintasa y una proteína acarreadora de acilos responsable de la extensión de policétidos. Debajo del gen FUM1 se ubican genes que codifican enzimas que sintetizan fumonisinas. (De la Torre et al., 2014)

1.10.4. TOXICIDAD DE FUMONISINA

Hasta la fecha la interferencia en la biosíntesis de esfingolípidos es la principal causa de contaminación en humanos y animales. En el humano está implicado el cáncer de esófago e hígado. En animales da lugar a lo que se denomina leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcino. (Soriano, 2015)

1.10.5. HONGOS PRODUCTORES DE FUMONISINA

A. GÉNERO *Fusarium*

Son hongos del género de hongos ascomicetos pertenecientes a Deuteromycota, que agrupa a hongos que no presentan fase sexual o que es muy rara. Presenta una fase sexual llamada teleomorfo o forma perfecta. Algunas cepas también pueden generar macroconidias con apariencia larga y delgada; con cinco o seis septos. Mostrando dos células: una apical que es curva y la otra basal en forma de pie. Este tipo de conidias producen estructuras que aparentan racimos llamados esporodoquios. (De la Torre et al., 2014). La temperatura optima de crecimiento es a los 25°C, y elevada humedad. (Veneros et al., 2017)

Clasificación Taxonómica De *Fusarium*.

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

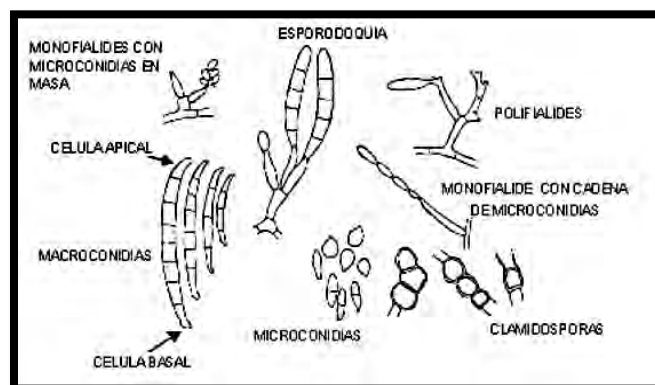
Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium* (Senasica, 2015)

Figura 10: Características microscópicas morfológicas del género *Fusarium*.



(Monzón & Rodríguez, 2008)

1.11. MÉTODOS PARA DETERMINAR MICOTOXINAS EN ALIMENTOS

Tabla 2: Métodos para la detección de micotoxinas.

PROTOCOLOS	TIPOS DE METODO	FUNDAMENTO
EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN	Fase sólida	Las micotoxinas atraviesan un soporte solido donde son retenidas para luego, diluirse con un disolvente.
	Columna MYCOSEP	Son tubos que tienen absorbentes que al tener contacto con la muestra retiene las micotoxinas.
	Columnas de Inmunofinidad	Se basa en la extracción antígeno anticuerpo, las micotoxinas se comportan con sustancias haptero (antígenos).
EXPLORACIÓN	Inmunoensayos	Reacción antígeno-anticuerpo. El antígeno (micotoxina) se une a dos anticuerpos sucesivamente.
CONFIRMACIÓN	Biosensores	Utiliza anticuerpos que interaccionan con micotoxinas y la transforman en una señal eléctrica de acuerdo a la concentración.
	Cromatografía de gases	Separa compuestos según su volatibilidad y afinidad a la fase estacionaria. Se requiere una derivatización previa.
	Cromatografía de capa fina	Sencilla y rápida, fase estacionaria polar y fase móvil apolar se compara con estándares.
	Cromatografía líquida	Separación de estructuras con diferente polaridad.

(Soriano, 2015)

La importancia del análisis de las micotoxinas en alimentos reside en el cumplimiento a las reglamentaciones y los sistemas de control de seguridad alimentaria con el fin de salvaguardar la salud de la población humana. Los métodos normalizados son validados por estudios en laboratorios que son recomendados por parte de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) y el Comité Europeo de la Normalización. Los análisis de

micotoxinas requieren alto grado de exactitud, precisión y reproductibilidad. Las técnicas analíticas empleadas para la identificación de las micotoxinas poseen tres grandes bloques: extracción y purificación, técnicas de presunción o screening y técnicas de confirmación. (Soriano, 2015)

Existe numerosos métodos para la detección de micotoxinas en alimentos, entre los que destacan:

- Ensayo por Inmunoadsorción Ligado a Enzimas (ELISA)
- Dispositivos de flujo Lateral (FLD)
- Cromatografía de capa fina (TLC)
- Cromatografía de gas (GC)
- Cromatografía líquida (LC) (Adiveter, 2020)

1.12. ELISA

ELISA o EIA, es una sigla que significa enzimo-inmunoanálisis de adsorción. ELISA es un análisis que detecta y mide anticuerpos en la sangre y puede usarse para determinar si un paciente tiene anticuerpos relacionados diferentes enfermedades infecciosas. Los anticuerpos son proteínas que un organismo produce frente a sustancias dañinas. (Kinman, 2021)

Esta técnica se basa en anticuerpos policlonales no específicos de micotoxinas que se desean analizar. (Adiveter, 2020).

ELISA se fundamenta en acoplar antígenos solubles o anticuerpos a una matriz sólida insoluble, la cual retiene la actividad inmunológica, estas biomoléculas también pueden unirse a una enzima, reteniendo el conjugado restante, así como la actividad enzimática e inmunológica. (Ochoa, 2012)

1.13. NORMAS Y REGULACIONES DE MICOTOXINAS

La exigencia de establecer una legislación, la cual fija los límites en las concentraciones de micotoxinas en alimentos para humanos y animales, es generalmente reconocida en varios países del mundo como la Legislación de la Unión Europea, así también la norma Codex Alimentarius. Prácticamente todos los países que poseen una economía de mercado bien desarrollada tienen reglamentaciones correspondientes a toxinas. Por el contrario, muchos de los países que se encuentran en proceso de desarrollo donde la agricultura presenta una gran importancia, no tiene estas reglamentaciones. (Gimeno, 2005)

1.13.1. NORMA DEL CODEX ALIMENTARIUS

Según el Codex Alimentarius para ocratoxina A y Fumonisinias.

Ocratoxina A, los niveles máximos admitidos están establecidos en:

- Cereales (incluido el trigo, cebada y centeno), productos derivados de cereales y cereales en grano sin transformar: 5 ppb ($\mu\text{g}/\text{kg}$). (FAO & OMS, 1995)

Fumonisinias totales (B1 y B2), niveles máximos permitidos en algunos productos alimenticios.

- Maíz en grano crudo: 4 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. (4ppm)
- Harina de maíz y sémola de harina de maíz: 2 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. (2ppm). (FAO & OMS, 1995)

CAPITULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. ÁREA DE ESTUDIO

La presente investigación consideró 6 mercados y 2 supermercados del Cusco: San Pedro, Ccascaparo, Vinocanchón (San Jerónimo), Wánchaq, Ttio y Molino (Wánchaq), además de 2 supermercados.

La ciudad del Cusco se ubica en la parte sur oriente del Perú, se encuentra a una altitud de 3365 metros de altitud entre las coordenadas latitud sur 13°31'16'', longitud oeste 71°57'53'', con una temperatura media de 12.38°C, con una humedad relativa promedio anual de 54.4% y con una precipitación pluvial total de 723,3 mm. (Estación meteorológica - UNSAAC, 2016).

Descripción de los centros de expendio.

- Mercado de San Pedro, es el centro de abasto más antiguo del Cusco ubicado a 5 cuadras de la Plaza de Armas del Cusco, actualmente se expende productos alimenticios, así como diversas artesanías. El expendio de maíz morado se da en sacos y estos se encuentra cerca de verduras.
- Mercado Ccascaparo, es un centro de abastos de productos de primera necesidad ubicado en el distrito de Cusco.
- Mercado Vinocanchón, localizado en el distrito de San Jerónimo, es un mercado de tipo mixto (mayoristas y minoristas)
- Mercado Wánchaq, ubicado en la Av. Garcilaso con la Av. Huáscar del distrito de Wánchaq donde se pueden apreciar diferentes secciones (frutas, verduras, abarrotes, granos, comidas, etc.)

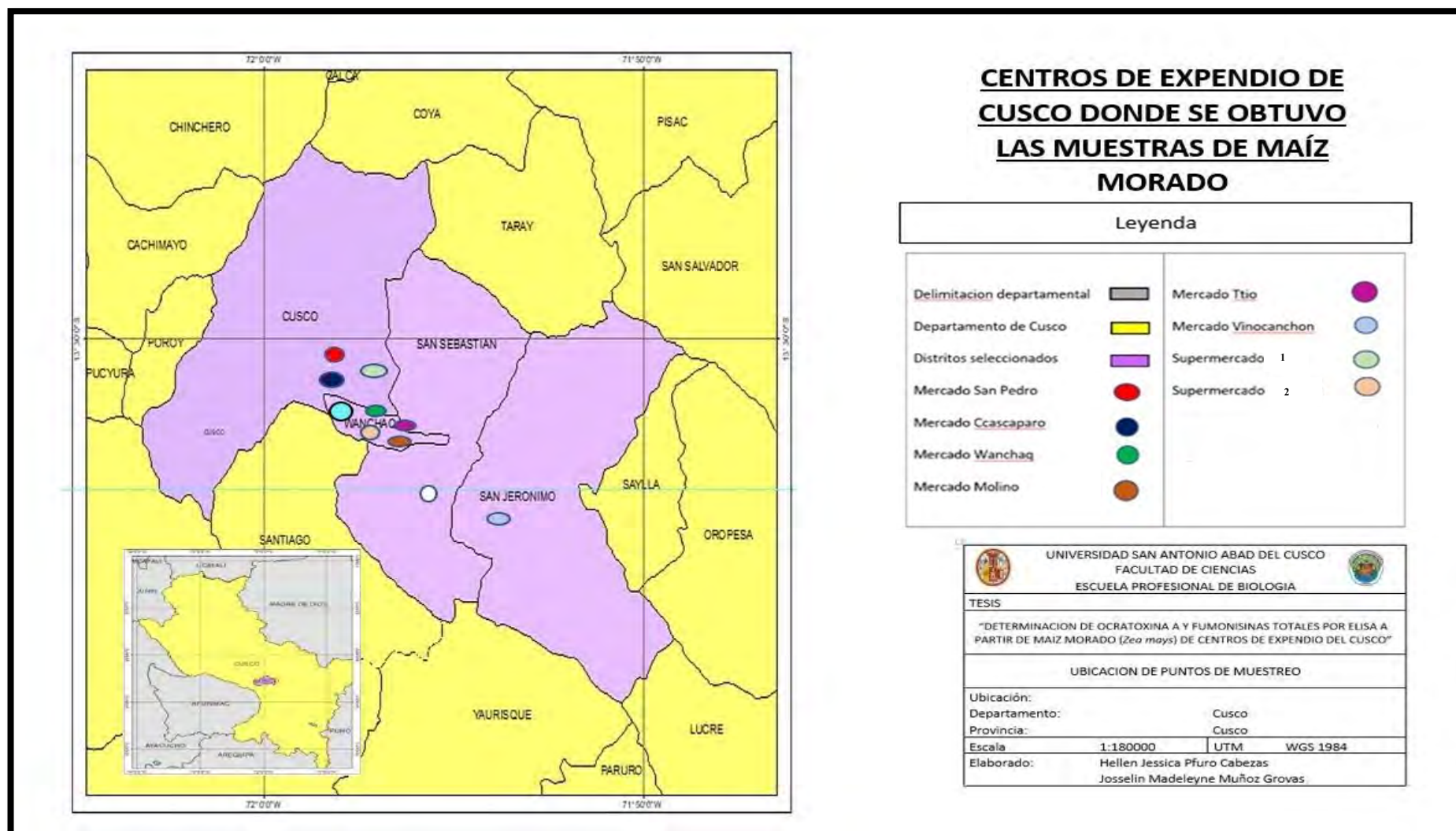
- Mercado Ttio, se encuentra ubicado en el Jr. Unión cerca del tercer paradero de Ttio, es un mercado zonal tipo minorista.
- Mercado Molino, se encuentra ubicado cerca del Terminal Terrestre del Cusco, es un abastecimiento zonal de tipo minorista.
- Supermercados 1 y 2, son establecimientos comerciales de venta al menos que ofrece bienes de consumo por autoservicio donde se encuentran alimentos productos de higiene y limpieza.

La comercialización de maíz morado se da por expendedoras de verduras y el almacenamiento se da en sacos o en canastas.

2.1.1. LUGAR DONDE SE REALIZÓ LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Biología Celular C-270 y laboratorio de Genética Molecular C-356 de la Escuela profesional de Biología de la Facultad de Ciencias Biológicas, en la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Figura 11: Mapa de ubicación de los centros de expendio de maíz morado Cusco



Fuente propia

2.2. MATERIALES

Muestra

- 38 muestras de maíz morado (*Zea mays L.*) procedentes de 8 centros de expendio de la ciudad del Cusco: 6 mercados y 2 supermercados.

Material de vidrio

- Matraces
- Probetas de 50, 100, 1000 ml.
- Frascos de vidrio con tapa 50 ml
- Tubos de ensayo de 16 x160 mm
- Tubos con tapa rosca de 16 x160 mm
- Cubre objeto y portaobjeto
- Pipetas estériles 5 ml
- Placas Petri 100 x 15 mm

Reactivos

- Kit cuantitativo de ELISA para Ocratoxina A
- Kit cuantitativo de ELISA para fumonisina
- Hidróxido de sodio al 0.1N
- Metanol 70 % (Merck)
- Metanol 50 % (Merck)

Medios de cultivo

- Agar OGY Merck (Agar Extracto de Levadura con Glucosa)
- Peptona Merck
- Oxitetraciclina 0.1%

Equipos e instrumentos

- Equipo detector Fotómetro de ELISA STAT FAX 303 PLUS de 630 nm
- Molienda de muestra molino eléctrico Agri Grind
- Balanza analítica (H.W Kessel. SA)
- Balanza de precisión
- Potenciómetro (HANNA)
- Microscopio óptico (Leica)
- Cronómetro (CASIO)
- Horno (LABOR MOD.LP.301)
- Autoclave (Phoenix 75 Plus)
- Termómetro digital (TP101)

Otros materiales

- Micro Pipetas de 50 μ l y 100 μ l
- Agua destilada pH=7
- Agua estéril
- Papel Whatman N° 1
- Cintas para medir pH (universal test paper DF)
- Tips punteras de primer uso
- Agujas de siembra
- Cinta de embalaje
- Papel aluminio
- Franela
- Ligas

- Algodón
- Papel Kraft
- Papel absorbente
- Pabilo
- Espátula
- Cucharillas estériles
- Bolsas de polipropileno de 1kg estéril
- Mechero bunsen
- Balón de gas
- Punta de pipetas
- Guantes de látex descartables y de procedimiento estéril.
- Mascarillas
- Gorras para laboratorio
- Cámara de vidrio de aislamiento
- Desinfectante lejía 5 %
- Frascos de 3 L transparente
- Alcohol de 96°
- Alcohol de 70°
- Fosforo

Gabinete

- Fichas para el llenado de datos
- Fichas de encuesta
- Etiquetas para toma de muestra

- Plumón marcador indeleble
- Cooler
- Laptop (HP)
- Cámara fotográfica
- Software SSPS
- Impresora
- Papel bond
- Cuaderno de notas
- Lapiceros

2.3. METODOLOGÍA

2.3.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación fue de tipo descriptivo de corte transversal.

- **Es descriptivo**, porque permitió identificar variables en el maíz morado así también la producción de toxinas a partir de estas en los diferentes centros de expendio.
- **Es transversal**, porque los datos fueron recolectados en un tiempo determinado, con el propósito de describir las variables y analizar su incidencia en el momento.

2.3.2. FLUJOGRAMA DE INVESTIGACIÓN

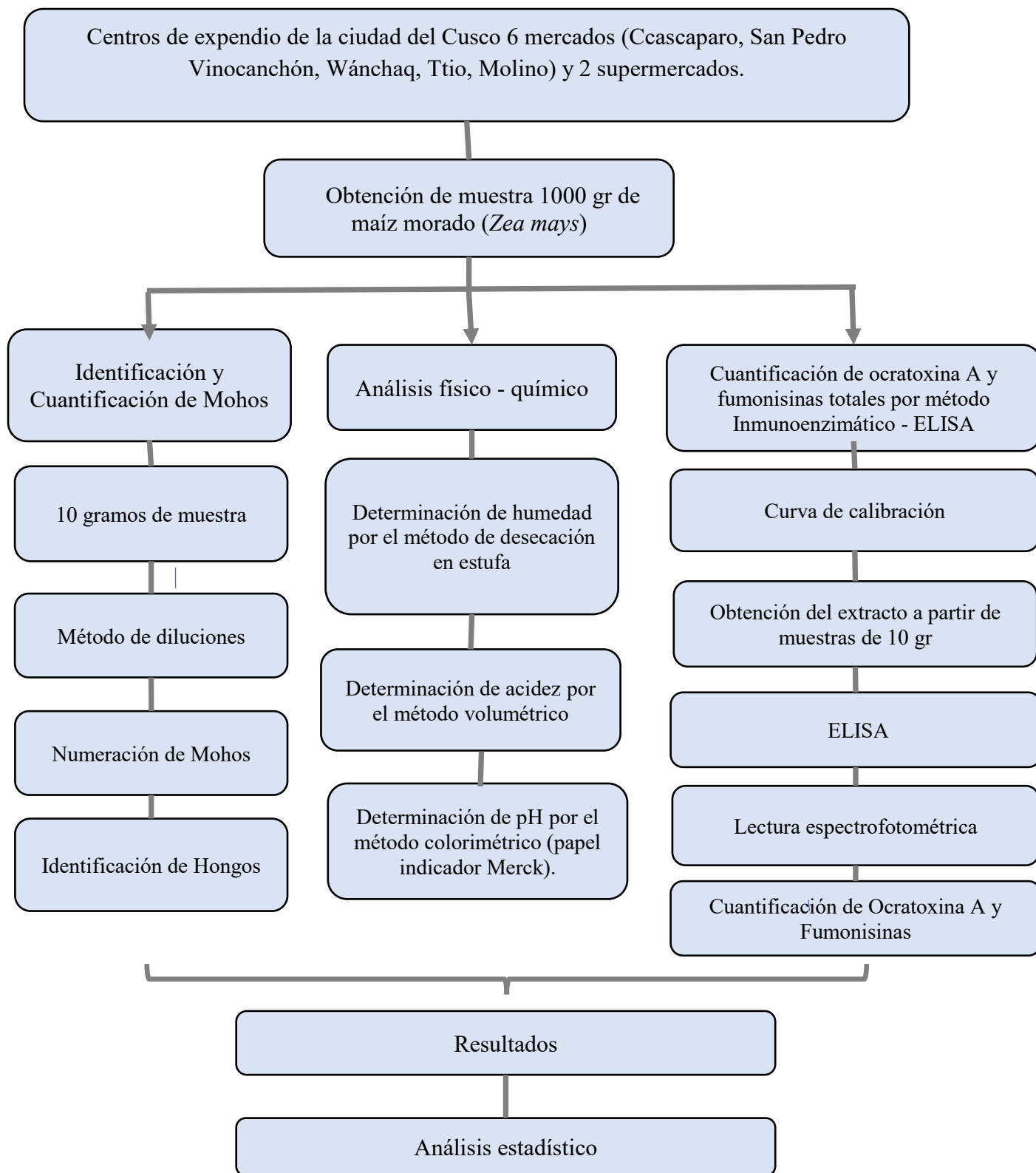


Figura 12: Flujoograma de investigación. (Muñoz & Pfuro, 2023).

2.3.3. DETERMINACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO

Tabla 3: Número de muestras de maíz morado obtenidas en 8 centros de expendio: 6 mercados y 2 supermercados de la ciudad del Cusco (2022).

Mercados y Supermercado	Número de muestras	Porcentaje del total de muestra
San Pedro	6	15.8%
Ccascaparo	6	15.8%
Wánchaq	6	15.8%
Molino*	5	13.2%
Ttio*	5	13.2%
Vinocanchón	6	15.8%
Supermercado 1	2	5.2 %
Supermercado 2	2	5.2 %
Total	38	100%

Nota: Mercado Molino y Ttio se consideró la cantidad de 5 muestras por presentar menor cantidad de puestos de expendio de maíz morado.

2.3.4. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Los criterios que se tomaron en cuenta para el muestreo por centro de expendio fueron los puestos que expenden maíz morado; tomando como puntos de referencias el puesto inicial, intermedio y final para cada centro de expendio.

Para la obtención de las muestras se realizó el siguiente procedimiento:

Con el uso de un mechero se procedió a esterilizar el área de toma de muestra. Considerándose para lotes menores de 50Kg (≤ 0.05 toneladas), se adquirió 1Kg de maíz morado por puesto de expendio, se recogieron las muestras con una pinza estéril, y se colocaron en bolsas de polipropileno estéril, todas las muestras adquiridas para el análisis fueron selladas y rotuladas en el lugar donde se obtuvieron. Se llevó un registro

para cada toma de muestra (Anexo N°3), que permitió identificar la información adicional de interés para el análisis. (FAO & OMS, 1995)

Se realizaron tres muestreos en intervalos de 10 días debido al crecimiento de los hongos como se aprecia en el Anexo N°3. Luego las muestras fueron transportadas al laboratorio de Biología Celular C-270 de la Facultad de Ciencias Biológicas para el proceso microbiológico dentro de las 24 horas y para la determinación de micotoxinas por ELISA se tuvo que almacenar los extractos hasta obtener el número total de muestras.

2.3.5. ACONDICIONAMIENTO DE MUESTRA PARA ANÁLISIS

1. Se desgranaron 03 mazorcas considerando aquellas que presentaron algún tipo de defecto (manchas) utilizando guantes de procedimiento estéril.
2. Luego se trituraron los granos con un molino eléctrico estéril.
3. Se trasvasó 250gr. del producto obtenido a una bolsa de polipropileno estéril, debidamente rotulada para luego ser sellada hasta su procesamiento.

2.4. CUANTIFICACIÓN DE MOHOS EN MUESTRA DE MAÍZ MORADO según (ANMAT, 2014)

2.4.1. Método por diluciones en agua peptonada (AP)

1. En un frasco que contiene 90 ml de AP estéril se añadió 10gr. de muestra molida y se homogenizó vigorosamente durante 2 a 3 minutos, obteniendo de esta manera la dilución 10^{-1} , se dejó a temperatura ambiente por 5 minutos para su sedimentación correspondiente.
2. Se transfirió 1ml de la dilución 10^{-1} (sobrenadante) a un tubo con 9ml de AP, siendo esta dilución 10^{-2} , y así sucesivamente hasta obtener dilución 10^{-4} .

2.4.2. Siembra por el Método de Incorporación

1. Se transfirió 1ml de las diluciones 10^{-3} y 10^{-4} a las placas Petri vacías estériles por duplicado y se incorporó aproximadamente 20 ml de agar OGY con Oxitetraciclina 0.1% en cada placa homogenizando de forma manual.
2. Se incubó a 25°C por 5 a 7 días.
3. Para el recuento en UFC/gr. de muestra se seleccionaron placas de 20 a 200 colonias.

2.5. IDENTIFICACIÓN DE GÉNERO DE HONGO según (Basílico et al., 2005)

Se tuvieron en cuenta los siguientes criterios:

A. Características macroscópicas:

- Color de la colonia.
- Textura de la colonia.
- Presencia de plegamientos.
- Presencia de márgenes, zonificaciones.
- Presencia de exudados y si estos presentan coloración.
- Aspecto de micelio vegetativo y del micelio reproductor.

B. Características Microscópicas:

- Estructura del cuerpo fructífero.
- Estructura de los conidios.

2.6. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO EN MAÍZ MORADO (Humedad, Acidez y pH)

Para el análisis fisicoquímico se tomó en cuenta la Humedad, Acidez y pH por ser estos de importancia en la proliferación de hongos en alimentos.

2.6.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD POR EL MÉTODO DE DESECACIÓN EN ESTUFA Según NTP, 205.037: 1975. Revisado el 2016.

PRINCIPIO DEL MÉTODO:

Este método se basa en la determinación del contenido de agua en la muestra, por diferencia de pesos (inicial y final), después de ser desecada en horno.

Primero se pesó 10 gramos de cada muestra acondicionada, se colocó cada muestra en un crisol y se llevó al horno a 130°C por 5 horas, se pesó y se realizaron los cálculos, el resultado se obtiene en porcentaje (%). Anexo N° 5

Según la siguiente formula:

$$\% \text{ humedad} = \left(\frac{P1 - P2}{P1} \right) \times 100$$

Donde:

P1: peso de la muestra sin desecar

P2: peso de muestra desecada

2.6.2. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ POR EL MÉTODO VOLUMÉTRICO SEGÚN NTP 205.039: 1975. Revisado el 2011

PRINCIPIO DEL MÉTODO:

La determinación se basa en la relación ácido-base, para lo cual se coloca la muestra en solución acuosa y se titula con solución de NaOH en presencia del indicador fenolftaleína.

Procedimiento:

- Se pesó 5 gramos de muestra molida con 50 ml de agua estéril, luego se pasó en papel filtro hasta obtener 25 ml del filtrado en el Erlenmeyer.
- Se añadió 3 gotas de la fenolftaleína al filtrado y se homogenizo para finalmente titular con NaOH 0.1N hasta que vire de color. Anexo N°5

Se realizaron los cálculos, y los resultados se expresaron en % según la siguiente formula:

$$x = \frac{V \times 0.1 \times 0.049 \times 50 \times 100}{5 \times 25} \times \frac{100 - 15}{100 - H^\circ}$$

Donde:

V= gasto de la solución 0.1N de hidróxido de sodio.

H°= humedad de la muestra (%).

2.6.3. DETERMINACIÓN DE pH POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO PAPEL

INDICADOR DE pH (PAPEL MERCK)

PRINCIPIO DEL MÉTODO:

Este método se basa en medir la acidez o alcalinidad de una disolución donde el pH indica la concentración de iones hidronio (H_2O^+).

Se sumergió la tira en un recipiente de vidrio con agua estéril más la muestra luego comparar la coloración que adopta en la tabla colorimétrica.

2.7. CUANTIFICACIÓN DE OCRATOXINA A POR EL MÉTODO INMUNOENZIMÁTICO ELISA.

PRINCIPIO DEL ANÁLISIS, según (NEOGEN, 2014):

El kit Veratox para la detección de ocratoxina A actúa como un ensayo Inmunoenzimático competitivo directo (CD - ELISA) que permite obtener concentraciones exactas en partes por billones (ppb). Permite que la ocratoxina libre en las muestras y controles compitan con

ocratoxina enzimomarcada (conjugado) por los sitios de absorción de anticuerpos. Luego del lavado, se le agrega el sustrato, el cual reacciona con el conjugado unido para producir el color azul. Cuanto mayor sea la coloración azul representa menos ocratoxina. La prueba se lee en un lector de micropocillos para producir densidades ópticas. Cuando las densidades ópticas de los controles forman la curva típica, se traza un gráfico de las densidades de las muestras contra dicha curva para calcular la concentración exacta de ocratoxina. (NEOGEN, 2014)

Preparación de la curva de calibración.

Se tomó los 5 estándares de diferentes concentraciones (0, 2, 5, 10 y 25 ppb) con los cuales se proceden a realizar la curva de calibración. (Anexo N° 10)

Obtención del extracto de las muestras de maíz

Se pesó 5 gr. de muestra molida y se mezcló con 25 ml de Metanol al 50% homogenizando bien durante 3 minutos, para luego filtrar a través de papel Whatman # 1. La solución filtrada (extracto) se almacenó de 2 a 8 °C para su uso.

Procedimiento de la Prueba ELISA., según NEOGEN, 2014.

Los componentes del kit se acondicionaron durante 20 a 30 minutos a temperatura ambiente (18 a 30°C) antes de ser utilizados.

1. Se retiraron micropocillos marcados con rojo para los controles y muestras para ser colocados en un soporte de micropocillos
2. Se mezcló cada reactivo agitando vigorosamente.
3. Se añadió 100 µl de conjugado (Ocratoxina enzimomarcada) frasco de etiqueta azul a cada micropocillo de mezcla.
4. Se transfirió 100 µl de los controles y muestras a los micropocillos de mezclado.
5. Se mezcló la solución de los micropocillos de arriba hacia abajo 3 veces.

6. De los micropocillos de mezclado se transfirió 100 μ l del a los pocillos recubiertos con anticuerpos, los cuales se mezclaron deslizando de adelante hacia atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos cuidando de no derramar o salpicar los reactivos.
7. Se incubó en oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente.
8. Se realizó el lavado con agua destilada estéril y se desechó dicha agua sacudiéndolos, se repitió este paso 5 veces, luego se invirtió los micropocillos y se golpearon ligeramente sobre una toalla de papel, hasta eliminar el agua restante.
9. Se añadió 100 μ l de sustrato (frasco etiqueta verde) en cada micropocillo, luego se mezcló deslizando de adelante hacia atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos.
10. Se incubó en oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente, para luego desechar el contenido del micropocillo y se enjuago con agua destilada estéril.
11. Se añadió 100 μ l de Red Stop en cada micropocillo. Se mezcló deslizando de adelante hacia atrás sobre una superficie plana.
12. Se limpió el exterior de los micropocillos con una toalla o paño seco y se llevó al detector fotométrico a una longitud de 630 nm (STAT FAX 303PLUS) para realizar la lectura correspondiente.
13. Se procesó y calculó los resultados mediante el software VERATOX 3V para WINDOWS.

2.8. CUANTIFICACIÓN DE FUMONISINAS POR EL MÉTODO INMUNOENZIMÁTICO ELISA.

PRINCIPIO DEL ANÁLISIS, según (NEOGEN, 2015)

El kit Veratox para la detección de fumonisinas actúa como un ensayo Inmunoenzimático competitivo directo (CD - ELISA) que permite obtener concentraciones exactas en partes por millones (ppm). La fumonisina libre presente en las muestras y controles compite con

las fumonisinas enzimomarcada (conjugado) para los sitios de absorción de los anticuerpos. Luego del lavado, se le agrega el sustrato, el cual reacciona con el conjugado unido para producir el color azul. Cuanta mayor sea azul representa menos fumonisina. La prueba se lee en un lector de micro pocillos para producir densidades ópticas. Cuando las densidades ópticas de los controles forman la curva típica se traza un gráfico de las densidades ópticas de la muestra contra dicha curva para calcular la concentración exacta de fumonisina. (NEOGEN, 2015)

Preparación de la curva de calibración.

Se tomó los 5 estándares de diferentes concentraciones (0, 0.5, 1, 3 y 6 ppm) con los cuales se procede a realizar la lectura como curva de calibración. (ANEXO N° 10)

Obtención del extracto de las muestras de maíz

Se pesó 5 g de muestra molida y se mezcló con 25 ml de metanol al 70 % agitándose bien durante 3 minutos, para luego la mezcla se filtró a través de papel Whatman # 1 y la solución filtrada (extracto) se almacenó de 2 a 8 °C para su uso.

Procedimiento de la Prueba ELISA, según NEOGEN, 2015.

Se procedió a diluir la muestra agregando 100 µl de la solución filtrada a un frasco de dilución de muestra precargado (Fumonisin Sample Dilution de dilución precargada con 7,9 ml de agua desionizada) y se mezcló agitando vigorosamente el frasco. Se repitió el proceso en cada frasco previamente rotulado.

1. Se retiraron micropocillos marcados con rojo para los controles y muestras para ser colocados en un soporte de micropocillos
2. Se mezcló cada reactivo agitando vigorosamente.

3. Se añadió 100 μ l de conjugado (Fumonisin enzimomarcada) frasco de etiqueta azul a cada micropocillo de mezcla.
4. Se transfirió 100 μ l de los controles y muestras a los micropocillos de mezclado.
5. Se mezcló la solución de los micropocillos de arriba hacia abajo 3 veces.
6. De los micropocillos de mezclado se transfirió 100 μ l del a los pocillos recubiertos con anticuerpos, los cuales se mezclaron deslizando de adelante hacia atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos cuidando de no derramar o salpicar los reactivos.
7. Se incubó en oscuridad durante 5 minutos a temperatura ambiente.
8. Se realizó el lavado con agua destilada estéril y se desechó dicha agua sacudiéndolos, se repitió este paso 5 veces, luego se invirtió los micropocillos y se golpearon ligeramente sobre una toalla de papel, hasta eliminar el agua restante.
9. Se añadió 100 μ l de sustrato (frasco etiqueta verde) en cada micropocillo, luego se mezcló deslizando de adelante hacia atrás sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos.
10. Se incubó en oscuridad durante 10 minutos a temperatura ambiente, para luego desechar el contenido del micropocillo y se enjuago con agua destilada estéril.
11. Se añadió 100 μ l de Red Stop en cada micropocillo. Se mezcló deslizando de adelante hacia atrás sobre una superficie plana.
12. Se limpió el exterior de los micropocillos con una toalla o paño seco y se llevó al detector fotométrico a una longitud de 650 nm (STAT FAX 303PLUS) para realizar la lectura correspondiente.

Se procesó y calculó los resultados mediante el software VERATOX 3V para WINDOWS.

2.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

2.9.1. FRECUENCIA

La tabla de frecuencias, es una tabla que muestra la distribución de los datos mediante frecuencias, esta tabla es utilizada para variables cuantitativas y cualitativas. Además, permite ordenar los datos de manera que se presenten numéricamente las características de la distribución de un conjunto de datos o muestra. (Requena, 2019).

2.9.2. PRUEBA DE NORMALIDAD – SAPHIRO WILK

Esta prueba utiliza hasta 50 muestras o datos para contrastar la normalidad. Para efectuar la prueba, se calcula la media y la varianza muestral S^2 , y se ordenan las observaciones de menor a mayor. El estadístico de la prueba es:

$$W = \frac{DD^2}{nS^2}$$

Donde:

D: es la suma de las diferencias corregidas.

S^2 : varianza muestral.

2.9.3. COEFICIENTE DE CORRELACIÓN DE PEARSON (R_{xy})

Es un segundo índice de asociación lineal consiste en hallar también un promedio de productos cruzados, pero no de las puntuaciones diferenciales, sino de las puntuaciones típicas. Se uso esta prueba para correlacionar la concentración de las micotoxinas con respecto a la humedad, la acidez y el pH, así también como el crecimiento de mohos.

$$r_{xy} = \frac{\sum Z_{xi} \cdot Z_{yi}}{n}$$

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. CUANTIFICACIÓN DE MOHOS EN MUESTRAS DE MAÍZ MORADO

En la tabla 4, se observa el recuento de las UFC/g (unidades formadoras de colonia por gramo) de mohos en maíz morado procedente de 6 mercados: San Pedro, Ccascaparo, Wánchaq, Ttio, Molino, Vinocanchón y 2 supermercados, con total de 38 muestras; las cuales presentaron valores entre 2×10^4 y 93×10^4 de UFC/g. Donde se aprecia que 11 del total de las muestras sobrepasan el rango límite de 10^5 según la RM N° 591 – 2008/MINSA. Para mohos en maíz morado.

Tabla 4: Cuantificación de mohos (UFC/g) de muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco (2022).

N° de muestras	Recuento de colonias formadoras de mohos UFC/g – Centros de expendio (10^4)								Rango límite RM N°591 - 2008 /MINSA
	San Pedro	Ccascaparo	Wánchaq	Vinocanchón	Molino	Ttio	Supermercado 1	Supermercado 2	
1	7	21 *	4	2	3	21 *	4	93 *	
2	8	4	8	9	42 *	8	29 *	9	
3	27 *	7	7	6	4	2	--	--	10^4 - 10^5
4	6	17 *	35*	5	3	24 *	--	--	
5	4	4	7	7	2	8	--	--	
6	9	3	61*	18 *	--	--	--	--	

Dónde: 2 y 93 representan el valor mínimo y máximo respectivamente en el recuento de UFC/g

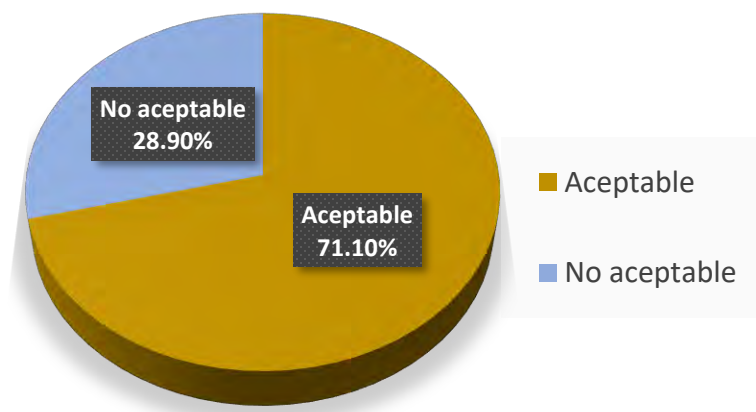
(*) Muestras que sobrepasan los límites máximos permisibles en UFC/g

En la tabla 5, se observa que de las 38 muestras de maíz morado para consumo humano el 28,9% (11) sobrepasan los límites máximos permisibles de la RM N° 591 – 2008/MINSA, según las tablas 4.

Tabla 5: Número y porcentaje de muestras aceptables y no aceptables

Rango Límite permisible	N° de muestras	%
$10^4 - 10^5$		
Aceptable	27	71.1
No aceptable	11	28.9
TOTAL	38	100

Figura 13: Porcentaje de UFC/g en muestras de maíz morado.



La tabla 4 muestra el resultado del recuento de los mohos presentaron valores comprendidos entre 2×10^4 a 93×10^4 UFC/g de mohos; resultados que no coincidieron con el estudio realizado por Romero et al. en el año 2018 que obtuvieron recuentos que comprenden valores entre 1×10^1 a 22×10^3 UFC/g de mohos los cuales se encontraban con valores aceptable para los límites máximos permisibles.

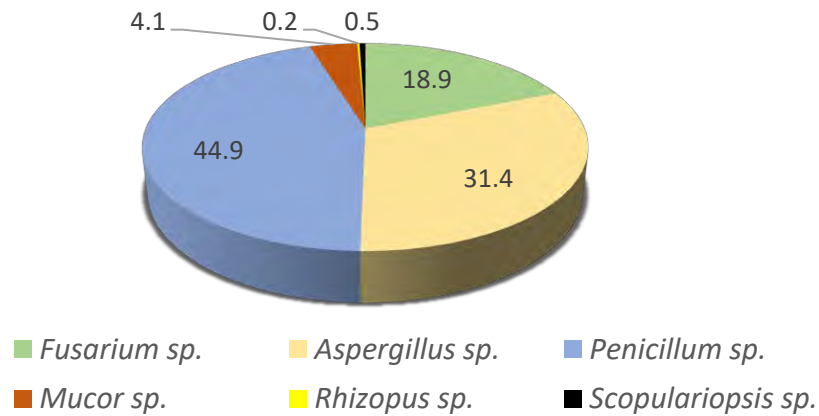
3.2. IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS DE MOHOS QUE CONTAMINAN EL MAÍZ MORADO.

Tabla 6: Porcentaje de los géneros de mohos contaminantes de maíz morado por centro de expendio.

Mercado	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Mucor sp.</i>	<i>Rhizopus sp.</i>	<i>Scropulariopsis sp.</i>	Total
San Pedro	10%	41.6%	30%	16.7%	1.7%	0%	100%
Ccascaparo	10.7%	25%	55.4%	8.9%	0%	0%	100%
Wánchaq	7.3%	28.5%	61.8%	1.6%	0%	0.8%	100%
Ttio	31.9%	45%	22%	1.1%	0%	0%	100%
Molino	76.7%	3.6%	12.5%	3.6%	0%	3.6%	100%
Vinocanchón	10.9%	67.4%	15.2%	6.5%	0%	0%	100%
Supermercado 1	12%	76%	12%	0%	0%	0%	100%
Supermercado 2	4.9%	4.9%	90.2%	0%	0%	0%	100%
Total	18.9%	31.4%	44.9%	4.1%	0.2%	0.5%	100%

En la tabla 6 se observa la frecuencia de los géneros de mohos en las muestras de maíz morado de los centros de expendio del Cusco como: *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Mucor sp.*, *Rhizopus sp.* y *Scropulariopsis sp.* (ANEXO N° 7 y 8)

Figura 14: Frecuencia de géneros de mohos contaminantes en el total de las muestras de maíz morado.



En la figura 14, se observa la frecuencia de géneros con el siguiente orden: *Penicillium sp.* 44.9% (255) siendo el de mayor incidencia seguido por *Aspergillus sp.* 31.4% (178), *Fusarium sp.* 18.9% (107), *Mucor sp.* 4.1% (23), *Scopulariopsis sp.* 0.5% (3) y *Rhizopus sp.* 0.2% (1). Resultados que varían con el estudio realizado por Vega en el 2012, que identifico mohos potencialmente micotoxigénicos en granos de maíz como: *Fusarium* con un 76.99% con una incidencia mayor, *A. flavus* con 11.72%, *A. parasiticus* con 0.57% y *Penicillium* con 0.53%.

En un estudio realizado en Lima - Perú por Cabanillas y Castro en el año 2022, identificaron la presencia de *Penicillium sp.*, con una mayor incidencia seguida por *Rhizopus sp.* y *Geotrichum sp.* en muestras de maíz morado, lo cual se asemeja al presente estudio de investigación.

Según Pénelo, 2018 mencionó que el maíz es un alimento muy completo, que contiene muchas vitaminas y minerales que son esenciales en la dieta de los seres humanos. Por ello la OMS recomienda el consumo de este alimento y según el aporte del MIDAGRI, 2021 indica que a nivel industrial es usado para obtener colorante de la coronta debido al alto

contenido de antocianinas que posee; este pigmento es usado a nivel industrial para la coloración de bebidas, cosméticos entre otros. Según Elika, 2018 mencionó que, para la FAO, el 25% de los cultivos alimentarios mundiales son alterados por hongos productores de micotoxinas. Las especies encontradas son considerados post cosecha de almacenamiento (Soriano, 2015) tal como se evidencia en el presente trabajo de investigación.

3.3. ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO

3.3.1. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

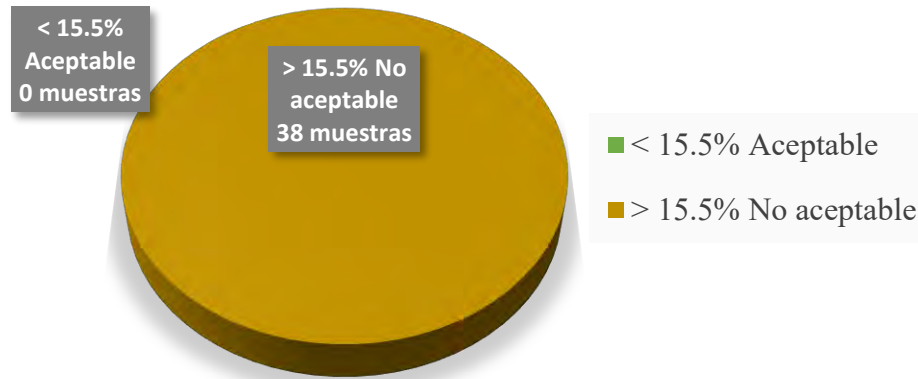
Tabla 7: Porcentaje de humedad en las muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco (2022).

N° de muestras	HUMEDAD (%H)								NORMA CODEX STAN 153 – 1985 Humedad máx.
	San Pedro	Ccscaparo	Wánchaq	Vinocanchón	Molino	Ttío	Supermercado 1	Supermercado 2	
1	31.9	31.5	23.6	30.9	24.0	41.5	19.4	29.7	
2	37.4	29.1	46.7	40.9	39.7	40.4	31.6	34.6	
3	35.6	34.7	30.4	35.7	37.0	21.8			
4	31.0	18.9	19.0	32.2	30.0	21.3			15.5 %
5	26.5	42.2	36.3	34.9	34.4	21.7			
6	36.6	38.0	29.7	37.7					

En la tabla 7, se observa el contenido de humedad (%) obtenidas en las muestras de maíz morado de los centros de expendio del Cusco; donde se observa que el total de las

muestras (38) de maíz morado sobrepasan el límite máximo de humedad según la norma establecida CODEX STAN 153 – 1985. (Anexo N° 16)

Figura 15: Porcentaje de muestras Aceptables y No aceptables según humedad (%)



En la figura 15, se observa que el 100% (38) de las muestras de maíz morado de los centros de expendio del Cusco superan el límite máximo permisible de 15.5% las cuales discrepan con los resultados obtenidos por Ortiz & Ramírez en el año 2006 donde mencionaron que de 43 muestras de maíz de grano entero desgranado el 100% de las muestras se encontraron por debajo del límite máximo de humedad para granos secos. Así mismo también discrepa con el estudio realizado por Pino en el año 2011 que determinó una humedad promedio de 11.31% encontrándose por debajo del valor máximo permisible (15.5%). Según la (FAO, 2006) indica que la humedad es un parámetro principal que regula la calidad del maíz según el CODEX STAN 153 – 1985 donde indica que la humedad para granos de maíz es de 15.5%.

Tabla 8: Desviación estándar y media de la humedad en muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco (2022).

Mercado	N	Media	Desviación estándar (\pm)	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
				San Pedro	6		
Ccascaparo	6	32,40	8,08	23,91	40,88	18,9	42,2
Wánchaq	6	30,95	9,75	20,71	41,18	19,0	46,7
Vinocanchón	6	35,38	3,64	31,56	39,20	30,9	40,9
Molino	5	33,02	6,18	25,34	40,69	24,0	39,7
Ttio	5	29,34	10,60	16,16	42,51	21,3	41,5
Supermercado 1	2	25,4	8,62	25,00	24,86	19,4	31,6
Supermercado 2	2	32,15	3,46	1,02	63,28	29,7	34,6
Total	38	32,06	7,07	21,54	42,26	18,9	46,7

La tabla 8 muestra la media y desviación estándar de humedad apreciándose que todas las muestras de maíz morado presentan valores por encima del límite máximo permisible de 15.5% según la norma CODEX STAN 153– 1985 con una humedad media total 32,06(\pm 7,07).

Tabla 9: Prueba de ANOVA para determinar la diferencia entre las medias

ANOVA HUMEDAD					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	209,38	7	29,91	0,54	0,79
Dentro de grupos	644,08	31	54,80		
Total	853,46	38			

En la tabla 9, se aplicó ANOVA y se muestra un nivel de significancia de 0,79 que es > 0.05 , indicando así que no existen diferencias significativas entre las medias pudiendo deducir que presentan comportamientos similares indicando que las muestras de los centros de expendio del Cusco (2022) presentan humedad siendo este el factor principal para la contaminación con mohos.

3.3.2. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ

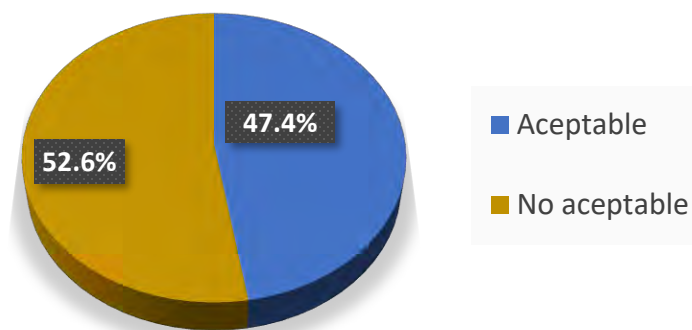
Tabla 10: Acidez de las muestras de maíz morado procedentes de los centros de expendio del Cusco (2022).

ACIDEZ									LIMITE 0.22 NTP 205.039 revisada 2016
N° de Muestras	San Pedro	Ccascaparo	Wánchaq	Vinocanchón	Molino	Ttio	Supermercado 1	Supermercado 2	
1	0.24	0.20	0.20	0.30	0.14	0.33	0.42	0.20	
2	0.19	0.25	0.30	0.27	0.23	0.33	0.30	0.25	
3	0.26	6.55*	0.19	0.18	0.22	0.21	--	--	
4	0.21	0.15	0.22	0.18	0.15	0.24	--	--	0.22
5	0.14	0.44	0.33	0.35	0.18	0.27	--	----	
6	0.26	0.26	0.17	0.15	---	---	--	----	

Nota: los valores marcados resaltados representan valores que sobrepasan el límite según la NTP 205.039. (*) Indica el valor máximo encontrado en cuanto a la acidez

En la tabla 10, se observa que en los centros de expendio: Ttio, Ccascaparo, Vinocanchón y San Pedro, más del 50% de las muestras de maíz morado presentan una acidez que sobrepasan el límite máximo permisible de la norma técnica peruana (NTP 205.039).

Figura 16: Frecuencia de acidez de las muestras de maíz morado.



En la figura 16, se observa que el 47.4% (18) de las muestras se encuentran con un valor de acidez aceptable; mientras que el 52.6% (20) presenta valores no aceptables en cuanto a la acidez para muestras de maíz morado según la NTP 205.039.

Tabla 11: Media y desviación estándar para acidez en muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco.

Mercados	N	Media	Desviación estándar (±)	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
San Pedro	6	0,21	0,04	0,16	0,26	0,14	0,26
Ccascaparo	6	1,30	2,56	-1,38	4,01	0,15	6,55
Wánchaq	6	0,23	0,06	0,16	0,30	0,17	0,33
Vinocanchón	6	0,23	0,07	0,15	0,32	0,15	0,35
Molino	5	0,18	0,04	0,13	0,23	0,14	0,23
Ttio	5	0,27	0,05	0,20	0,34	0,21	0,33
Supermercado 1	2	0,36	0,08	-0,40	1,12	0,30	0,42
Supermercado 2	2	0,22	0,03	-0,09	0,54	0,20	0,25
Total	38	0,40	1,02	0,06	0,74	0,14	6,55

La tabla 11 muestra la media y la desviación estándar de acidez en las muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco presentando una acidez para el mercado San Pedro de $0,21(\pm 0,04)$; para Ccascaparo $1,30(\pm 2,56)$; para Wánchaq $0,23(\pm 0,06)$; para Vinocanchón $0,23(\pm 0,07)$; para Molino $0,18(\pm 0,04)$; para el Supermercado 1 $0,36(\pm 0,08)$ y para el Supermercado 2 $0,22(\pm 0,03)$.

Cabe aclarar que la acidez total fue de 0,40 que exceden el límite máximo permisible. Resultados que discrepan con los obtenidos por Pino en el 2011 quien obtuvo una acidez total de 0,14 en harina de maíz criollo indicando que presentan valores aceptables en cuanto a la acidez.

Tabla 12: Prueba de ANOVA para determinar la diferencia de las medias.

ANOVA DE ACIDEZ					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	5,82	6	0,97	0,90	0,50
Dentro de grupos	33,12	32	1,06		
Total	38,95	37			

En la tabla 12, se aplicó ANOVA y se muestra un nivel de significancia de 0.05 resultado que es > 0.05 , lo que indica que no exista diferencia entre las medias en cuanto a la acidez pudiendo deducir que presentan comportamientos similares, indicando que las muestras de maíz morado en centros de expendio del Cusco (2022) presentan acidez siendo este un factor esencial para la presencia de mohos.

3.3.3. DETERMINACIÓN DEL pH

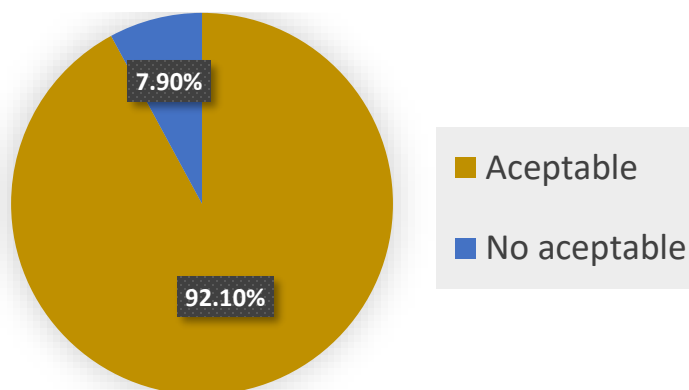
Tabla 13: pH de las muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco (2022).

N° de Muestras	pH								LIMITE 4, 5 A 6,5 NTP 209.064 revisada, 2016
	San Pedro	Ccascaparo	Wánchaq	Vinocanchón	Molino	Ttio	Supermercado 1	Supermercado 2	
1	6	6	6	5.5	5	7*	5	6	
2	6.5	5	5.5	6.5	6	6.5	6.5	6.5	
3	6.5	6	6	5	6	5	--	--	
4	6	6	5	5	7*	4*	--	--	4.5 – 6.5
5	6.5	6	6.5	6	5	5	--	---	
6	5.5	6.5	6	5.5	---	---	--	---	

Nota: (*) muestras que se encuentran por debajo y sobrepasan los límites de la NTP 209.064.

En la tabla 13, se observa que una muestra del mercado Molino y una del mercado Ttio sobrepasa y además una muestra del mercado Ttio se encuentra por debajo del rango de la NTP 209.064. para pH obtenido en muestras de maíz morado de los de los centros expendio

Figura 17: Rango del pH total de las muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco.



En la figura 17, se puede observar que el 92.1% (35) de muestras de maíz morado de los centros de expendio del Cusco son aceptables según la NTP 209.064 y el 7.9% (3) son considerados no aceptables por la norma. Resultados que coinciden con los de Romero en el 2018, que encontró que el 81% de sus muestras se encontraron dentro del rango y el 19% sobrepasan los límites para la NTP 209.064.

Tabla 14: Media y desviación estándar del pH para muestras de maíz morado de centros de expendio del Cusco (2022).

Mercados	N	Media	Desviación estándar (±)	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
				Límite inferior	Límite superior		
San Pedro	6	6,16	0,40	5,73	6,59	5,5	6,5
Ccascaparo	6	5,91	0,49	5,40	6,43	5,0	6,5
Wánchaq	6	5,83	0,51	5,29	6,37	5,0	6,5
Vinocanchón	6	5,58	0,58	4,97	6,19	5,0	6,5
Molino	5	5,80	0,83	4,76	6,83	5,0	7,0
Ttio	5	5,50	1,22	3,97	7,02	4,0	7,0
Supermercado 1	2	5,75	1,06	3,78	15,28	5,0	6,5
Supermercado 2	2	6,25	0,35	3,07	9,42	6,0	6,5
Total	38	5,82	0,68	5,60	6,05	4,0	7,0

En la tabla 14 se observa una media total de 5,82(±0,68) para las muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco pudiendo deducir que las muestras se encuentran dentro de la NTP 209.064. Resultados que discrepan con el obtenido por Pino el 2011 que determino una media total de 6,53 de pH encontrándose fuera del límite según la NTP. 209.064.

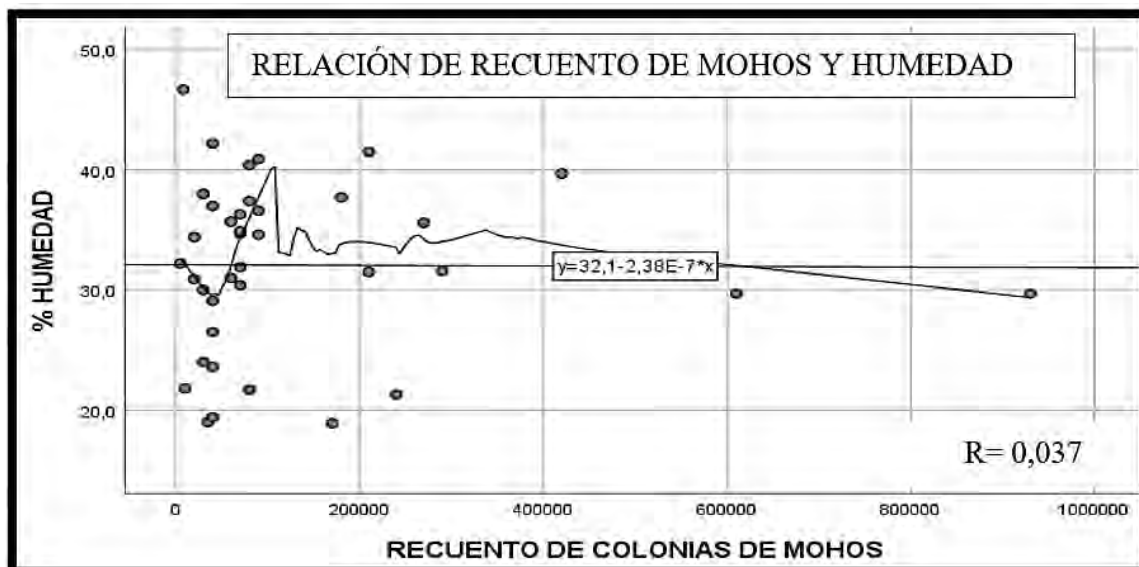
Tabla 15: Prueba de ANOVA para determinar la diferencia de las medias respecto al pH de las muestras de maíz morado.

ANOVA pH					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1,75	6	0,29	0,58	0,73
Dentro de grupos	15,38	32	0,49		
Total	17,13	38			

En la tabla 15, se aplicó ANOVA y se muestra un nivel de significancia de 0,73 que es $>$ a 0,05, indicando así que no existen diferencias significativas entre las medias pudiendo deducir que los resultados presentan comportamientos similares indicando que las muestras de maíz morado de los centros de expendio del Cusco (2022).

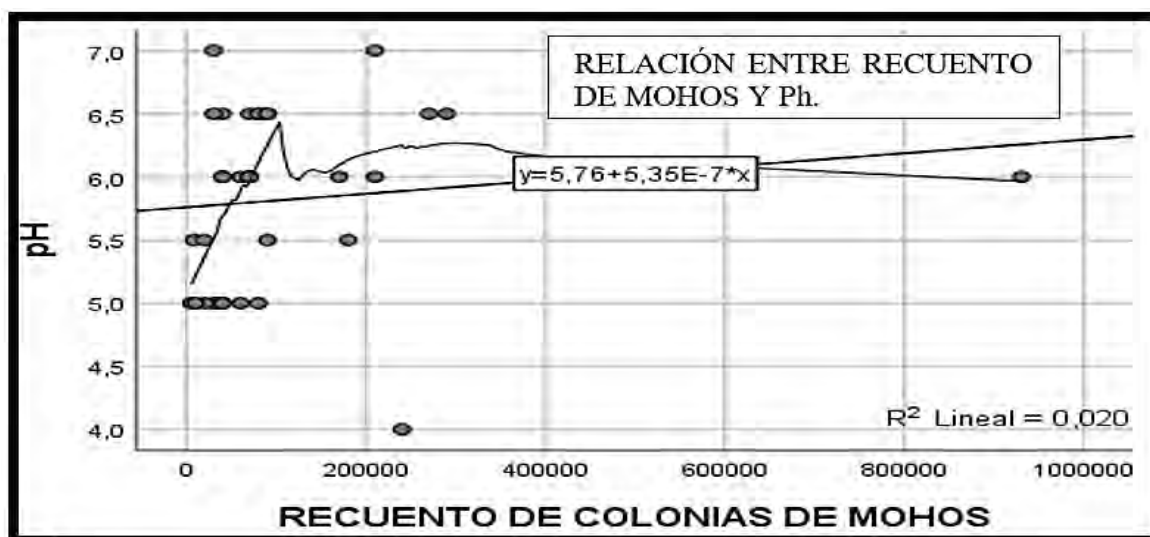
3.4. CORRELACIÓN ENTRE RECUENTO DE MOHOS, pH, HUMEDAD Y ACIDEZ EN MAÍZ MORADO.

Figura 18: Correlación entre el recuento de colonias de mohos con la Humedad.



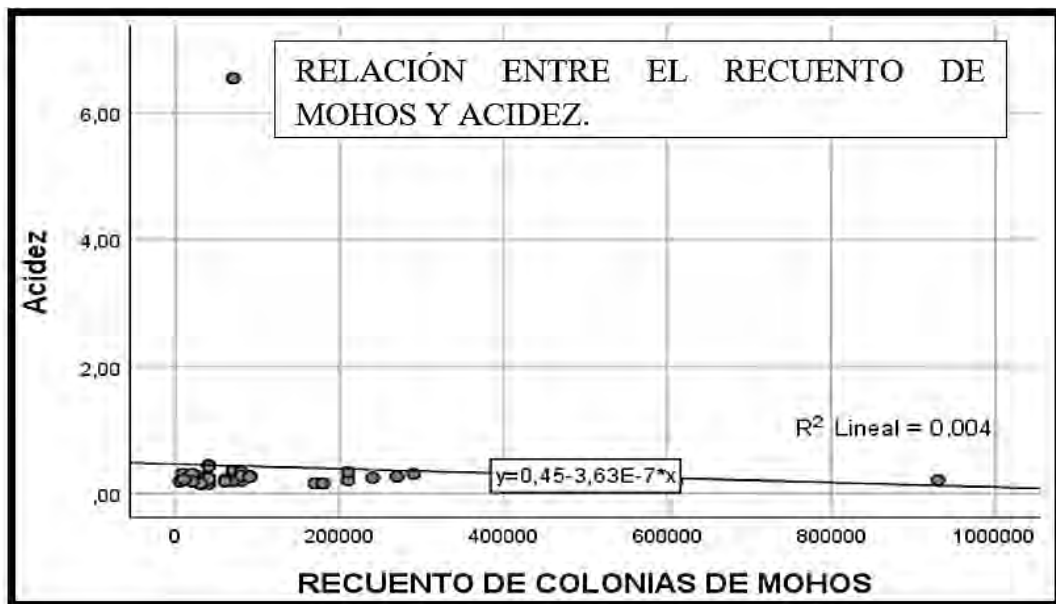
En la figura 18, se observa una correlación positiva dado entre el recuento de las colonias de mohos (UFC/g) con el porcentaje de humedad (%H), es de 3%.

Figura 19: Relación entre el recuento de mohos con el pH.



De la figura 19, se observa una correlación positiva dado que entre el recuento de las colonias de mohos (UFC/g) con el pH es de 2%.

Figura 20: Relación entre recuento de mohos y la acidez.



De la figura 20, se observa una correlación positiva dado que entre el recuento de las colonias de mohos (UFC/g) con la acidez es de 0.4%.

De acuerdo a los resultados de correlación de recuento de mohos con humedad, recuento de mohos con pH y recuento de mohos con acidez, existe una correlación positiva más no estadísticamente significativa (Figuras: 18, 19 y 20). Resultados que pueden ser similares a los obtenidos por (Romero et al., 2018) que determinó que no existió una correlación significativa entre el recuento de mohos con los parámetros de Humedad y pH.

3.5. CUANTIFICACIÓN Y FRECUENCIA RELATIVA DE OCRATOXINA A DETERMINADA POR ELISA EN MUESTRAS DE MAÍZ MORADO PROVENIENTES DE CENTROS DE EXPENDIO DEL CUSCO.

Tabla 16: Cuantificación de ocratoxina A por ELISA en muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco (2022).

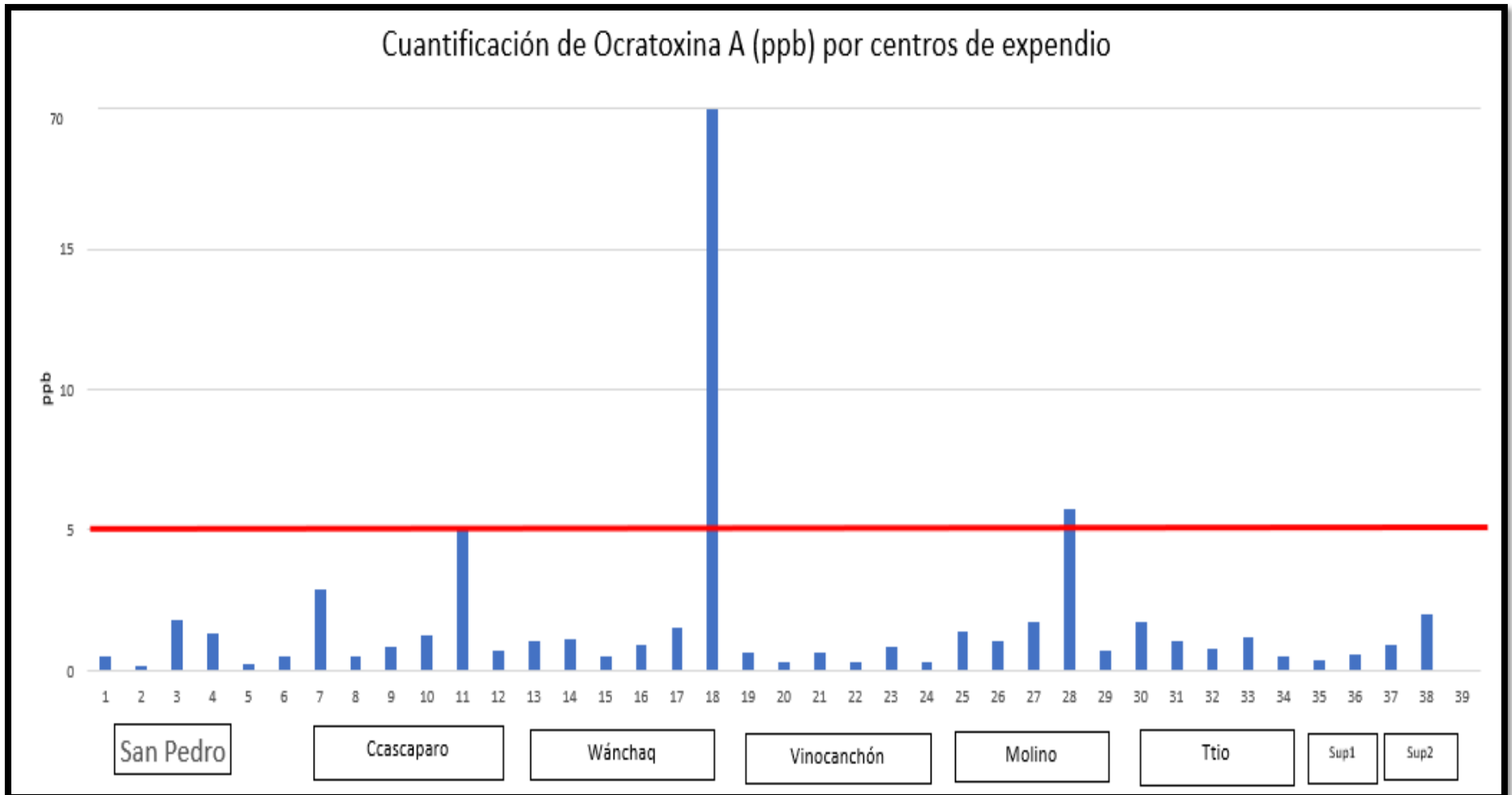
N° de Muestras	OCRATOXINA A (ppb)								Límite máximo permisible según CXS 193-1995
	San Pedro	Ccascaparo	Wánchaq	Vinocanchón	Molino	Ttio	Supermercado 1	Supermercado 2	
1	0.47*	2.89	1.05	0.66*	1.42	1.75	0.39*	0.89*	
2	0.13*	0.50*	1.14	0.33*	1.02	1.05	0.56*	1.98	
3	1.77	0.83*	0.53*	0.63*	1.73	0.75*	--	---	
4	1.31	1.23	0.89*	0.29*	5.77	1.21	--	--	5 ppb
5	0.26*	5.08	1.53	0.85*	0.71*	0.52*	--	--	
6	0.48*	0.73*	72.44	0.33*	--	--	--	--	

Dónde: Las muestras resaltadas representan valores que sobrepasan los valores máximos permisibles.

(*) Muestras no detectables \leq a 1ppb según NEOGEN.

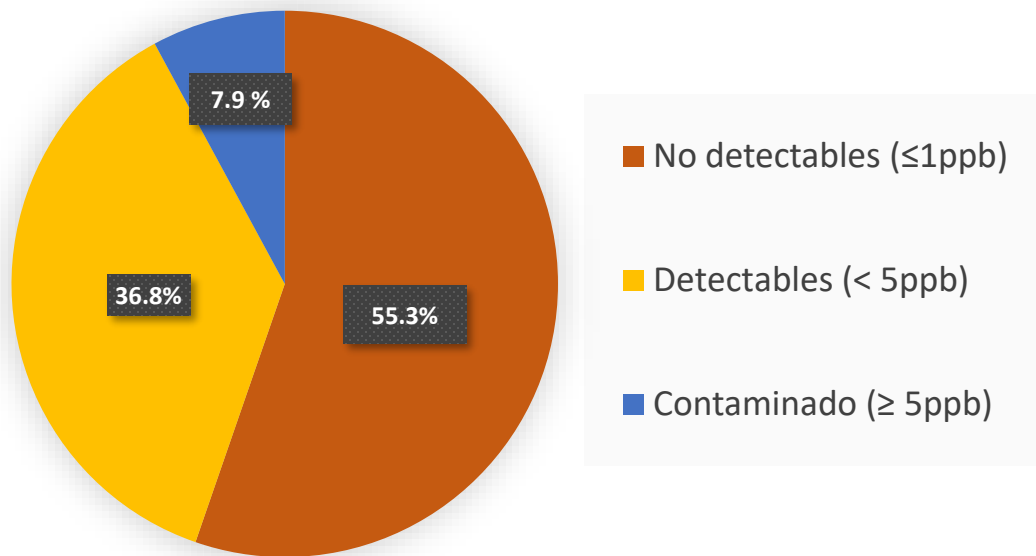
En la tabla 16 se observa que, del total de las muestras, 21 mostraron valores no detectables para ocratoxina A según NEOGEN (\leq 1ppb) por ELISA; además, 14 de las muestras presentan ocratoxina A por debajo de 5ppb considerándose apto para el consumo humano según la norma del Codex Alimentarius, sin embargo, el método detectó la presencia de dicha micotoxina en el maíz morado.

Figura 21: Cuantificación de Ocratoxina A.



En la figura 21, se observa que 3 de las muestras (11,18 y 28) sobrepasan los límites máximos permisibles para ocratoxina A según la norma del Codex Alimentarius con un rango de 5,08 a 72,44ppb.

Figura 22: Porcentaje de Ocratoxina A en muestras de maíz morado (*Zea mays*).



En la figura 22, se observa que el 7.9% (3) presentan ocratoxina A sobrepasando el límite máximo permisible según el Codex Alimentarius (5ppb). Existe también un 36.8% que se encuentran dentro de la norma con un rango entre 1.02 – 2.89 ppb de Ocratoxina A y un 55.3% de las muestras se encuentran con valores por debajo de límite de detección (1ppb) para ocratoxina A según NEOGEN (2014).

Tabla 17: Frecuencia relativa de ocratoxina A en maíz morado en centros de expendio del Cusco.

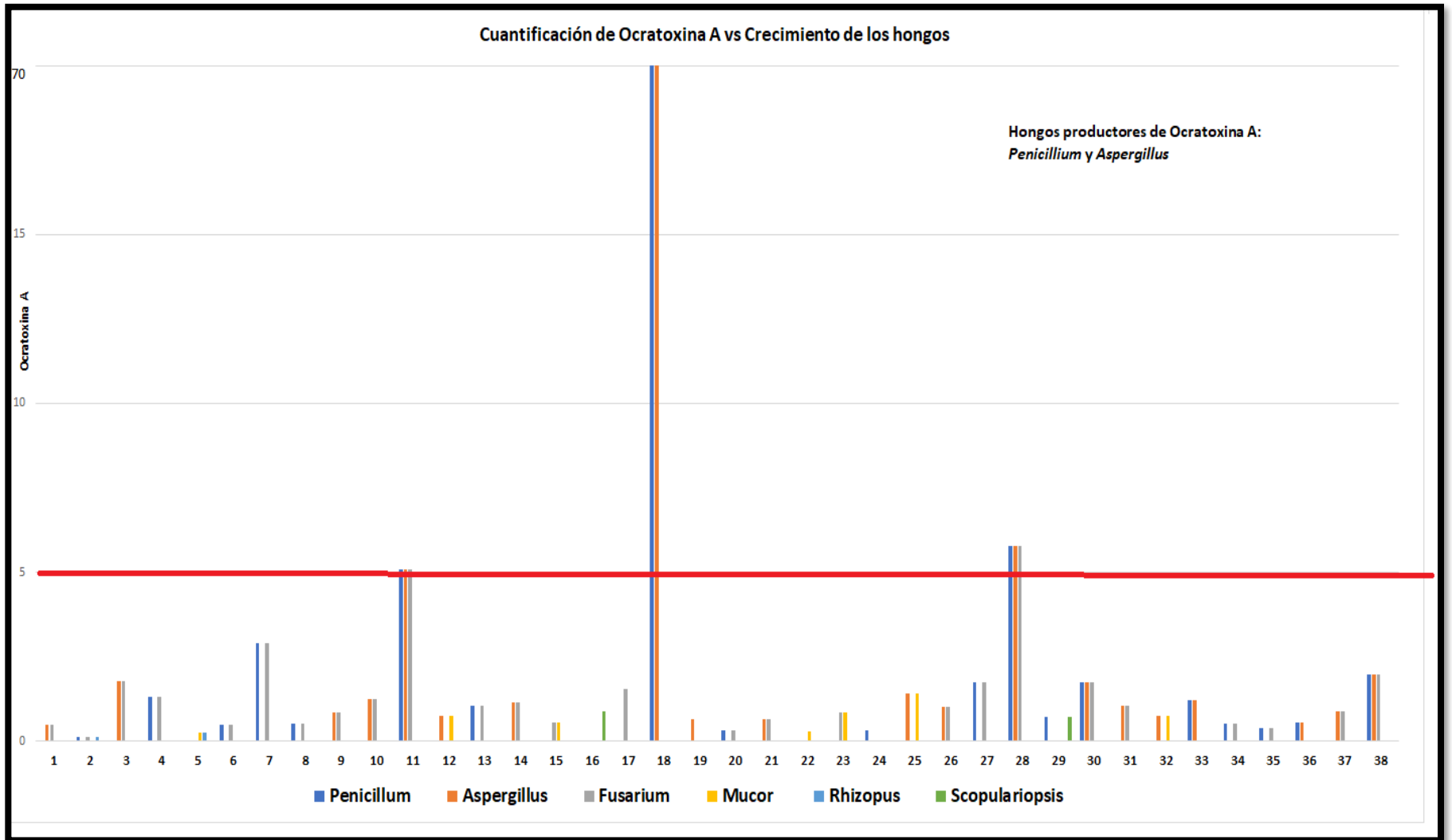
Mercado	N° muestras analizadas	N° muestras positivas para ocratoxina A	Frecuencia relativa	Mínimo	Máximo
San Pedro	6	0	0%	0,13	1,77
Ccascaparo	6	1	16,7%	0,50	5,08
Wánchaq	6	1	16,7%	0,53	72,44
Vinocanchón	6	0	0%	0,29	0,85
Molino	5	1	20%	0,71	5,77
Ttio	5	0	0%	0,52	1,75
Supermercado 1	2	0	0%	0,39	0,56
Supermercado 2	2	0	0%	0,89	1,98
Total	38	3	7,9%	0,13	72,44

En la tabla 17, se puede observar que el 20% de las muestras del mercado Molino y el 16,7% de las muestras de los mercados Ccascaparo y Wánchaq, presentaron contaminación con Ocratoxina A superando los límites máximos permisibles según las normas del Codex Alimentarius.

CORRELACION ENTRE OCRATOXINA A Y HONGOS

La producción de Ocratoxina A se da en relación a los hongos productores de esta micotoxina, los géneros más comunes son *Aspergillus* y *Penicillium*.

Figura 23: Correlación entre Ocratoxina A y mohos



En la figura 23 se observa que las muestras 11, 18 y 28 superan los límites máximos permisibles para ocratoxina A guardando relación con el crecimiento de hongos del género *Penicillium*, *Aspergillus* y *Fusarium* para la muestra 11 y 28; *Penicillium* y *Aspergillus* para la muestra 18. Demostrando que la producción de ocratoxina A esta relacionada con el crecimiento de los hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*. Los resultados obtenidos concuerdan con el estudio de Cabanillas y Castro en el 2022 que identificaron *Penicillium sp*, *Rhizopus sp*, y *Geotrichum sp*.

Los resultados obtenidos de las muestras de maíz morado, el 44,7% (17) son detectables para ocratoxina A con un rango de 1,02 – 72,44 ppb, de las cuales el 17,6% (3) superan el límite máximo permisible según la norma del Codex Alimentarius para ocratoxina A (5ppb). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Villela en el 2018 que determino que 33,33% de ocratoxina en la etapa de almacenamiento tenía un nivel alto de presencia de esta micotoxina en granos de maíz.

Un estudio realizado por Salcedo et al. en el año 2011, determinaron que solo el 35.5% de sus muestras fueron contaminadas con ocratoxina A en un promedio de 8ug/Kg (ppb) en muestras de maíz amarillo guardando relación con el presente trabajo

Los resultados obtenidos también coinciden con los de Cabanillas y Castro en el 2022 quienes evaluaron la presencia de ocratoxina A con una contaminación de 10,92 y 13,27 la contenida de estas muestras en maíz morado superan los límites máximos permisibles de (5µg/Kg) establecidos por la Unión Europea.

3.6. CUANTIFICACIÓN Y FRECUENCIA RELATIVA DE FUMONISINAS TOTALES DETERMINADA POR ELISA EN MUESTRAS DE MAÍZ MORADO PROVENIENTES DE CENTROS DE EXPENDIO DEL CUSCO.

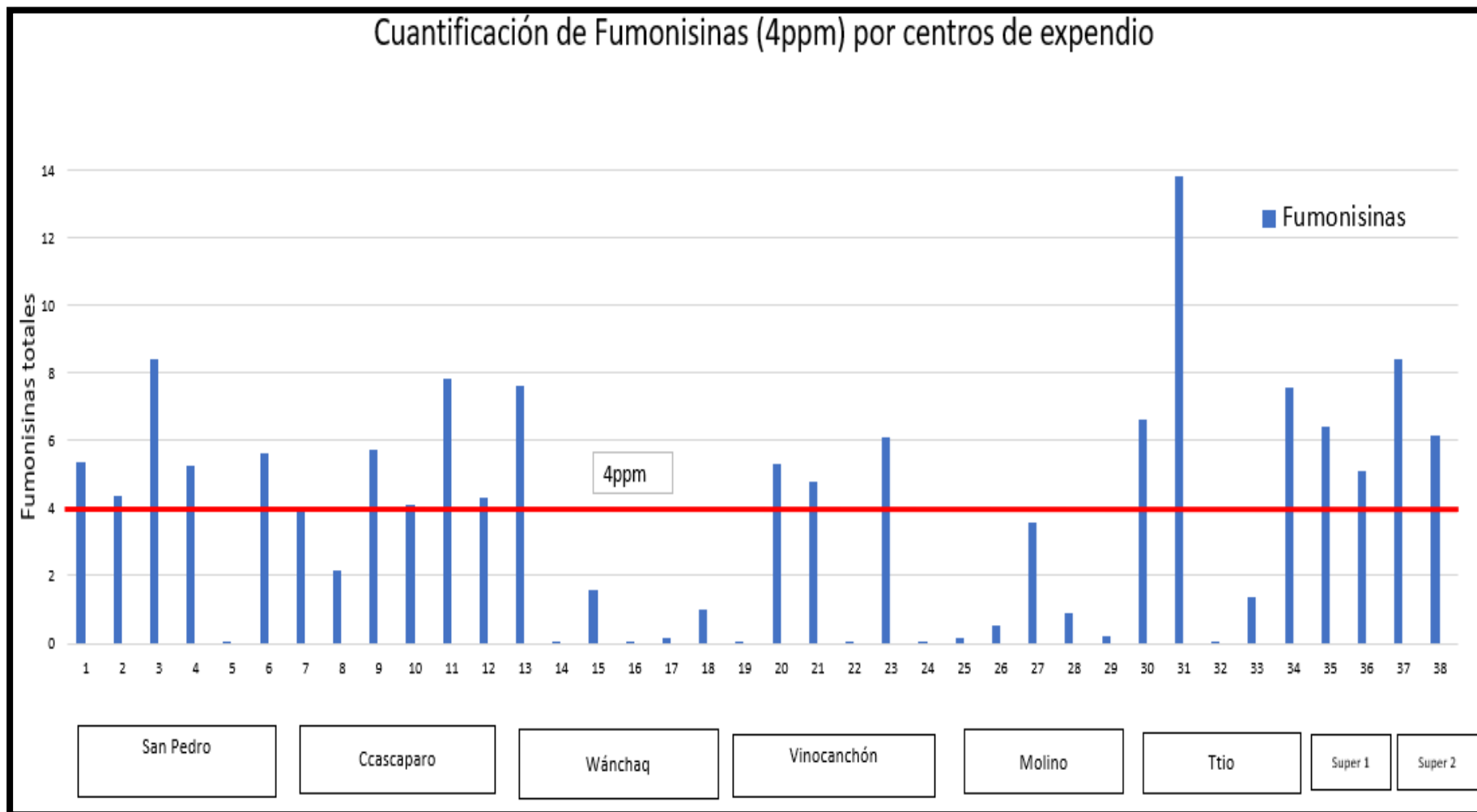
Tabla 18: Cuantificación de Fumonisinas totales por ELISA en muestras de maíz morado procedentes de centros de expendio del Cusco (2022).

N° de Muestras	FUMONISINAS TOTALES (ppm)								Límite máximo permisible según CXS 193-1995
	San Pedro	Ccascaparo	Wánchaq	Vinocanchón	Molino	Ttío	Supermercado 1	Supermercado 2	
1	5.37	3.97	7.61	0.06*	0.18*	6.64	6.41	8.40	4 ppm
2	4.35	2.15	0.03*	5.30	0.55	13.80	5.11	6.16	
3	8.40	5.73	1.58	4.80	3.58	0.06*	--	--	
4	5.24	4.08	0.03*	0.07*	0.91	1.38	--	--	
5	0.02*	7.84	0.16*	6.08	0.19*	7.55	--	--	
6	5.62	4.30	1.01	0.06*	--	--	--	--	

Dónde: Las muestras resaltadas representan valores que sobrepasan los valores máximos permisibles.
 (*) Muestras no detectables \leq a 0.2 ppm según NEOGEN.

En la tabla 18, se observa que, del total de las muestras, 10 muestras presentaron valores no detectables para fumonisinas totales según NEOGEN (\leq 0.2 ppm); además, 20 muestras presentan valores que sobrepasan los límites máximos permisibles para fumonisinas por encima de 4ppm considerándose no apto para el consumo humano según la norma del Codex Alimentarius.

Figura 24: Cuantificación de Fumonisinis totales.



En la figura 24 se observa que de las 38 muestras de maíz morado 20 resultaron contaminadas con fumonisinas totales con un rango de 4.08 – 13.80 ppm y 10 muestras se encuentran por debajo del límite de detección para fumonisinas totales con un rango de 0.02 - 0.19 ppm.

Figura 25: Porcentaje de Fumonisinias totales en muestras de maíz morado (*Zea mays*).

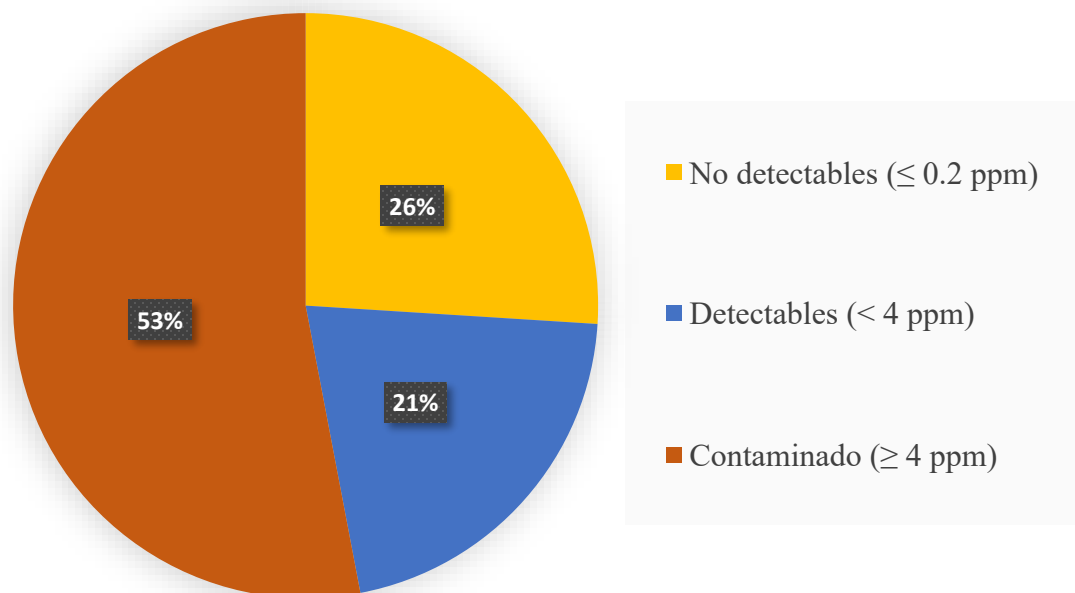


Figura 25, se observa que 53% (20) presentan fumonisinas totales sobrepasando el límite máximo permisibles según el Codex Alimentarius (4ppm), Existe también un 21% (8) que se encuentra dentro de la norma con un rango entre 0,55 – 3,97 ppm de fumonisinas totales y un 26% (10) del total de las muestras se encuentra con valores por debajo del límite de detección (0,2ppm) para fumonisinas según NEOGEN (2015).

Tabla 19: Frecuencia relativa de Fumonisinias totales en maíz morado de centros expendio del Cusco (2022).

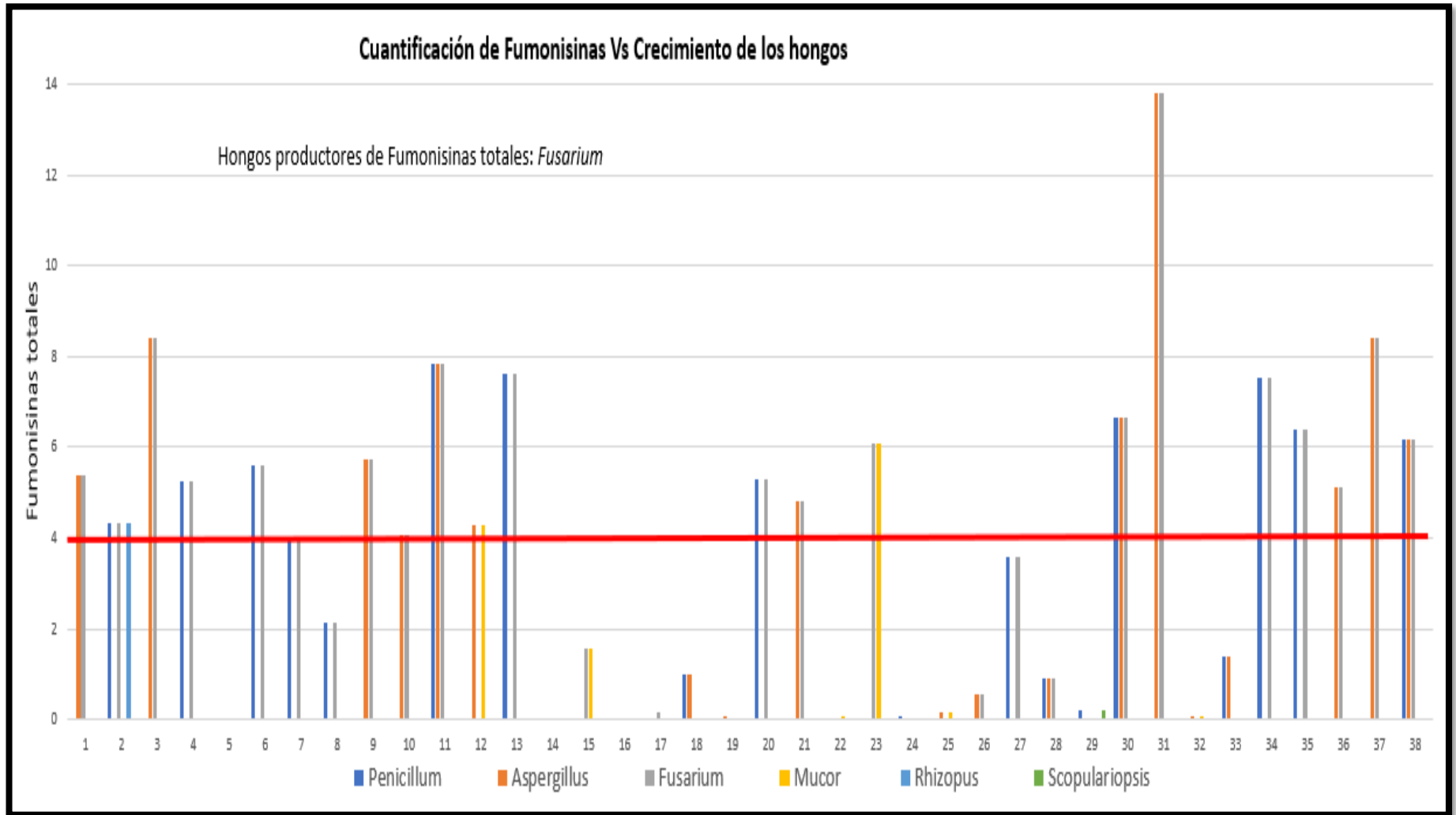
Mercado	N° muestras analizadas	N° muestras positivas para fumonisinias totales	Frecuencia relativa	Mínimo	Máximo
San Pedro	6	5	83,3%	0,02	8,40
Ccascaparo	6	6	100%	2,15	7,84
Wánchaq	6	1	16,7%	0,03	7,61
Vinocanchón	6	3	50%	0,06	6,08
Molino	5	1	20%	0,18	3,58
Ttio	5	3	60%	0,06	13,80
Supermercado 1	2	2	100%	5,11	6,41
Supermercado 2	2	2	100%	6,16	8,40
Total	38	3	61%	0,02	13,80

En la tabla 19, se puede observar que el 100% de las muestras del mercado Ccascaparo Supermercados 1 y 2; presentan contaminación por fumonisinias totales que superan los límites máximos permisibles del Codex Alimentarius. Con un rango de 0,02 - 13,80 de contaminación de fumonisinias totales por ELISA.

CORRELACION ENTRE FUMONISINAS TOTALES Y HONGOS

La producción de Fumonisinias totales se da en relación a los hongos productores de esta micotoxina, el género más común es *Fusarium*

Figura 26: Cuantificación entre Fumonisinis totales y mohos.



En la figura 26 se observa que las muestras 1, 2, 3, 4, 6, 9, 10, 11, 13, 20, 21, 23, 30, 31, 34, 35, 36, 37 y 38, presenta crecimiento de hongos del género *Fusarium*, demostrando que la producción de Fumonisinias totales se relacionan con la presencia de este hongo. Este resultado se relaciona con el estudio realizado por Maldonado en Argentina el año 2020 donde aisló *Fusarium verticillioides* como principal especie productora de fumonisinias.

De las 38 muestras de maíz morado analizadas, 21% (8) fueron detectables para fumonisinias totales con un rango de 0,55 – 3,97 y el 53% (20) del total de las muestras superan los límites máximos permisibles según la norma del Codex Alimentarius para fumonisinias totales (4ppm) con un rango de 4,08 – 13,80 ppm. Resultados que discrepan de los de Esposito y Ferraguti en el año 2019 donde seleccionaron aleatoriamente 50 muestras, las cuales se encontraban por debajo del límite máximo permisibles para Fumonisinias según la FDA de los Estados Unidos. Otro estudio realizado en Argentina por Maldonado en el año 2020 en harinas de maíz envasadas y sueltas para fumonisinias determino que el 25% del total de las muestras analizadas por ELISA presentaron un promedio de 4,67ppm, superando los límites máximos permisibles resultados que coinciden con el presente trabajo de investigación; Por otro lado Villela et al. en el año 2018 determino que el 23,53% del total de sus muestras en la etapa de almacenamiento y 6,67% de las muestras de la etapa de consumo sobrepasaban los límites máximos permisibles para granos de maíz morado asemejándose con nuestros resultados obtenidos.

CONCLUSIONES

De las 38 muestras de maíz morado (*Zea mays*) obtenidos durante los meses de enero a abril del 2022, procedentes de centros de expendio del Cusco, se concluye que:

1. La cuantificación de mohos fue de 2×10^4 a 93×10^4 de UFC/g., donde el 28.9% (11) de las muestras fueron no aceptables según los parámetros de la RM N°591-2018/MINSA para muestras de maíz en grano. Se identificaron hongos de los géneros: *Penicillium sp.* 44.9%, *Aspergillus sp.* 31.4%, *Fusarium sp.* 18.9%, *Mucor sp.* 4.1%, *Scropulariopsis sp.* 0.5% y *Rhizopus sp.* 0.2%.
2. La humedad promedio de las muestras fue de $32,06(\pm 7,07)$, donde el 100% de las muestras sobrepasa el límite máximo permisible según la norma establecida CODEX STAN 153 - 1985. El 47% de las muestras presentó una acidez promedio de $0,21(\pm 0,16)$, encontrándose por debajo del límite máximo permisible de la NTP 205.039 y el 53% de las muestras presentaron un promedio de 0,61 de acidez sobrepasando el límite máximo permisible. En cuanto al pH el 7,9% (3) de las muestras son considerados no aceptables por la NTP 209.064. La correlación entre el recuento de mohos con humedad, acidez y pH fue positiva, pero no estadísticamente significativa.
3. Mediante el Método de ELISA, se determinó ocratoxina A donde el 7,9% (3) del total de las muestras de maíz morado (*Zea mayz L.*) sobrepasan los límites máximos permisibles según el Codex Alimentarius (5ppb), con un rango entre 5,08 – 72,44 ppb y el 36.8% de las muestras fueron detectables por el método con valores entre 1,02 – 2,89 ppb y el 55.3% de las muestras no fueron detectables por NEOGEN.

Se determinó también fumonisinas totales donde el 53% (20) del total de muestras de maíz morado (*Zea mayz L.*) superan los límites máximos permisibles según el Codex

Alimentarius (4ppm) con un rango entre 4,08 – 13,80 ppm, el 21% (8) del total fueron detectables por el método presentando valores entre 0,55 – 3.97 ppm y el 26% (10) fueron no detectables por NEOGEN.

4. La producción de ocratoxina A se relaciona con la presencia de *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.* y la producción de fumonisinas totales se relaciona con la presencia de *Fusarium sp.*

SUGERENCIAS

- Se sugiere continuar con este tipo de investigación en alimentos que son vulnerables (semillas, granos, carnes, productos lácteos, frutas, frutos secos, harinas entre otras) así como analizar los niveles de comportamiento de ocratoxina A y fumonisinas en alimentos de consumo humano y animales.
- Determinar los tipos de fumonisinas (B1, B2, B3, B4, A1 y A2) para poder así distinguir su potencial tóxico ya que sus niveles pueden ser heterogéneos.
- Se sugiere a las autoridades competentes realizar control de la cadena de producción del maíz morado para prevenir la contaminación por micotoxinas que son perjudiciales para la salud humana y de los animales.
- Se sugiere a las autoridades competentes realizar capacitaciones y asesoramiento técnico de las Buenas Prácticas Agrícolas, higiene y manipulación de alimentos con el fin de disminuir riesgos y así controlar la calidad de estos desde el cultivo, cosecha, almacenamiento, transporte y expendio.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Adiveter. (2020). *Métodos de detección de micotoxinas*. Engormix. <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/metodos-deteccion-micotoxinas-t45430.htm>
- AFHSE. (2015). *Recomendaciones para la prevención, el control y la vigilancia de las micotoxinas en las fábricas de harinas y sémolas. Introducción: Las micotoxinas*. 118.
- Alcalá, L., Muñoz, P., Peláez, T., & Bouza, E. (2002). *Aspergillus y aspergilosis. Servicio de Microbiología Clínica. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid*, 5.
- Alcázar, J. (2013). *Micotoxinas en producción porcina. Definición, clasificación y efectos tóxicos*. https://www.3tres3.com/articulos/micotoxinas-en-produccion-porcina-definicion-clasificacion-y-efectos_32917/
- Almudena, A., & Lizaso, J. (2001). *Hongos y Micotoxinas. FUNDACIÓN IBÉRICA PARA LA SEGURIDAD ALIMENTARIA Ronda de Poniente, 9 – Tel. 91 807 54 10 Fax: 91 803 38 87 – 28760 TRES CANTOS (Madrid) FUNDACIÓN IBÉRICA PARA LA SEGURIDAD ALIMENTA*, 9.
- ANMAT. (2014). *Microorganismos biológicos* (ANMAT, Vol. 3). INAL. http://www.anmat.gov.ar/renaloea/docs/analisis_microbiologico_de_los_alimentos_vol_iii.pdf
- Basílico, M., Vicenzini, A., & Basílico, J. (2005). *Aislamiento e Identificación de Hongos Resistentes al Calor en Frutillas*. (2.^a ed., Vol. 1). FABICIB. <https://doi.org/10.14409/fabicib.v2i1.602>
- Blandon, J. C., & Denli, M. (2011). *Evaluación de un adsorbente de micotoxinas de nueva generación como aditivo en el pienso de animales de renta. Universitat Autònoma de Barcelona. Unidad de Nutrición animal. Facultad de Veterinaria*. https://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1161831538a.pdf
- Bolet, M., & Socarrás, M. (2005). *Micotoxinas y cáncer. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 24(1), 54-59.
- Caballero, N., Garcia, S., & Rubio, S. (2013). *Microextracción de ocratoxina A en especias con disolventes nanoestructurados*. 1.
- Cabanillas, K. J., & Castro, A. J. (2022). *Evaluación de ocratoxina A y análisis micotoxigénico en Zea mays L. “maíz morado”*. *Cybertesis UNMSM*.

- https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/17944/Cabanillas_vk.pdf?sequence=3N
- Carvajal, M. (2013). *Asocian diversos tipos de cáncer con alimentos contaminados por aflatoxinas*. https://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2013_421.html
- Carrillo, L. (2003). *Los hongos de los alimentos y forrajes*. <http://www.microbiota.com.ar/sites/default/files/5penicilios.pdf>
- Chávez, I. A. M. (2000). Maíz morado peruano (*Zea mays L. amilacea st.*). *INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACION AGRARIA DIRECCION GENERAL DE INVESTIGACION AGRARIA DIRECCION GENERAL DE TRANSFERENCIA DE TECNOLOGIA*, 21.
- De la Torre, E., Sánchez, D., Galeana, E., & Plasencia, J. (2014). *Fumonisinias – Síntesis y función en la interacción Fusarium verticillioides-maíz*. ELSEIVER. <https://www.elsevier.es/es-revista-tip-revista-especializada-ciencias-quimico-biologicas-93-pdf-S1405888X14703213>
- Deepthi, B., & Sreenivasa, M. (2021). *Fumonisinias—Las micotoxinas subestimadas en avicultura, ganadería y humanos*. MycotoxinSite. <https://mycotoxinsite.com/fumonisinias-micotoxinas-subestimadas-avicultura-ganaderia-humanos/>
- Elika. (2013a). *Ficha fumonisinias*. 4.
- Elika. (2013b). *Ficha ocratoxina A*. 4.
- Elika. (2018). *Micotoxinas en alimentos*. 6.
- Espinoza, A. K. (2019). *64 Ntp 209.064 Almidón de Maíz No Modificado—Free Download PDF*. https://kupdf.net/download/64-ntp-209064-almidon-de-maiz-no-modificado_5caa7a21e2b6f5e233894cc4_pdf
- Esposito, M. andrea, & Ferraguti, F. J. (2019). Identificación de hongos en espigas de maíz tardío y acumulación de fumonisinias y DON durante el secado a campo. *Food Research International*, 43(7), 1902-1914. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.010>
- FAO. (2006). Seguridad Alimentaria y Nutricional Conceptos Básicos. *Programa Especial para la Seguridad Alimentaria - PESA - Centroamérica*, 8.
- FAO. (2001). *El maíz en los trópicos: Mejoramiento y producción*. <https://www.fao.org/3/x7650s/x7650s07.htm>

- FAO, & OMS. (1995). *NORMA GENERAL PARA LOS CONTAMINANTES Y LAS TOXINAS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS Y PIENSOS*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura - Organización Mundial de la Salud; CXS 193-1995. https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B193-1995%252FCXS_193s.pdf
- FAO, & WHO. (2019). *Normas Oficiales | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO*. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/es/>
- Flores, C. E. (2020). *Utilización del maíz forrajero (Zea mays) y pasto elefante (Pennisetum purpureum) en el incremento de peso del ganado caprino (Capra hircus) en el centro pecuario de la Universidad Nacional de Tumbes. 2019*. <https://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/123456789/2220/TESIS%20-%20FLORES%20REYES.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Freddy, J. (2008). El maíz: Botánica. *EL MAIZ*. <http://f10freddy10.blogspot.com/2008/09/botanica.html>
- García, C., Martín, J.-F., & von Döhren. (2011). Un conjunto de genes regulados coordinadamente codifica la biosíntesis de las micotoxinas roquefortina C y meleagrina en *Penicillium chrysogenum*. *Chemistry & Biology*. <https://www.unileon.es/noticias/inbiotec-consiguen-obtener-cepas-mutantes-del-moho-sin-micotoxinas-de-gran-interes-para-el-sector-agroalimentario>
- Gil, J., dir Patiño, B., & dir Vasquez, C. (2015). *Producción de ocratoxina en las principales especies de «Aspergillus» sección circumdati: Estudio de los genes implicados, métodos de detección y control*. [file:///C:/Users/Usuario/Downloads/5329971235%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Usuario/Downloads/5329971235%20(1).pdf)
- Gimeno, A. (2005). *La Legislación de la Unión Europea y Tolerancias para algunas Micotoxinas en la Alimentación*. Engormix. <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/legislacion-union-europea-tolerancias-t26196.htm>
- Gimeno, A., & Martins, M. (2003). *Riesgos de Micotoxicosis que algunas Micotoxinas (Como Contaminantes de los Alimentos) Pueden Provocar en Humanos*. https://www.aktiveter.com/ftp_public/A1110408.pdf

- Gómez, A. (2007). *Alimentos y micotoxinas*. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-pdf-13109791>
- Guerrero, A., & Parreño, J. (2018). DETERMINACIÓN DE MICOTOXINAS POR EL MÉTODO DE ELISA EN SOYA PARA AVES EN PRODUCCIÓN EN LA PROVINCIA DE CHINCHA, AÑO 2016. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84(1), 27-40. <https://doi.org/10.37761/rsqp.v84i1.162>
- Guillén, J., Mori, S., & Paucar, L. M. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. Subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria*, 5(4), Article 4. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2014.04.05>
- Houbraken, J., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2011). Taxonomy of *Penicillium* section *Citrina*. *Studies in Mycology*, 70, 53-138. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.70.02>
- INSST. (2021). *Aspergillus spp.* - *Agentes Biológicos—Hongo* [Ministerio de Trabajo y Economía Social - España]. Portal INSST. <https://www.insst.es/agentes-biologicos-basebio/hongos/aspergillus-spp>
- Kato, T., Mapes, C., Mera, L. M., Serratos, J. A., & Bye, R. (2009). Origen y diversificación del maíz: Una revisión analítica. *UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO*, 119.
- Kinman, T. (2021). *AARP herramienta de salud*. AARP. <https://healthtools.aarp.org/es/health/elisa>
- Leon, J. (2020). *El maíz es el cultivo más importante en extensión para el Perú*. Agraria.pe Agencia Agraria de Noticias. <https://agraria.pe/noticias/el-maiz-es-el-cultivo-mas-importante-en-extension-para-el-pe-22033>
- López, A., Jiménez, AM., Ezpeleta, O., & Bello, J. (2000). Efectos tóxicos de la Ocratoxina A. *Dpto de Bromatología, Tecnología de Alimentos y Toxicología. Facultad de Farmacia*. https://www.avideter.com/ftp_public/articulo804.pdf
- Maldonado, L. E. (2020). *Fumonisinias en muestras de harina de maíz comercializadas en Resistencia-Chaco: Comparación de un método comercial rápido de ensayo Inmunoenzimático (ELISA) con el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de referencia para la detección y cuantificación*. <http://repositorio.unne.edu.ar/xmlui/handle/123456789/27603>

- Martínez, E. (2003). *ESTUDIO DE ESPECIES MICOTOXÍGENAS DEL GÉNERO Penicillium: Penicillium verrucosum Dierckx* (Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals) [Universitat Autònoma de Barcelona]. Facultat de Veterinària. <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5598/emb1de1.pdf;jsessionid=7481FE1DE85172E252084C79359C3ADC?sequence=1>
- Mazon, Ma. de los A., Escobedo, J. S., Herrera, E., Macias, A., Hernandez, J., Vasquez, G., & Wesche Ebeling, P. A. (2012). *Maíz de alto contenido proteínico (Zea mays L.) en hogares rurales marginados del estado de Puebla*. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-45572012000100005
- Medina, P. (2009). *ESTUDIO DE DEPLECIÓN DE OCRATOXINA A EN TEJIDOS COMESTIBLES DE POLLOS BROILER*. 58.
- MIDAGRI (Ed.). (2021). El maíz morado peruano: Un producto de alto contenido de antocianinas, poderoso antioxidante natural. *MINISTERIO DE DESARROLLO AGRARIO Y RIEGO*, 69. Biblioteca Nacional del Perú N° 2021-13541.
- MINAGRI. (2018). *Minagri pide seguir buenas prácticas de almacenamiento para evitar presencia de contaminantes en alimentos*. <https://agraria.pe/noticias/minagri-pide-seguir-buenas-practicas-de-almacenamiento-para--16790>
- MINAGRI. (2019). *Gestión Participativa—Maíz amiláceo*. <https://gestionparticipativa.pe.iica.int/Procesos/Marco-Orientador-Cultivos/Presentacion/Analisis-economico-por-cultivo-priorizado/Maiz-amilaceo.aspx>
- MINAM. (2018). *Línea de base de la diversidad genética del maíz peruano con fines de bioseguridad*. Grupo Rasso. <https://bioseguridad.minam.gob.pe/wp-content/uploads/2019/01/Linea-de-base-ma%C3%ADz-LowRes.pdf>
- MINSA, & DIGESA. (2008). *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MIN SANORMA.pdf
- MINSA (Ed.). (2021). *PROGRAMA PRESUPUESTAL 0024 "PREVENCIÓN Y CONTROL DE CÁNCER": MINISTERIO DE SALUD*. https://www.minsa.gob.pe/presupuestales/doc2021/ANEXO2_6.pdf

- Monzón, A., & Rodríguez, J. L. (2008). *Infecciones causadas por el género Fusarium*. 6.
- Moreno, E., Quezada, M., Moreno, J., Vázquez, E., & Arrúa, A. (2012). *Aspergillus aflatoxigénicos: Enfoque taxonómico actual*. 3(5), 1047-1052. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*.
- NEOGEN. (2014). *Cuantificación de ocratoxina A por el Método Inmunoenzimático ELISA*.
- NEOGEN. (2015). *Cuantificación de Fumonisinias por el Método Inmunoenzimático*. ACEPTADA POR AOAC-2001.06.
- NEOGEN (2015) *Veratox® para Fumonisina*. (s. f.). Obtenido de www.neogen.com
- Ochoa, R. F. (2012). *Técnicas inmunoenzimáticas para ensayos clínicos de vacunas y estudios inmunoepidemiológicos* (Primera). Finlay Ediciones. <https://www.paho.org/cub/dmdocuments/PubFINLAY-LIBROTecInmunoParaEClinVacunas2012.pdf>
- OMS. (2018a). *Micotoxinas*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
- OMS. (2018b). *Micotoxinas*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
- Ortiz, S. del A., & Ramírez, E. (2006). *Determinación de la composición química proximal y fibra dietaria de 43 variedades criollas de maíz de 7 municipios del sureste del estado de Hidalgo*. ICSa-BD-UAEH. <http://200.57.56.70:8080/xmlui/handle/231104/630>
- Penelo, L. (2018). *Maíz: Propiedades, beneficios y valor nutricional*. La Vanguardia. <https://www.lavanguardia.com/comer/20180906/451618009383/maiz-valor-nutricional-propiedades-beneficios.html>
- Pérez, D. (2020). *Catálogo del maíz oriundo del Perú en Saraqolqa Cusco* (Junio 2020).
- Perusia, O. R., & Rodríguez, R. (2001). *Micotoxicosis*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2), 87-116.
- Pino, J. J. (2011). *Caracterización fisicoquímica de la harina de maíz criollo (Zea mays amyloperla) y su aplicación en la elaboración de pan*. Universidad Nacional de San Martín. https://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/2267/TP_IAI_00212_2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rafael, L. (2020). *Norma Técnica NTP 205.039 peruana 1975 (Revisada El 2016): 2016-07-21 1 Edición* | PDF | Valoración | Química. Scribd. <https://es.scribd.com/document/482864087/22855-205-039>

- Ramos, A., Marin, S., & Sanchis, V. (2011). *Micotoxinas. Introducción histórica* (pp. 163-186). Universidad de Lleida.
- Ravelo, A., Rubio, C., Gutierrez, A., & Hardisson, A. (2011). La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: Revisión. *NUTRICION HOSPITALARIA*, 6, 1215-1226. <https://doi.org/10.3305/nh.2011.26.6.5381>
- Requena, B. (2019). *Tabla de frecuencias*. Universo Formulas. <https://www.universoformulas.com/estadistica/descriptiva/tabla-frecuencias/>
- Reyes, V. J. (2006). Determinación de aflatoxinas y ocratoxinas en la maca seca y harina de maca (*Lepidium meyenii* walp). *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/2580>
- Robledo, M. de L., Marín, S., & Ramos, A. (2001). *Contaminación natural con micotoxinas en maíz forrajero y granos de café verde en el Estado de Nayarit (México)*. 4.
- Robles, F. S., Macías, R. G., Sánchez, F. I. E., Ortega, J. C. A., & Zavala, J. G. O. (2018). Caracterización de la cadena de valor del maíz. *Ingenio y Conciencia Boletín Científico de la Escuela Superior Ciudad Sahagún*, 5(9), Article 9. <https://doi.org/10.29057/ess.v5i9.2899>
- Romero, R., Cjuno, O. L., & Mostajo, M. N. (2018). Cuantificación de aflatoxinas totales en harina de maíz que se expende en tres mercados de la ciudad del Cusco-Perú. *Cantua*, 17, 27-35.
- Salcedo, O., Arbaiza, T., Lucas, O., & Ampuero, A. (2001). Determinación de ocratoxinas en maíz utilizado en granjas porcinas de Lima. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.15381/rivep.v12i1.6807>
- Sánchez, J. M. (2021). “*Comportamiento de tres genotipos de maíz de grano duro (Zea mays L.) bajo tres dosis de potasio en La Molina*”. 143. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Senasica. (2015). *Fusarium spp. (Hypocreales: Nectriaceae) Podredumbre de raíces*. SENASICA.
- Soriano, J. M. (2007). *Micotoxinas en alimentos*. Díaz de Santos. <http://site.ebrary.com/id/11126126>
- Soriano, J. M. (2015). *Micotoxinas-Alimentos-pdf*. Yumpu.Com. <https://www.yumpu.com/en/document/read/64817491/micotoxinas-alimentos-pdf>
- Torres, L., & López, L. (2010). Consumo de fumonisinas y daños a la salud humana. *Salud Pública de México*, 52(5). <https://doi.org/10.1590/S0036-36342010000500014>

- Vásquez, V., Piña, P. C., Medina, A., Cabrera, H. A., Seminario, A., Jiménez, L. A., & Seminario, J. F. (2020). Contenido de antocianinas en coronta y brácteas de seis cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) del Perú. *Manglar*. Universidad de Tumbes. file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/203-1171-1-PB.pdf
- Vega, V. (2012). *Hongos Micotoxigénicos y Aflatoxinas en Granos de Maíz de Diferentes Orígenes Geográficos de la República Mexicana*. 79. Tesis para optar el grado de Ingeniero Agrónomo Parasitológico.
- Veneros, R., Cerna, L., & Chico, J. (2017). Interacciones Micotoxinas—Nutrientes Hallazgos relevantes. *Laboratorio de Fitopatología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo*, 6.
- Villela, S., Diaz, B., & Rodas, E. (2018). Presencia de micotoxinas en granos de maíz (*Zea mays* L.) producidos y consumidos por las familias de cuatro municipios de la región de Chórti del departamento de Chiquimula. *PROGRAMA DE CONSORCIOS REGIONALES DE INVESTIGACION AGROPECUARIA*, 99.
- Vukasevic, C. (2020). Micotoxinas: Mitos y realidades. *Actualidad Avipecuaria*. <https://actualidadavipecuaria.com/micotoxinas-mitos-y-realidades/>

ANEXO 1

PUNTOS DE MUESTREO Y TOMA DE MUESTRA EN MERCADOS



a



b



c

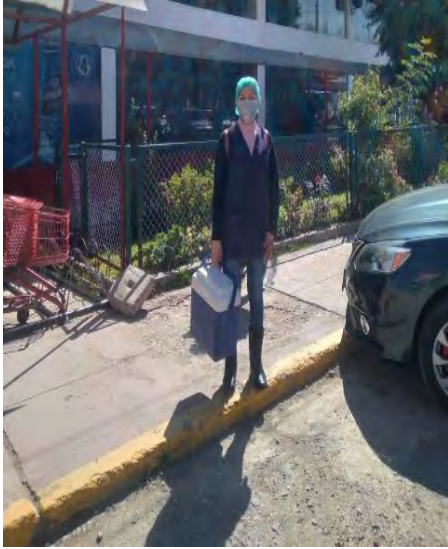


d

Mercados: a) Ccascaparo; b) San Pedro; c) Vinocanchón y d) Wánchaq.

ANEXO 2

PUNTOS DE MUESTREO Y TOMA DE MUESTRA EN SUPERMERCADOS.



a



b



c



d

Almacenamiento y puntos de muestreo de maíz morado.

ANEXO 3

FICHA DE MUESTREO

FICHA DE MUESTREO (INFORMACIÓN DE TOMA DE MUESTRA)

NÚMERO	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	LUGAR DE MUESTREO	NÚMERO DE PUESTO	TEMPERATURA	HUMEDAD	Josy OBSERVACIONES
1	12/01/22	14:22	Supermercado 1	—	14°C	50%	pendón cerca de verduras (cesta)
2	12/01/22	14:25	MERCADO SAN PEDRO	16	14°C	50%	pendón cerca de tomate (saco)
3	12/01/22	14:30	MERCADO SAN PEDRO	12	14°C	50%	pendón cerca de yuca (saco)
4	12/01/22	14:35	MERCADO SAN PEDRO	07	14°C	50%	pendón cerca de maíz hervido (saco)
5	12/01/22	14:40	MERCADO SAN PEDRO	05	14°C	50%	puesto de verdura (saco)
6	12/01/22	14:45	MERCADO SAN PEDRO	03	14°C	50%	puesto de verdura (caja)
7	12/01/22	14:50	MERCADO SAN PEDRO	13	14°C	50%	puesto de verdura (caja)
8	12/01/22	15:05	MERCADO CAJACABARO	02	14°C	50%	maíz sudado sobre una saca
9	12/01/22	15:10	MERCADO CAJACABARO	07	14°C	50%	puesto de verdura (saco)
10	12/01/22	15:15	MERCADO CAJACABARO	12	14°C	50%	puesto de verdura (saco)
11	12/01/22	15:20	MERCADO CAJACABARO	17	14°C	50%	puesto de verdura (saco)
12	12/01/22	15:25	MERCADO CAJACABARO	05	14°C	50%	puesto de granos (saco)
13	12/01/22	15:30	MERCADO CAJACABARO	19	14°C	50%	puesto de verdura (saco)
14	22/01/22	09:00	MERCADO WANCHAG	02	14°C	45%	puesto de verdura (caja)
15	22/01/22	09:10	MERCADO WANCHAG	06	14°C	45%	puesto de verdura (caja)
16	22/01/22	09:20	MERCADO WANCHAG	10	14°C	45%	puesto de granos (saco)
17	22/01/22	09:30	MERCADO WANCHAG	15	14°C	45%	puesto de verduras (caja)
18	22/01/22	09:35	MERCADO WANCHAG	19	14°C	45%	puesto de verduras (saco)
19	22/01/22	09:40	MERCADO WANCHAG	32	20°C	45%	puesto de verduras (saco)
20	22/01/22	10:30	MERCADO TITO	D-1	22°C	40%	puesto de verduras (saco)

FICHA DE MUESTREO (INFORMACION DE TOMA DE MUESTRA)

Josy

NÚMERO	FECHA DE MUESTREO	HORA DE MUESTREO	LUGAR DE MUESTREO	NÚMERO DE PUESTO	TEMPERATURA	HUMEDAD	OBSERVACIONES <i>Josy</i>
21	22/01/22	10:35	MERCADO TTIO	D-24	22°C	40%	puesto de verduras (saco)
22	22/01/22	10:40	MERCADO TTIO	C-24	22°C	40%	puesto de verduras (saco)
23	22/01/22	10:45	MERCADO TTIO	C-5	24°C	40%	puesto de verduras (saco)
24	22/01/22	10:50	MERCADO TTIO	C-1	22°C	40%	puesto de verduras (saco)
25	22/01/22	14:50	Supermercado 1	—	16°C	41%	puesto cerca verduras (caja)
26	02/02/22	15:50	MERCADO VINOCAMBION	38	17°C	42%	puesto de verduras (saco)
27	02/02/22	16:00	MERCADO VINOCAMBION	15	17°C	42%	puesto de verduras (saca)
28	02/02/22	16:10	MERCADO VINOCAMBION	53	17°C	42%	puesto de verduras (saca)
29	02/02/22	16:20	MERCADO VINOCAMBION	65	17°C	42%	puesto de verduras (saco)
30	02/02/22	16:35	MERCADO VINOCAMBION	37	17°C	42%	puesto de verduras (saca)
31	02/02/22	16:40	MERCADO VINOCAMBION	C-4	17°C	42%	puesto de granos (saco)
32	02/02/22	14:30	MERCADO POLINO	14	18°C	34%	puesto de verduras (saco)
33	02/02/22	14:35	MERCADO POLINO	8	18°C	34%	puesto de verduras (saca)
34	02/02/22	14:40	MERCADO POLINO	18	18°C	34%	puesto de verduras (caja)
35	02/02/22	14:45	MERCADO POLINO	27	18°C	34%	puesto de verduras (saco)
36	02/02/22	14:30	MERCADO POLINO	26	18°C	34%	puesto de verduras (saca)
37	02/02/22	11:20	Supermercado 2	—	12°C	36%	expendio cerca tomate
38	02/02/22	07:30	Supermercado 2	—	10°C	32%	expendio verdura (saco)

ANEXO 4

ACONDICIONAMIENTO DE LAS MUESTRAS



a



b



c

Acondicionamiento de muestras a) muestras en laboratorio; b) trituración de muestras y c) muestras molidas y almacenadas.

ANEXO 5

PARÁMETROS FÍSICO – QUÍMICOS

A. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD



a



b



c

Determinación de humedad a) pesado de 10gr de muestra acondicionada; b) llevar al horno a 310° por 5 horas; c) pesado de muestras secas.

B. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ



a



b

Determinación de acidez a) muestra acondicionada 5gr más agua estéril 50ml; b) filtrar la muestra y añadir fenolftaleína.

C. DETERMINACIÓN DEL pH



a



b



c

Determinación de pH a) se pesó 5gr de muestra acondicionada; b) tiras de pH y c) agua y frascos estériles.

ANEXO 6

NUMERACIÓN DE MOHOS EN MAÍZ MORADO

A. PREPARACIÓN DE MEDIO DE CULTIVO Y AGUA PEPTONADA



a



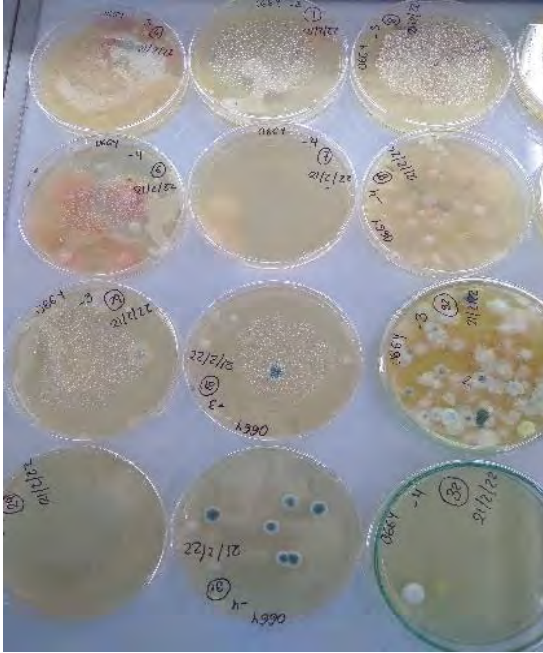
b



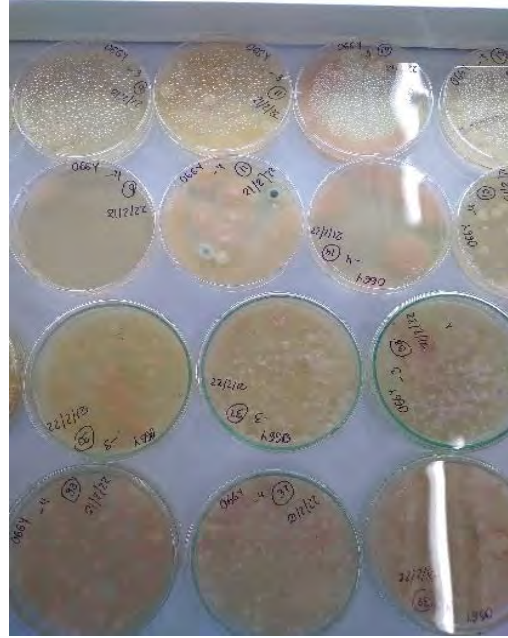
c



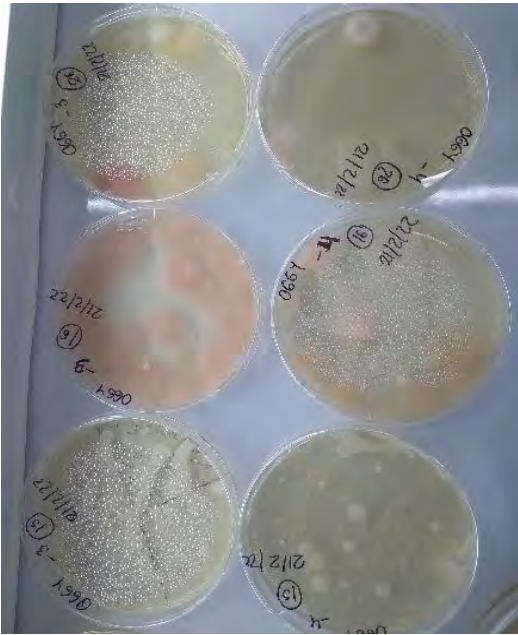
d



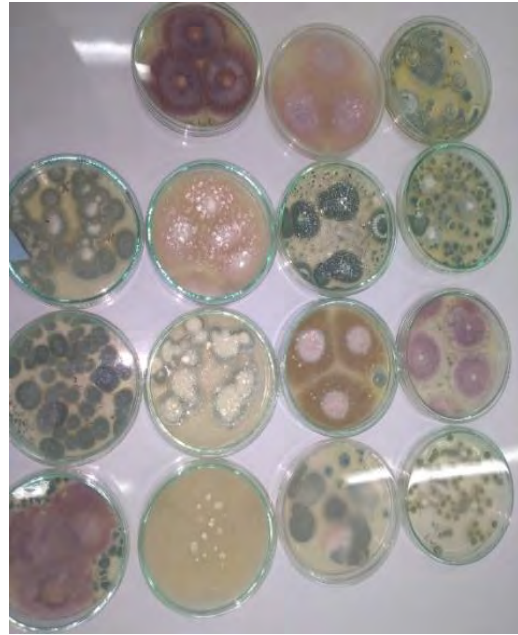
e



f



g

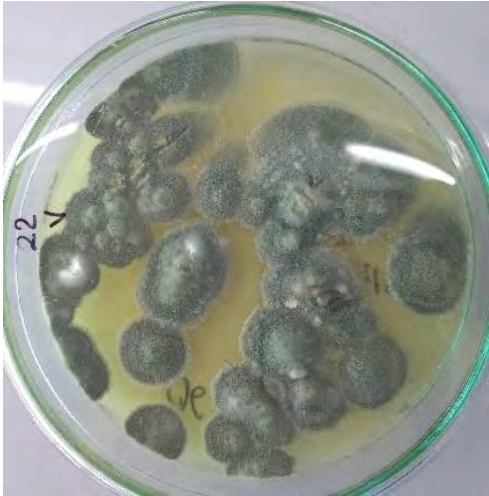


h

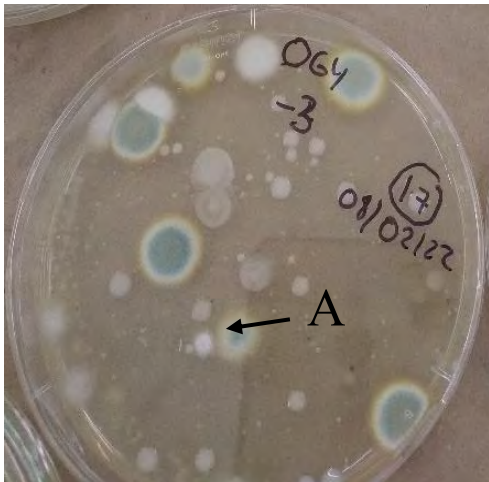
Numeración de mohos a) Preparación de agua peptonada y medio de cultivo OGY+ oxitetraciclina al 0.1%; b) Autoclavado de medios; c) rotulado de placas; d) Realizando las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} sembrado en las placas; e;f;g) crecimiento de mohos; h) crecimiento de los repiques.

ANEXO 7

OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA



Observación macroscópica de colonias de mohos de *Aspergillus*.



Observación macroscópica de colonias de mohos A: *Penicillium*.



Observación macroscópica de colonias de mohos de *Fusarium*.



Observación macroscópica de colonias
de mohos *Rhizopus sp.*



Observación macroscópica de colonias
de mohos *Mucor.*

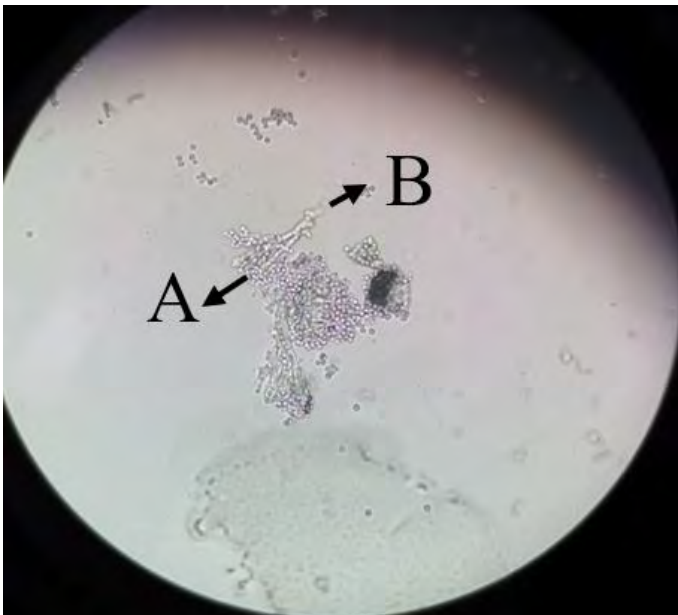
ANEXO 8

OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA



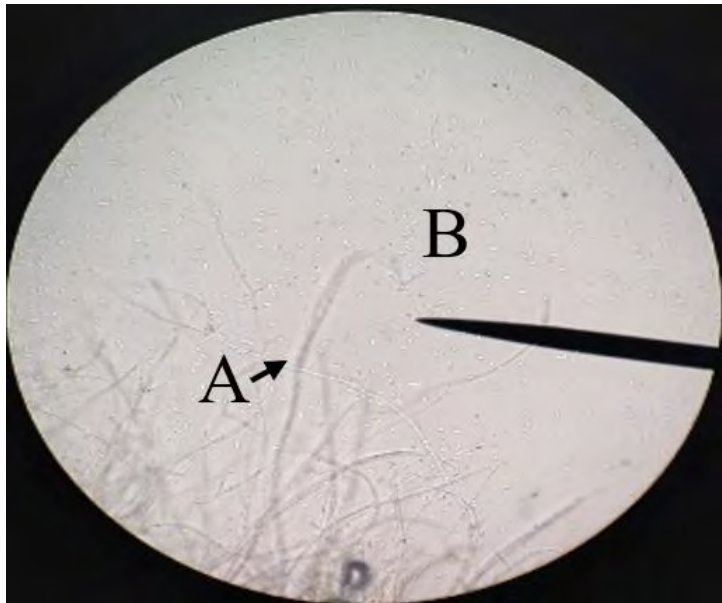
Observación microscópica a 400X de género *Aspergillus sp.*

A: Estipe, B: Vesícula, conidia



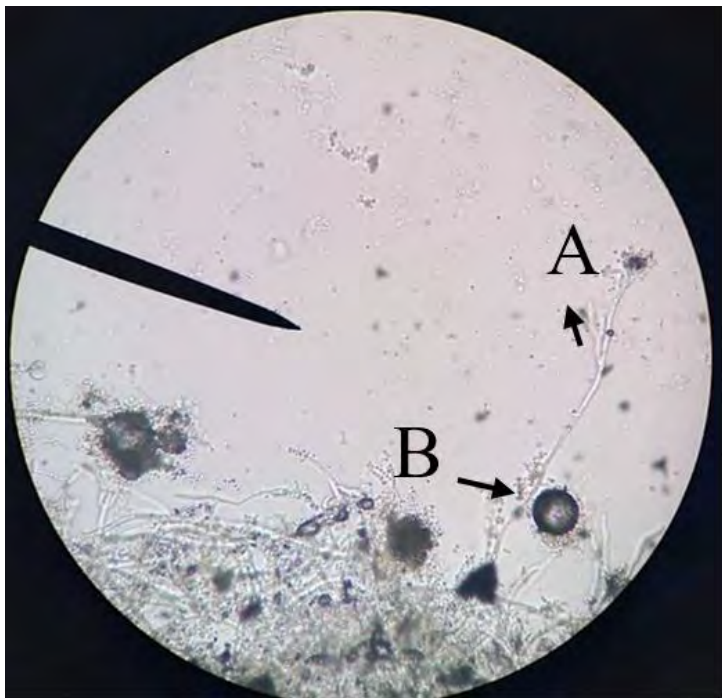
Observación microscópica a 400X de género *Penicillium sp.*

A: conidio B: conidioforo



Observación microscópica a 400X de genero *Fusarium sp.*

A: hifas B: esporas macroconidias con 2 a 3 septos



Observación microscópica a 400X de genero *Rhizopus sp.*

A: esporangio B: esporangióforo.

ANEXO 9

CUANTIFICACIÓN DE OCRATOXINA A Y FUMONISINAS TOTALES

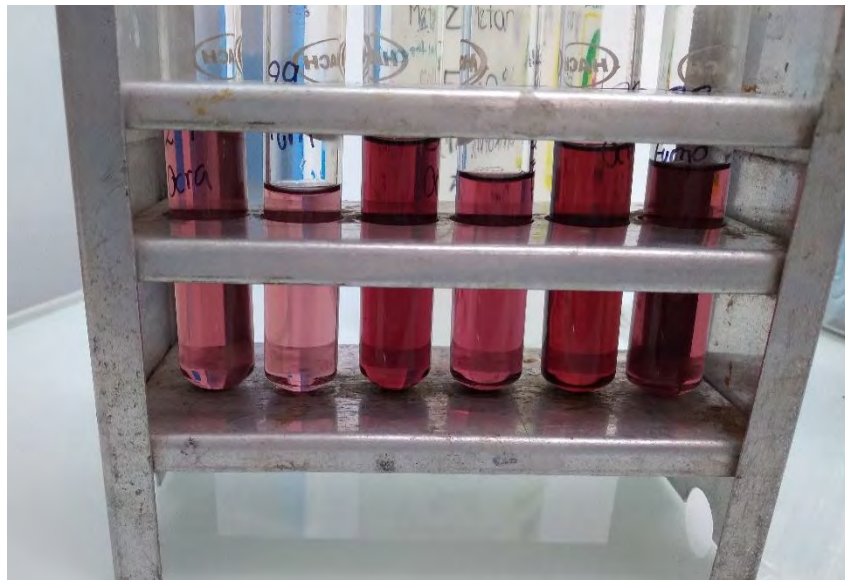
A. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO



a



b



c

Obtención de extracto: a) Peso de la muestra y rotulado; b) Muestra + metanol al 50% para ocratoxina A y 70% para fumonisinas; c) extractos extraídos.

B. USO DE LOS KITS VERATOX DE OCRATOXINA A Y FUMONISINAS



a



b

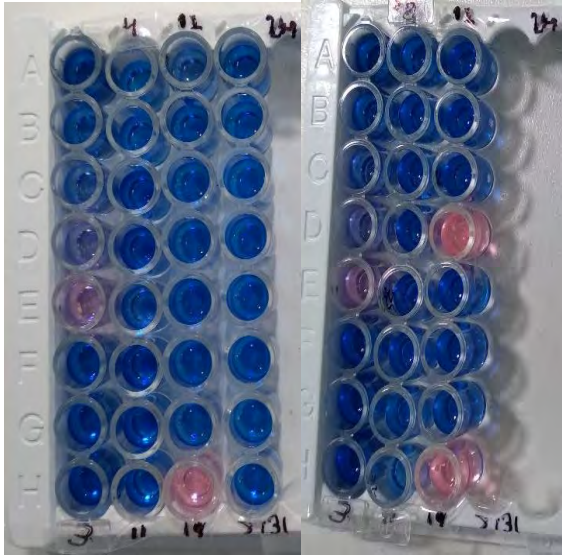


c



d

ELISAS a) kit de ELISA para determinar fumonisinas; b) kit de ELISA para determinar ocratoxinas A; c) materiales usados para ELISA; d) añadiendo el reactivo stop.



a



b

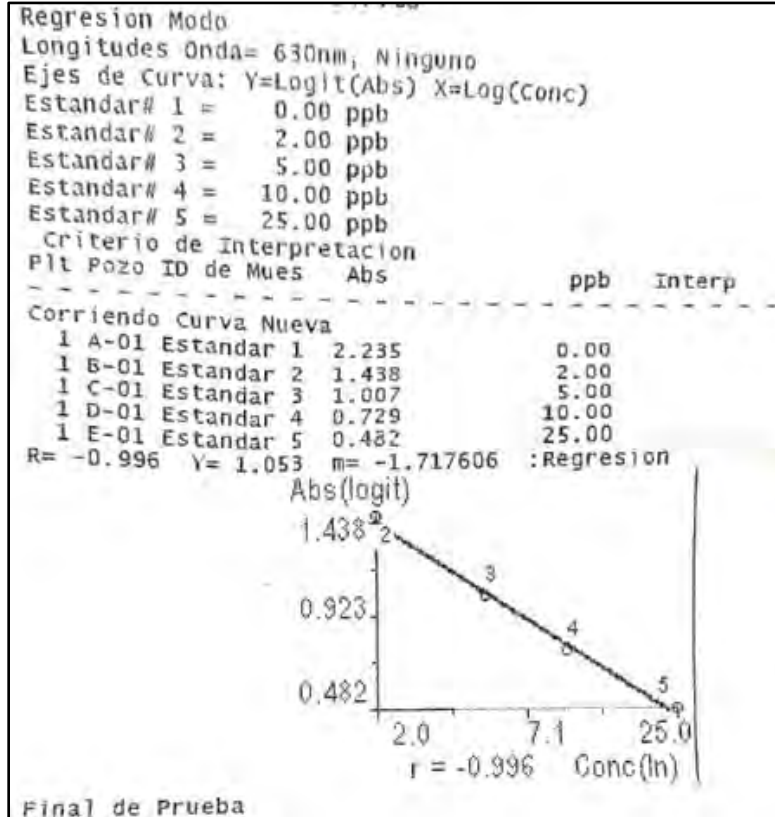
ELISAS a) Coloración respectiva después de colocar del stop, para seguir con la lectura en el equipo ELISA para ocratoxina A; b) Lectura en el equipo Fotómetro de Elisa



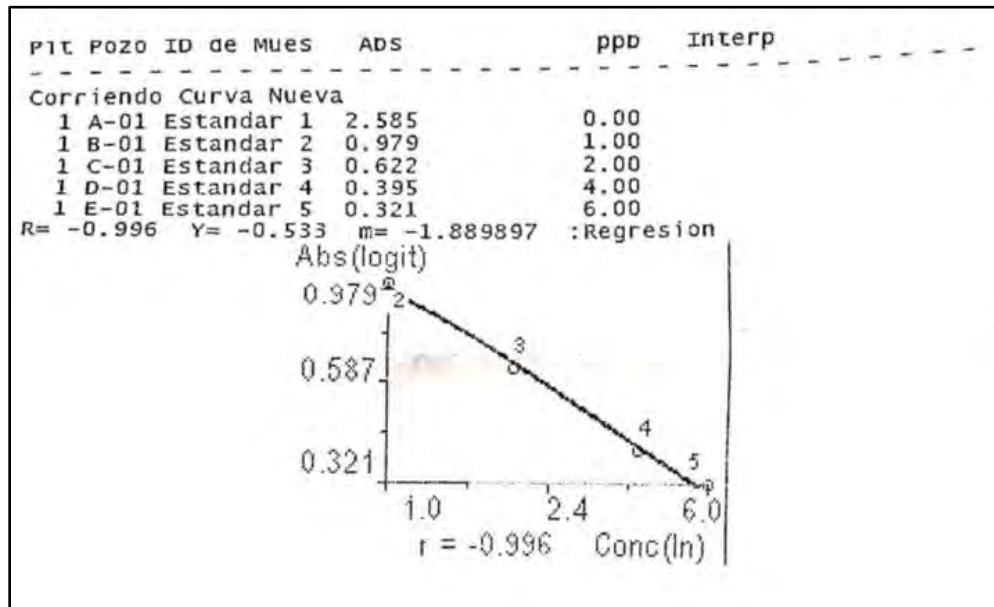
ANEXO 10

CURVAS DE CALIBRACIÓN DE ELISA

A. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA OCRATOXINA A



B. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA FUMONISINAS TOTALES



ANEXO 11

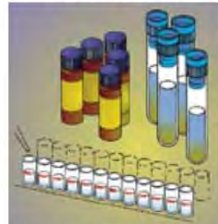
PROCEDIMIENTO DE OCHRATOXINA A

Veratox Procedure for Ochratoxin

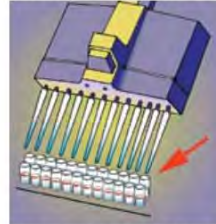
Note: Please read kit instructions completely before performing test.
Questions? Call 800/234-5333 or 517/372-9200.



1. Add 100 μ L conjugate to each red-marked mixing well.



2. Add 100 μ L controls and samples to their respective wells.



3. Mix. Transfer 100 μ L to antibody wells. Incubate for 10 minutes.



4. Dump liquid from antibody wells.



5. Wash 5 times with de-ionized water.



6. Tap out water on paper towel.



7. Transfer 100 μ L substrate from reagent boat to antibody wells using 12-channel pipettor. Incubate for 10 minutes.



8. Transfer 100 μ L Red Stop from reagent boat to antibody wells.



9. Read results using a microwell reader with a 650 nm filter.

Product Specifications

Lower limit of detection:	1 ppb
Range of quantitation:	2 ppb - 25 ppb
Controls provided:	0, 2, 5, 10, 25 ppb
Testing time:	20 minutes
Antibody cross-reactivity:	Ochratoxin A 100%, Ochratoxin B 18%



620 Leshar Place • Lansing, MI 48912
800/234-5333 (USA and Canada only) • 517/372-9200 • fax: 517/372-2006
e-mail: foodsafety@neogen.com • www.neogen.com

©Neogen Corporation 2007. Neogen and Veratox are registered trademarks of Neogen Corporation, Lansing, MI.

V-Ochra-1007

(NEOGEN, 2014)

ANEXO 12

PROCEDIMIENTO DE FUMONISINA

Veratox Procedure for Fumonisin

Note: Samples must be diluted before performing test.

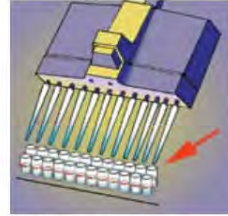
Please read kit instructions completely before beginning. Questions? Call 800/234-5333 or 517/372-9200.



1. Add 100 μ L conjugate to each red marked mixing well.



2. Add 100 μ L controls and diluted samples to their respective wells.



3. Mix. Transfer 100 μ L to antibody wells. Incubate for 10 minutes.



4. Dump liquid from antibody wells and wash wells thoroughly 5 times with deionized water.



5. Tap out water on absorbent paper towel.



6. Transfer 100 μ L substrate from reagent boat to antibody wells using 12-channel pipettor. Incubate for 10 minutes.



7. Transfer 100 μ L Red Stop from reagent boat to antibody wells.



8. Read results using a microwell reader with a 650 nm filter.

Product Specifications

Lower limit of detection:	0.2 ppm
Range of quantitation:	1 ppm - 6 ppm
Controls provided:	0, 1, 2, 4 and 6 ppm
Testing time:	20 minutes
Antibody cross-reactivity:	Total fumonisins (B ₁ , B ₂ , B ₃)



620 Leshar Place • Lansing, MI 48912
800/234-5333 (USA and Canada only) • 517/372-9200 • fax: 517/372-2006
e-mail: foodsafety@neogen.com • www.neogen.com

©Neogen Corporation 2007. Neogen and Veratox are registered trademarks of Neogen Corporation, Lansing, MI.

V-Fumon-1007

(NEOGEN, 2015)

ANEXO 13

REGISTRO MICROBIOLÓGICO

REGISTRO MICROBIOLÓGICO

Jossy

FECHA	HORA	NUMERO DE MUESTRA	DILUSIÓN DE LA PLACA	RESULTADO (N° COLONIAS)	LEVADURAS	OBSERVACIONES
19/01/22	8:45	1	10 ⁻³	16	35	NINGUNA
19/01/22	8:50	1	10 ⁻⁴	4	17	NINGUNA
19/01/22	8:55	2	10 ⁻³	25	169	NINGUNA
19/01/22	9:00	2	10 ⁻⁴	7	61	NINGUNA
19/01/22	9:05	3	10 ⁻³	34	12	NINGUNA
19/01/22	9:10	3	10 ⁻⁴	8	2	NINGUNA
19/01/22	9:15	4	10 ⁻³	10	239	NINGUNA
19/01/22	9:20	4	10 ⁻⁴	27	161	NINGUNA
19/01/22	9:25	5	10 ⁻³	18	—	NINGUNA
19/01/22	9:30	5	10 ⁻⁴	6	—	NINGUNA
19/01/22	9:35	6	10 ⁻³	27	120	NINGUNA
19/01/22	9:40	6	10 ⁻⁴	4	57	NINGUNA
19/01/22	9:45	7	10 ⁻³	13	7	NINGUNA
19/01/22	9:50	7	10 ⁻⁴	9	4	NINGUNA
19/01/22	9:55	8	10 ⁻³	46	181	NINGUNA
19/01/22	10:00	8	10 ⁻⁴	21	90	NINGUNA
19/01/22	10:05	9	10 ⁻³	11	3	NINGUNA
19/01/22	10:10	9	10 ⁻⁴	4	—	NINGUNA
19/01/22	10:15	10	10 ⁻³	23	221	NINGUNA
19/01/22	10:20	10	10 ⁻⁴	7	103	NINGUNA

REGISTRO MICROBIOLÓGICO

3554

FECHA	HORA	NUMERO DE MUESTRA	DILUSION DE LA PLACA	RESULTADO (N° COLONIAS)	LEVADURAS	OBSERVACIONES
19/01/22	10:25	11	10 ⁻³	26	183	NINGUNA
19/01/22	10:30	11	10 ⁻⁴	17	67	NINGUNA
19/01/22	10:35	12	10 ⁻³	11	792	NINGUNA
19/01/22	10:40	12	10 ⁻⁴	4	288	NINGUNA
19/01/22	10:45	13	10 ⁻³	7	284	NINGUNA
19/01/22	10:50	13	10 ⁻⁴	3	100	NINGUNA
29/01/22	8:00	14	10 ⁻³	13	14	NINGUNA
29/01/22	8:05	14	10 ⁻⁴	4	5	NINGUNA
29/01/22	8:10	15	10 ⁻³	8	245	NINGUNA
29/01/22	8:15	15	10 ⁻⁴	3	194	NINGUNA
29/01/22	8:20	16	10 ⁻³	28	34	NINGUNA
29/01/22	8:25	16	10 ⁻⁴	7	19	NINGUNA
29/01/22	8:30	17	10 ⁻³	35	38	NINGUNA
29/01/22	8:35	17	10 ⁻⁴	8	3	NINGUNA
29/01/22	8:40	18	10 ⁻³	21	14	NINGUNA
29/01/22	8:45	18	10 ⁻⁴	7	9	NINGUNA
29/01/22	8:50	19	10 ⁻³	12	—	NINGUNA
29/01/22	8:55	19	10 ⁻⁴	61	—	NINGUNA
29/01/22	9:00	20	10 ⁻³	47	26	NINGUNA
29/01/22	9:05	20	10 ⁻⁴	21	12	NINGUNA

REGISTRO MICROBIOLÓGICO

2022

FECHA	HORA	NUMERO DE MUESTRA	DILUSION DE LA PLACA	RESULTADO (N° COLONIAS)	LEVADURAS	OBSERVACIONES
29/01/22	9:10	21	10 ⁻³	47	516	NINGUNA
29/01/22	9:15	21	10 ⁻⁴	8	336	NINGUNA
29/01/22	9:20	22	10 ⁻³	8	125	NINGUNA
29/01/22	9:25	22	10 ⁻⁴	2	64	NINGUNA
29/01/22	9:30	23	10 ⁻³	58	—	NINGUNA
29/01/22	9:35	23	10 ⁻⁴	24	—	NINGUNA
29/01/22	9:40	24	10 ⁻³	14	468	NINGUNA
29/01/22	9:45	24	10 ⁻⁴	8	280	NINGUNA
29/01/22	9:50	25	10 ⁻³	50	89	NINGUNA
29/01/22	9:55	25	10 ⁻⁴	29	67	NINGUNA
09/02/22	8:30	26	10 ⁻³	5	12	NINGUNA
09/02/22	8:35	26	10 ⁻⁴	2	2	NINGUNA
09/02/22	8:40	27	10 ⁻³	35	80	NINGUNA
09/02/22	8:45	27	10 ⁻⁴	9	56	NINGUNA
09/02/22	8:50	28	10 ⁻³	28	276	NINGUNA
09/02/22	8:55	28	10 ⁻⁴	6	114	NINGUNA
09/02/22	9:00	29	10 ⁻³	5	9	NINGUNA
09/02/22	9:05	29	10 ⁻⁴	—	4	NINGUNA
09/02/22	9:00	30	10 ⁻³	11	132	NINGUNA
09/02/22	9:15	30	10 ⁻⁴	7	81	NINGUNA

REGISTRO MICROBIOLÓGICO

FECHA	HORA	NUMERO DE MUESTRA	DILUSION DE LA PLACA	RESULTADO (N° COLONIAS)	LEVADURAS	OBSERVACIONES
09/02/22	9:20	31	10^{-3}	39	—	NINGUNA
09/02/22	9:25	31	10^{-4}	18	—	NINGUNA
09/02/22	9:30	32	10^{-3}	27	—	NINGUNA
09/02/22	9:35	32	10^{-4}	3	—	NINGUNA
09/02/22	9:40	33	10^{-3}	76	112	NINGUNA
09/02/22	9:45	33	10^{-4}	42	62	NINGUNA
09/02/22	9:50	34	10^{-3}	10	86	NINGUNA
09/02/22	9:55	34	10^{-4}	4	45	NINGUNA
09/02/22	10:00	35	10^{-3}	6	250	NINGUNA
09/02/22	10:05	35	10^{-4}	3	113	NINGUNA
09/02/22	10:10	36	10^{-3}	8	173	NINGUNA
09/02/22	10:15	36	10^{-4}	2	70	NINGUNA
09/02/22	10:20	37	10^{-3}	72	124	NINGUNA
09/02/22	10:25	37	10^{-4}	93	72	NINGUNA
09/02/22	10:30	38	10^{-3}	14	408	NINGUNA
09/02/22	10:35	38	10^{-4}	9	173	NINGUNA

ANEXO 14

RESULTADO DE OCRATOXINA A



ABEL

ABEL

Assay Group: Ochratoxin

Description:

Kit Lot#: 306793

User:

Date: 28/04/2022 02:50:30 p.m.

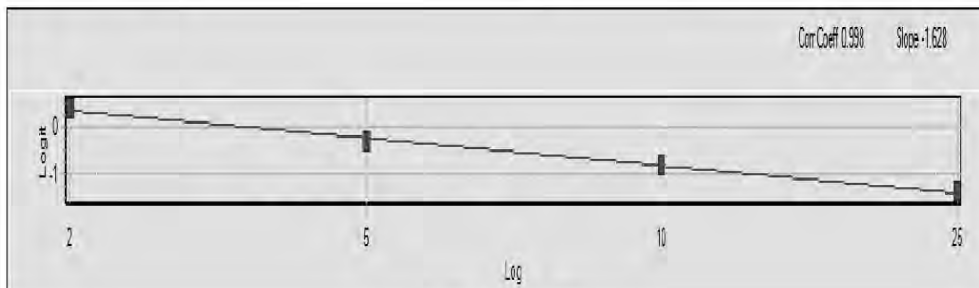
Method: Direct Competitive

Slope: -1.628

Corr Coeff:0.998

Units: ppb

Sample	Description:	Optical Density	Preliminary Result	Dilution Factor	Final Result
1	0 ppb	2.398	0.00		
2	2 ppb	1.439	1.89		
3	5 ppb	1.010	5.25		
4	10 ppb	0.730	10.78		
5	25 ppb	0.484	23.41		
6	Sample 1	1.968	0.39	1.0	0.39
7	Sample 2	1.918	0.47	1.0	0.47
8	Sample 3	2.181	0.13	1.0	0.13
9	Sample 4	1.464	1.77	1.0	1.77
10	Sample 5	1.582	1.31	1.0	1.31
11	Sample 6	2.058	0.26	1.0	0.26
12	Sample 7	1.916	0.48	1.0	0.48
13	Sample 8	1.261	2.89	1.0	2.89
14	Sample 9	1.902	0.50	1.0	0.50



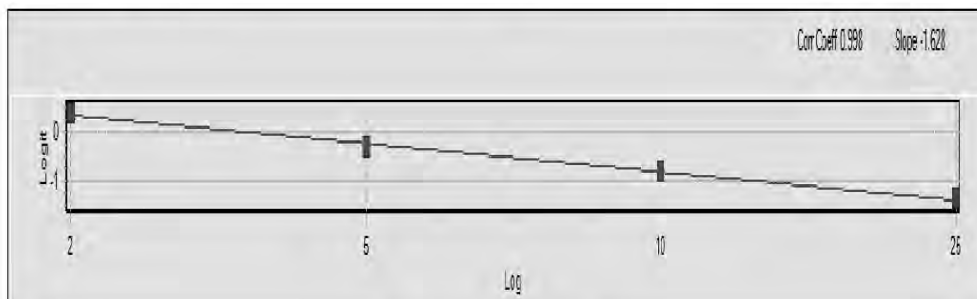
Powered by Neogen



ABEL

ABEL

15	Sample 10	1.745	0.83	1.0	0.83
16	Sample 11	1.607	1.23	1.0	1.23
17	Sample 12	1.024	5.08	1.0	5.08
18	Sample 13	1.789	0.73	1.0	0.73
19	Sample 14	1.666	1.05	1.0	1.05
20	Sample 15	1.636	1.14	1.0	1.14
21	Sample 16	1.888	0.53	1.0	0.53
22	Sample 17	1.722	0.89	1.0	0.89
23	Sample 18	1.523	1.53	1.0	1.53
24	Sample 19	0.245	72.44	1.0	72.44
25	Sample 20	1.470	1.75	1.0	1.75
26	Sample 21	1.665	1.05	1.0	1.05
27	Sample 22	1.778	0.75	1.0	0.75
28	Sample 23	1.614	1.21	1.0	1.21
29	Sample 24	1.893	0.52	1.0	0.52
30	Sample 25	1.872	0.56	1.0	0.56
31	Sample 26	1.820	0.66	1.0	0.66
32	Sample 27	2.006	0.33	1.0	0.33
33	Sample 28	1.835	0.63	1.0	0.63
34	Sample 29	2.036	0.29	1.0	0.29
35	Sample 30	1.738	0.85	1.0	0.85
36	Sample 31	2.007	0.33	1.0	0.33
37	Sample 32	1.551	1.42	1.0	1.42
38	Sample 33	1.674	1.02	1.0	1.02
39	Sample 34	1.475	1.73	1.0	1.73
40	Sample 35	0.971	5.77	1.0	5.77

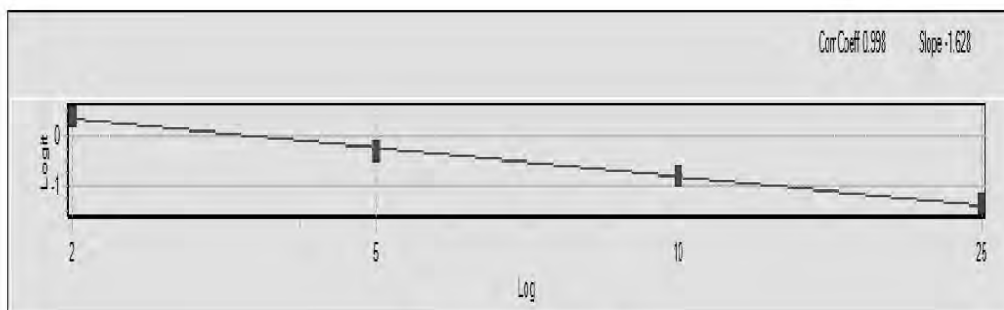


Powered by Neogen



ABEL
ABEL

41	Sample 36	1.797	0.71	1.0	0.71
42	Sample 37	1.722	0.89	1.0	0.89
43	Sample 38	1.419	1.98	1.0	1.98



Powered by Neogen

ANEXO 15

RESULTADOS DE FUMONISINAS TOTALES



ABEL

ABEL

Assay Group: Fumonisin 5/10

Description:

Kit Lot#: 307188

User:

Date: 28/04/2022 03:15:54 p.m.

Method: Direct Competitive

Slope: -1.331

Corr Coeff:0.982

Units: ppm

Sample	Description:	Optical Density	Preliminary Result	Dilution Factor	Final Result
1	0 ppm	2.618	0.00		
2	.5 ppm	0.978	0.41		
3	1 ppm	0.618	1.27		
4	3 ppm	0.392	3.36		
5	6 ppm	0.316	5.17		
6	Sample 1	0.283	6.41	1.0	6.41
7	Sample 2	0.310	5.37	1.0	5.37
8	Sample 3	0.345	4.35	1.0	4.35
9	Sample 4	0.246	8.40	1.0	8.40
10	Sample 5	0.314	5.24	1.0	5.24
11	Sample 6	2.045	0.02	1.0	0.02
12	Sample 7	0.303	5.62	1.0	5.62
13	Sample 8	0.361	3.97	1.0	3.97
14	Sample 9	0.486	2.15	1.0	2.15



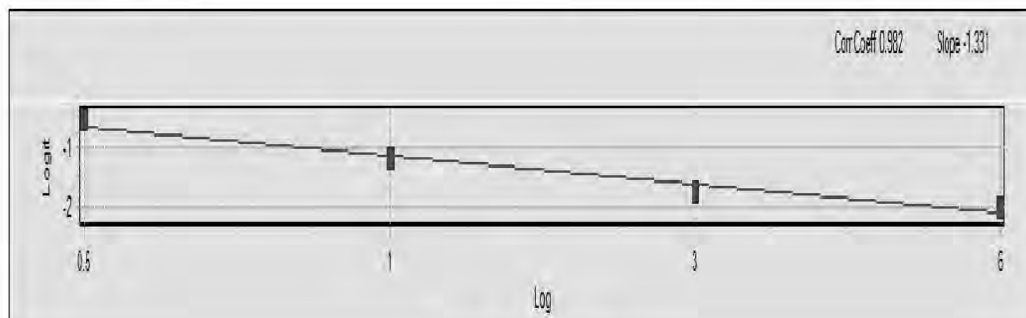
Powered by Neogen



ABEL

ABEL

15	Sample 10	0.300	5.73	1.0	5.73
16	Sample 11	0.356	4.08	1.0	4.08
17	Sample 12	0.255	7.84	1.0	7.84
18	Sample 13	0.347	4.30	1.0	4.30
19	Sample 14	0.259	7.61	1.0	7.61
20	Sample 15	1.923	0.03	1.0	0.03
21	Sample 16	0.560	1.58	1.0	1.58
22	Sample 17	1.915	0.03	1.0	0.03
23	Sample 18	1.332	0.16	1.0	0.16
24	Sample 19	0.682	1.01	1.0	1.01
25	Sample 20	0.278	6.64	1.0	6.64
26	Sample 21	0.189	13.80	1.0	13.80
27	Sample 22	1.711	0.06	1.0	0.06
28	Sample 23	0.595	1.38	1.0	1.38
29	Sample 24	0.260	7.55	1.0	7.55
30	Sample 25	0.318	5.11	1.0	5.11
31	Sample 26	1.688	0.06	1.0	0.06
32	Sample 27	0.312	5.30	1.0	5.30
33	Sample 28	0.328	4.80	1.0	4.80
34	Sample 29	1.657	0.07	1.0	0.07
35	Sample 30	0.291	6.08	1.0	6.08
36	Sample 31	1.674	0.06	1.0	0.06
37	Sample 32	1.287	0.18	1.0	0.18
38	Sample 33	0.873	0.55	1.0	0.55
39	Sample 34	0.380	3.58	1.0	3.58
40	Sample 35	0.714	0.91	1.0	0.91



Powered by Neogen



ABEL

ABEL

41	Sample 36	1.266	0.19	1.0	0.19
42	Sample 37	0.246	8.40	1.0	8.40
43	Sample 38	0.289	6.16	1.0	6.16



Powered by Neogen

ANEXO 16

NORMA DE CODEX ALIMENTARIUS PARA HUMEDAD

CODEX ALIMENTARIUS

NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

NORMA PARA EL MAÍZ

CXS 153-1985

Adoptada en 1985. Revisada en 1995. Enmendada en 2019.

(FAO & WHO, 2019)

1. ÁMBITO DE APLICACIÓN

La presente Norma se aplica al maíz para el consumo humano, es decir, listo para ser utilizado como alimento humano, presentado en forma envasada o vendido suelto directamente del envase al consumidor. En esta Norma se especifican los requisitos para el maíz en grano entero desgranado de tipo dentado, *Zea mays indentata* L., y/o el maíz desgranado de grano duro, *Zea mays indurata* L., o para sus híbridos. No se aplica al maíz elaborado.

2. DESCRIPCIÓN

2.1 Definición del producto

Por maíz se entienden los granos desgranados de las especies definidas en el ámbito de aplicación.

3. COMPOSICIÓN ESENCIAL Y FACTORES DE CALIDAD

3.1 Factores de calidad – generales

3.1.1 El maíz deberá ser inocuo y apropiado para el consumo humano.

3.1.2 El maíz deberá estar exento de sabores y olores extraños y de insectos vivos.

3.1.3 El maíz deberá estar exento de suciedad en cantidades que puedan representar un peligro para la salud humana.

3.2 Factores de calidad – específicos

3.2.1 Contenido de humedad 15,5 % m/m máximo

Para determinados destinos, por razones de clima, duración del transporte y almacenamiento, deberían requerirse límites de humedad más bajos.

3.2.2 *Materias extrañas* son los componentes orgánicos e inorgánicos que no sean maíz; granos rotos, otros granos y suciedad.

3.2.2.1 *Suciedad* son las impurezas de origen animal (incluidos insectos muertos) 0,1 % m/m máximo

3.2.2.2 *Semillas tóxicas o nocivas*

Los productos regulados por las disposiciones de esta Norma estarán exentos de las siguientes semillas tóxicas o nocivas, en cantidades que puedan representar un peligro para la salud humana.

- La crotalaria (*Crotalaria* spp.), la neguilla (*Agrostemma githago* L.), el ricino (*Ricinus communis* L.), el estramonio (*Datura* spp.) y otras semillas, son comúnmente reconocidas como nocivas para la salud.

3.2.2.3 *Otras materias orgánicas extrañas* que se definen como componentes orgánicos que no sean granos de cereales comestibles (semillas extrañas, tallos, etc.) (1,5 % m/m máx.).

3.2.2.4 *Materias inorgánicas extrañas* que se definen como componentes inorgánicos (piedras, polvo, etc.) (0,5 % m/m máx.).

4. CONTAMINANTES

4.1 Metales pesados

El maíz deberá estar exento de metales pesados en cantidades que puedan representar un peligro para la salud humana.

4.2 Residuos de plaguicidas

El maíz deberá ajustarse a los límites máximos para residuos establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius para este producto.

4.3 Micotoxinas

El maíz deberá ajustarse a los límites máximos para micotoxinas establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius para este producto.

5. HIGIENE

5.1 Se recomienda que el producto regulado por las disposiciones de esta Norma se prepare y manipule de conformidad con las secciones apropiadas de los *Principios generales de higiene de los alimentos* (CXC 1-1989) y otros códigos de prácticas recomendados por la Comisión del Codex Alimentarius que sean pertinentes para este producto.

METODOS DE ANALISIS Y DE MUESTREO RECOMENDADOS

CODEX STAN 234-1999

PRIMERA PARTE

**METODOS DE ANALISIS Y DE MUESTREO EN ORDEN ALFABETICO DE LAS
CATEGORIAS Y DE LOS NOMBRES DE LOS PRODUCTOS**

<i>Disposición</i>	<i>Norma del Producto</i>	<i>Método</i>	<i>Principio</i>	<i>Tipo</i>
Humedad	Harina de mijo perla	ISO 712:1998 Método ICC N° 1101 (1986)	Gravimetría	1
Humedad	Harina de sorgo	ISO 712:1985 Método ICC N° 1101 (1986)	Gravimetría	1
Humedad	Harina de trigo	ISO 712:1998 Método ICC N° 1101 (1986)	Gravimetría	1
Humedad	Harina de yuca comestible	ISO 712:1998	Gravimetría	1
Humedad	Harina integral de maíz	ISO 712:1998 Método ICC N° 1101 (1986)	Gravimetría	1
Humedad	Harina y sémola de maíz sin germen	ISO 712:1998 Método ICC N° 1101 (1986)	Gravimetría	1
Humedad	Harina y sémola de trigo duro	ISO 712:1998 Método ICC N° 1101 (1986)	Gravimetría	1
Humedad	Maíz	ISO 6540:1980 (confirmado 1994)	Gravimetría	1
Humedad	Miel	AOAC 969.38B <i>J. Assoc. Public Analysts</i> (1992) 28 (4) 183-187 <i>MAFF Validated Method V21 for Moisture in Honey</i>	Refractometría	1
Humedad	Mijo perla en granos enteros y descortados	ISO 712:1998 Método ICC N° 1101 (1986)	Gravimetría	1
Humedad	Patatas (papas) fritas congeladas rápidamente	AOAC 984.25	Gravimetría (horno de convección)	1
Humedad	Pistachos con cáscara	AOAC 925.40	Gravimetría (pérdida por desecación)	1
Humedad	Productos a base de caseína alimentaria	Norma FIL 78C:1990 ISO 5550:1978	Gravimetría (secado a 102°C)	1
Humedad	Productos proteínicos de soja	AOAC 925.09	Gravimetría (horno de vacío)	1

ANEXO 17

NORMA TÉCNICA PERUANA PARA ACIDEZ

**NORMA TÉCNICA
PERUANA**

**NTP 205.039
1975 (revisada el 2016)**

Dirección de Normalización - INACAL
Calle Las Camelias 815, San Isidro (Lima 27)

Lima, Perú

HARINAS. Determinación de la acidez titulable

FLOURS. Determination of titratable acidity

2016-07-21
1ª Edición

R.D. N° 017-2016-INACAL/DN. Publicada el 2016-07-27

I.C.S.: 67.060

Descriptores: Harina, acidez titulable, acidez

Precio basado en 04 páginas

ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

© INACAL 2016

(Rafael, 2020)

HARINAS. Determinación de la acidez titulable

1 OBJETO

1.1 La presente Norma Técnica Peruana establece el método de ensayo para determinar la acidez titulable de la Harina a emplearse en la elaboración de productos alimenticios.

1.2 La presente Norma Técnica Peruana es aplicable a las harinas de cereales, leguminosas de grano, tubérculos y raíces, alimenticios.

2 PRINCIPIO DEL MÉTODO

Se basa en la neutralización de la acidez de la muestra, mediante titulación con una solución de hidróxido de sodio.

3 APARATOS

3.1 Balanza analítica con sensibilidad de 0,1 mg .

3.2 Frascos Erlenmeyer de 300 mL y 125 mL .

3.3 Bureta calibrada, graduada al décimo de mililitro.

3.4 Pipeta volumétrica de 50 mL de capacidad.

3.5 Embudo de vidrio.

3.6 Papel de filtro de porosidad media, como el Schleiter and Shull 389¹, cinta negra.

4 REACTIVOS

4.1 Solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

4.2 Solución indicadora, que se prepara disolviendo 1 g de fenolftaleína en 50 mL de alcohol etílico al 95 % y llevando el volumen a 100 mL con agua destilada.

4.3 Agua destilada.

5 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA Y ESPECIMEN

Se pesan 10,000 g (diez gramos) de harina de la muestra.

6 PROCEDIMIENTO

6.1 En un frasco Erlenmeyer de 300 mL de capacidad se deslién los 10,000 g de harina en 100 mL de agua destilada.

6.2 Se agita la suspensión contenida en el frasco cada 10 minutos, por espacio de 1 hora.

6.3 Se filtra la suspensión hasta obtener un volumen de filtrado que sobrepase los 50 mL .

¹ Es un ejemplo de producto adecuado disponible comercialmente. Esta información se facilita para comodidad de los usuarios de esta NTP y no representa una garantía del Organismo Peruano de Normalización para este producto. Se pueden utilizar productos equivalentes si se puede demostrar que ofrecen los mismos resultados.

6.4 Se toman 50 ml de filtrado y se colocan en un frasco Erlenmeyer de 125 mL de capacidad.

6.5 Se agrega 1 mL de solución indicadora de fenolftaleína.

6.6 Se titula con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta que se produzca el cambio de coloración. El color rosella deberá persistir por espacio de 30 segundos.

6.7 Se anota el gasto de solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

7 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

7.1 La acidez se expresa en porcentaje, referida a ácido sulfúrico y calculada en base a 15 % de humedad.

7.2 El porcentaje de acidez se obtiene aplicando la fórmula siguiente:

$$\% = \frac{V \times 0,1 \times 49 \times 10^{-3} \times 100 \times 100}{10 \times 50} \times \frac{100 - 15}{100 - H}$$

$$\% = V \times 0,098 \times \frac{85}{100 - H}$$

donde:

V = Gasto de la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

H = Humedad de la muestra (%).

ANEXO 18

NORMA TÉCNICA PERUANA PARA pH

NORMA TÉCNICA
PERUANA

NTP 209.064
1974 (revisada el 2013)

Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales no Arancelarias-INDECOPI
Calle de La Prosa 104, San Borja (Lima 41) Apartado 145 Lima-Perú

ALMIDÓN DE MAÍZ NO MODIFICADO. Uso
alimenticio y farmacéutico

NON MODIFIED MAIZE STARCH. Feeding and pharmaceutical use

2013-08-07
1ª Edición

R. 0053-2013/CNB-INDECOPI. Publicada el 2013-08-24

Precio basado en 05 páginas

I.C.S.: 67.190.20

ESTA NORMA ES RECOMENDABLE

Descriptor: Almidón de maíz, almidón, maíz no modificado, maíz, alimento, farmacéutico

© INDECOPI 2013

(Espinoza, 2019)

	<u>LÍMITE</u>
a) Pureza de almidón de maíz no modificado, mínimo	99,00 %
b) Humedad	10,5 % - 12,5 %
c) Anhídrido Sulfuroso (SO ₂), máximo	50 ppm
d) pH	4,5 - 6,5
e) Material no amiláceo (N. A. M.)	B o mejor
f) Viscosidad Scott, mínimo	7 segundos
g) Proteína, máximo	0,45 %
h) Color	C o mejor
i) Solubles, máximo	0,25 %
j) Cenizas, máximo	0,50 %
k) Grasa, máximo	0,10 %
l) Tamaño de partículas:	
Pasa a través de malla 177 μ (N° 80) mínimo	99,9 %
Pasa a través de malla 149 μ (N° 100) mínimo	97,0 %

4. EXTRACCIÓN DE MUESTRAS Y RECEPCIÓN

4.1 Las muestras se extraerán de acuerdo a lo establecido en la NTP 205.027.

ANEXO 19

CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS

MINISTERIO DE SALUD

No. 591-2008/MINSA



Resolución Ministerial

Lima, 27 de AGOSTO del 2008

Visto: el Expediente N° 07-051670-002, que contiene el Oficio N° 5868-2008/DG/DIGESA, cursado por la Dirección General de Salud Ambiental;

CONSIDERANDO:


M. Arce R.

Que, el artículo 92° de la Ley N° 26842, Ley General de Salud establece que la Autoridad de Salud de nivel nacional es la encargada entre otros, del control sanitario de los alimentos y bebidas;


J. HERNÁNDEZ C.

Que, el literal a) del artículo 25° de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud, señala que la Dirección General de Salud Ambiental-DIGESA es el órgano técnico-normativo en los aspectos relacionados al saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y protección del ambiente;


S. Reyes N.

Que, el literal c) del artículo 49° del Reglamento de Organización y Funciones del Ministerio de Salud, aprobado por Decreto Supremo N° 023-2005-SA, establece como función general de la Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis de la DIGESA, concertar y articular los aspectos técnicos y normativos en materia de inocuidad de los alimentos, bebidas y de prevención de la zoonosis;

Que, mediante Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM, se aprobaron los "Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano", en el cual se señalan los criterios microbiológicos que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados aptos para el consumo humano, estableciendo que la verificación de su cumplimiento estará a cargo de los organismos competentes en vigilancia sanitaria de alimentos y bebidas a nivel nacional;

Que, por Resolución Ministerial N° 709-2007/MINSA, se dispuso que la Oficina General de Comunicaciones efectúe la publicación en el portal de Internet del Ministerio de Salud, hasta por un período de treinta (30) días calendario, del proyecto de la NTS N° -MINSA/DIGESA - V.01 "Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para

(MINSA & DIGESA, 2008)

NTS N° 071 - Minsa/DIGESA-V.01
NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD
PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO

(*) De acuerdo con Métodos Normalizados ó métodos descritos por organizaciones con credibilidad internacional tales como la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC), ó Asociación Americana de Salud Pública (APHA) sobre Prueba de Esterilidad Comercial, considerando las temperaturas, tiempos de incubación e indicadores microbiológicos del mencionado método, los cuales deben especificarse en el Informe de Ensayo.

Nota 1: La prueba de esterilidad comercial se realiza en envases que no presenten ningún defecto visual. Si luego de la incubación el producto presenta alguna alteración en el olor, color, apariencia, pH, el producto se considerará "No estéril Comercialmente".

Nota 2: Si tras la inspección sanitaria resulta necesario tomar muestras de unidades defectuosas para determinar las causas, se procederá con el Método de análisis microbiológico para determinar las causas microbiológicas del deterioro según métodos establecidos en el Codex Alimentarius, Manual de Bacteriología Analítica BAM de la Administración de Alimentos y Drogas FDA ó Asociación Americana de Salud Pública APHA.

7. RESPONSABILIDADES

A nivel nacional la autoridad sanitaria responsable de vigilar el cumplimiento de la presente norma es el Ministerio de Salud a través de la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) y por delegación, las Direcciones de Salud (DISAS); a nivel regional, las Direcciones Regionales de Salud (DIRESA) y a nivel local las Municipalidades.

8. DISPOSICIONES FINALES

Primera: Queda derogada la norma sobre "Criterios Microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano", aprobado por Resolución Ministerial N° 615-2003-SA/DM, toda vez que la presente Norma Sanitaria la actualiza y la reemplaza.

Segunda: La Autoridad Sanitaria del nivel nacional, regional y local supervisará el cumplimiento de la aplicación de la presente norma sanitaria en resguardo de la salud de la población.

Tercera: La Autoridad Sanitaria podrá realizar y solicitar muestreos y análisis adicionales con el fin de detectar y/o cuantificar otros microorganismos, sus toxinas o metabolitos, a efectos de verificar procesos, de evaluar riesgos, con fines epidemiológicos ante brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), de alertas sanitarias, de rastreabilidad, por denuncias y operativos, entre otras, necesarias para el resguardo de la salud de la población.

En caso ETA, especialmente en la investigación de la etiología de toxi-infecciones, la autoridad sanitaria en inocuidad de alimentos debe procurar obtener todos los restos de alimentos sospechosos y los análisis microbiológicos a realizar deben estar de acuerdo a los antecedentes clínicos y epidemiológicos del brote.



HERNANDEZ C



C. Reyes J.

NTS N° 071 - MINSA/DIGESA-V.01
**NORMA SANITARIA QUE ESTABLECE LOS CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD SANITARIA E INOCUIDAD
 PARA LOS ALIMENTOS Y BEBIDAS DE CONSUMO HUMANO**

Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10	10 ²
<i>Bacillus cereus</i> (*)	8	3	5	1	10 ²	10 ³
<i>Salmonella sp.</i> (**)	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

(*) Sólo para productos que contengan leche o cereales.

(**) Sólo para productos que contengan leche, cacao y/o huevo.

IV.5 Caldos concentrados en pasta (que requieren cocción).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobios mesófilos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁵
Coliformes	4	3	5	3	10	10 ²
<i>Clostridium perfringens</i>	7	3	5	2	10 ²	10 ³
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

V. GRANOS DE CEREALES, LEGUMINOSAS, QUENOPODIÁCEAS Y DERIVADOS (harinas y otros).

V.1 Granos secos.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵

V.2 Harinas y sémolas.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ⁴	10 ⁵
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Bacillus cereus</i> (*)	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

(*) Sólo para harinas de arroz y/o maíz.

V.3 Féculas y almidones.

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Bacillus cereus</i>	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

V.4. Pastas y masas frescas y/o precocidas sin relleno refrigeradas o congeladas (panes, precocidos, masas para wantan, para lasaña, para fideos chinos, pre pizzas, masas crudas, otros).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	3	5	1	10 ²	10 ³
<i>Bacillus cereus</i> (*)	7	3	5	2	10 ³	10 ⁴
<i>Salmonella sp.</i>	10	2	5	0	Ausencia /25 g	---

(*) Sólo para productos que contengan arroz y/o maíz.

V.5. Pastas y masas frescas y/o precocidas con relleno refrigeradas o congeladas (wantan, lasaña, ravioles, canelones, pizzas, minpao, otros).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Mohos	2	3	5	2	10 ³	10 ⁴



J. HERNANDEZ C.



C. Reyes J.

ANEXO 20

NORMA DEL CODEX ALIMENTARIUS

CODEX ALIMENTARIUS

NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

**NORMA GENERAL PARA LOS CONTAMINANTES Y LAS TOXINAS
PRESENTES EN LOS ALIMENTOS Y PIENSOS**

CXS 193-1995

Adoptada en 1995

Revisada en 1997, 2006, 2008, 2009

Enmendada en 2010, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019.

CXS 193-1995

OCRATOXINA A

Referencia al JECFA: 37 (1990), 44 (1995), 56 (2001), 68 (2007)

Orientación toxicológica: ISTEP 0,0001 mg/kg pc (2001)

Definición del contaminante: Ocratoxina A

Sinónimos: (El término "ocratoxinas" incluye una serie de micotoxinas relacionadas (A, B, C y sus ésteres y metabolitos), de los cuales la más importante es la ocratoxina A)

Códigos de prácticas correspondientes: Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas (CXC 51-2003)

Código de prácticas para la prevención y reducción de la contaminación por Ocratoxina A en el vino (CXC 63-2007)

Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de Ocratoxina A en el café (CXC 69-2009)

Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación del cacao por Ocratoxina A (CXC 72-2013)

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) µg/kg	Parte del producto básico/producto a que se aplica el nivel máximo (NM)	Notas/observaciones
Trigo	5	Todo el producto	El NM se aplica al trigo blando sin elaborar, trigo duro sin elaborar, espelta sin elaborar y la escanda sin elaborar.
Cebada	5	Todo el producto	El NM se aplica a la cebada sin elaborar.
Centeno	5	Todo el producto	El NM se aplica al centeno sin elaborar.

CXS 193-1995

FUMONISINAS (B₁ + B₂)

Referencia al JECFA

56 (2001), 74 (2011)

Valor de referencia toxicológica:

INDTP 0,002 mg/kg pc (2001, 2011)

Definición del contaminante:

Fumonisinias (B₁+B₂)

Síntesis:

Se han descrito varios compuestos relacionados, especialmente las fumonisinias B₁, B₂ y B₃.
(Abreviaturas: FB1 etc.)

Código de prácticas correspondiente:

Código de prácticas para prevenir y reducir la contaminación de los cereales por micotoxinas
(CXC 51-2003)

Nombre del producto básico/producto	Nivel máximo (NM) (µg /kg)	Porción del producto/producto al que se aplica el NM	Notas/observaciones
Maíz en grano crudo	4 000	Todo el producto	Para los planes de muestreo, véase el Anexo
Harina de maíz y sémola de maíz	2 000	Todo el producto	Para los planes de muestreo, véase el Anexo