

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Determinación de la presencia de aflatoxinas en uvas pasas (*Vitis vinifera*) en mercados municipales de la ciudad capital.

María José Salazar Ordóñez
Química Farmacéutica

Guatemala, 22 de enero del 2019

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

**Determinación de la presencia de aflatoxinas en uvas pasas (*Vitis vinifera*),
en los mercados de la ciudad capital**

Informe de Tesis

Presentado por:

María José Salazar Ordóñez

**Para optar al título de
Química Farmacéutica**

Guatemala, 22 de enero de 2019

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
M.A. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Alvarado Aguilera	Vocal III
Br. Byron Enrique Pérez Díaz	Vocal IV
Br. Pamela Carolina Ortega Jiménez	Vocal V

DEDICATORIA

Acto que dedico a:

A Dios

Por darme la vida y su amor, por brindarme la sabiduría, la inteligencia y la fortaleza cada uno de los días de mi vida. Por permitirme alcanzar esta nueva meta.

A mi mamá Silvia Ordóñez
y a mi papa Luis Salazar

Por permitirme cumplir este sueño, por darme su amor, su confianza, su amistad, por enseñarme a vivir y estar presentes en cada una de las etapas de mi vida. Porque sin ustedes nada de esto sería posible, porque son los pilares que me mantienen en pie y me impulsan a seguir adelante, por su esfuerzo y porque ustedes son la alegría de mi vida.

A mi hermana
Sara Salazar

Por ser mi amiga y mi luz en todo momento, por su apoyo, por motivarme a seguir adelante, por estar siempre conmigo, por su amor, comprensión, compañía.

A mi abuelita
Blanca Galdámez

Por su amor y apoyo incondicional

A mis tíos y Primos

Por acompañarme en los momentos importantes de mi vida, por su amor y por su apoyo.

A mis amigas y amigos

Porque cada uno forma parte importante de mi vida, por acompañarme en este momento especial, por cada desvelada, trabajo y alegría que compartimos durante el trayecto y a cada una de las personas que conocí.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos
de Guatemala y la
Facultad de Ciencias
Químicas de Guatemala

Por ser mi alma mater, por brindarme los
conocimientos y la oportunidad de estudiar y
formarme profesionalmente.

Al instituto de Investigaciones
Químicas, Biológicas,
Biomédicas y Biofísicas
I2QB3. UMG

Por abrirme las puertas y permitirme realizar el
estudio en sus instalaciones.

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. ANTECEDENTES.....	4
A. Generalidades.....	4
B. Tipos de aspergillus que producen aflatoxinas.....	5
C. Aflatoxinas.....	6
D. Mecanismo de acción y efectos tóxicos de las aflatoxinas.....	8
E. Características de la uva pasa.....	10
F. Prueba de ELISA para la determinación de aflatoxinas.....	12
G. Antecedentes de estudios en otros países.....	13
4. JUSTIFICACIÓN.....	16
5. OBJETIVOS.....	18
A. Objetivo General.....	18
B. Objetivos Específicos.....	18
6. HIPÓTESIS.....	19
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
A. Universo.....	20
B. Población.....	20
C. Muestra.....	22
D. Materiales.....	23
E. Metodología.....	24
8. RESULTADOS.....	26
9. DISCUSIÓN.....	32
10. CONCLUSIONES.....	37
11. RECOMENDACIONES.....	48
12. REFERENCIAS.....	49
13. ANEXOS.....	42

1. RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo determinar la presencia de aflatoxinas en uvas pasas en los mercados de la ciudad capital, y los efectos que la temperatura y humedad tienen en el crecimiento de *Aspergillus sp.* y por lo tanto la producción de aflatoxinas. Se muestrearon 19 mercados en época lluviosa y en época seca, en cada mercado se tomó una muestra de la porción superior, media e inferior del recipiente muestreado. Las aflatoxinas fueron determinadas por una prueba ELISA, en donde el color azul se clasificó como ausencia, y un color diferente a este como presencia. Para ambas épocas, la temperatura y humedad se mantuvo constante, reportándose una temperatura entre 22.3-29.1°C y una humedad de 65-89%. En la época seca un 73.68% de muestras estaban contaminadas y en invierno un 84.21%. De las 38 muestras recolectadas, 12 presentaron contaminación en todas las porciones muestreadas, a las que corresponden la mayor temperatura y humedad reportada en el estudio y tres de ellas presentaron contaminación en el área superior; esta contaminación puede deberse a las condiciones ambientales y a los componentes propios de la uva pasa. Por otra parte, 15 muestras presentaron contaminación en la porción media, baja o ambas, lo cual puede deberse al mal almacenamiento y manipulación de las uvas pasas y sólo 8 muestras no estaban contaminadas.

Entre los principales factores que intervienen en la contaminación están el clima presente en la ciudad capital, así como la mala manipulación y almacenamiento de las uvas pasas.

INTRODUCCIÓN

El *Aspergillus* es un moho que se encuentra tanto al aire libre como en interiores; es un recubrimiento producido sobre materia orgánica y provoca su descomposición, este produce metabolitos secundarios conocidos como aflatoxinas. Estos metabolitos son considerados micotoxinas, puesto que su consumo puede afectar el metabolismo de los seres vivos, incluyendo los seres humanos (Santos, Importancia y Efectos de la Aflatoxina en los seres humanos, 2007). Este moho se encuentra principalmente en alimentos como maní, nueces, maíz, trigo, semilla oleaginosa, cereal, frutos secos como pasas y ciruelas y productos derivados. La Organización de Alimentos y Agricultura (FAO por sus siglas en ingles), estima que más de un 25% de alimentos en el mundo está contaminado con cierto número de micotoxinas entre las que encontramos aflatoxinas. Estas están asociadas tanto a las condiciones de almacenamiento inadecuadas, como la contaminación del producto en el campo, antes y después de la cosecha (Acuña, Salinas, & Vásquez, 2014). El *Aspergillus* requiere de ciertas condiciones favorables para su crecimiento y la producción de aflatoxinas entre las que se encuentra la temperatura, la humedad y daños físicos durante las cosechas. Este moho crece principalmente en países tropicales ya que cuentan con las condiciones adecuadas para su proliferación. El rango de temperatura para la formación de *Aspergillus* y por lo tanto la producción de aflatoxinas es de 11°C a 35°C con una temperatura optima de 22°C y una humedad relativa del 80-90% (Agroalimentaria, 2013). Otros factores que contribuyen al crecimiento de *Aspergillus* en los alimentos es que estos suelen servir como sustrato, favoreciendo la presencia de estos mohos, así como factores químicos como la presencia de minerales o carbohidratos.

En Guatemala existe un amplio comercio de frutos secos, entre los cuales podemos mencionar las pasas, estas se encuentran en diferentes puntos de venta, como mercados, supermercados y tiendas.

Las pasas se obtienen de la deshidratación de la uva fresca, y son ampliamente utilizadas en la repostería o para consumo cotidiano. Poseen un alto contenido de carbohidratos, proteína y fibra, además de contar con vitaminas y minerales los cuales las hacen altamente nutritivas (Botanical, 2012).

Debido a la composición de las pasas y las condiciones ambientales a las que se encuentran expuestas a granel en los mercados, como la temperatura, humedad y exposición al aire, además de la mala manipulación durante su venta, y de no contar con las condiciones adecuadas para lograr un almacenamiento correcto, es necesario realizar la determinación de la presencia de *Aspergillus* en este producto, ya que estos poseen las condiciones adecuadas para su desarrollo en las pasas y posiblemente producir aflatoxinas. Es importante tener un control de la presencia de estas micotoxinas, ya que poseen efectos tóxicos inmediatos, además de inmunosupresores, mutagénicos, teratogénicos y carcinogénicos. El principal órgano diana de los efectos carcinogénicos es el hígado. La intoxicación con aflatoxinas se conoce como aflatoxicosis y causa dolor abdominal, vómitos, fiebre, hemorragia, síntomas digestivos, convulsiones, retraso en el desarrollo en niños.

Según la Food and Drug Administration (FDA) los países latinoamericanos carecen de reglamentos relacionados a los límites permitidos de aflatoxinas en los alimentos y de regulación en las condiciones de almacenamiento y control del producto en los mercados (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2004).

Este estudio pretende evaluar la presencia de aflatoxinas en uvas pasas por los efectos que estas pueden causar en la población guatemalteca, ya que Guatemala posee un clima ideal para el crecimiento de *Aspergillus*, y por lo tanto la posible producción de aflatoxinas en los productos, pudiendo llegar a causar una intoxicación aguda o crónica, afectando principalmente a los niños.

2. ANTECEDENTES

A. Generalidades

Los mohos crecen sobre los materiales vegetales produciendo deterioro de los mismos, forman metabolitos secundarios que actúan como defensa favoreciendo la prevalencia del moho frente a otros microorganismos, muchos de los cuales resultan ser tóxicos para las plantas o bien animales. Estos metabolitos que producen un daño en los consumidores o animales se conocen como micotoxinas y la afección se llama micotoxicosis (Carrillo & Molina, 2007).

Las aflatoxinas, son un metabolito secundario producido por el moho *Aspergillus*. La contaminación fúngica de los alimentos, especialmente por los mohos, viene no solo del potencial de los hongos para deteriorarlos, sino también del potencial que estos poseen para producir una gran variedad de micotoxinas, a las que generalmente, el hombre es susceptible, así como su capacidad para provocar infecciones, reacciones alérgicas o bien intoxicaciones (Pascual & Calderón, 2000). La contaminación fúngica de los alimentos puede considerarse desde 2 puntos de vista:

1. Actuación sobre los alimentos:

Defectos de aspecto

Modificaciones químicas

- De valor nutricional.
- De carácter organoléptico
- Dificultades de conservación.

2. Actuación sobre el hombre y animales

- Patógena.
- Alergena.
- Tóxica (micotoxina).

(Pascual & Calderón, 2000).

Sin embargo, el *Aspergillus*, puede ser tanto un agente de micosis como responsable de intoxicaciones. El crecimiento de *Aspergillus* y la contaminación de aflatoxinas son consecuencia de la interacción entre el hongo, el hospedero y el ambiente. La interacción de estos factores determina la infestación y colonización del producto, así como el tipo y la cantidad de aflatoxinas producidas. La producción de aflatoxinas es favorecida tanto por factores que ocurren en campo como en almacén, siendo el almacenamiento el principal responsable del crecimiento de este moho.

En el almacén, las condiciones de alta temperatura y humedad, así como aireación son determinantes en el incremento de la síntesis de aflatoxinas en los alimentos (Reyes & Vásquez, 2013).

B. Tipos de *Aspergillus* que producen Aflatoxinas

La mayoría de especies del genero *Aspergillus* son hongos filamentosos saprófitos que desempeñan un papel esencial en la degradación de la materia orgánica. Su hábitat natural es el suelo donde sobreviven y se desarrollan sobre la materia en descomposición.

Este género es uno de los más abundantes en la naturaleza y pueden encontrarse en cualquier ambiente. Para su crecimiento *Aspergillus* requiere de una humedad relativa entre el 70-90% y un amplio rango de temperatura que va de 10-45°C (Reyes & Vásquez, 2013).

Se han considerado como principal fuente de contaminación por producción de aflatoxinas algunas especies del género *Aspergillus* sección *Flavi*.

Las aflatoxinas están producidas por tres especies de esta sección: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nominus*. La diferencia entre estas especies puede efectuarse en base a la producción de determinados metabolitos secundarios. *A. flavus* produce sólo aflatoxinas B₁ y B₂, mientras que *A. parasiticus* produce aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ (Abarca, Bragulat, Castellá, Accensi, & Cabañes, 2000).

Este hongo se produce con facilidad en granos mal almacenados. Las aflatoxinas producidas por los mohos del genero *Aspergillus flavus*, no se pueden observar, carecen de sabor y olor, son resistentes al calor y a procesos como cocción, ultrapasteurización, nixtamalización y fermentación (Carvajal, 2013).

C. Aflatoxinas

Las aflatoxinas son metabolitos secundarios, es decir que no tienen una función directa en el metabolismo vital fisiológico del moho sino parecen ser un factor de defensa para el medio hostil.

Químicamente pertenecen al grupo de derivados de las bisfurano isocumarinas. Su síntesis se relaciona con la condensación de un Acetil CoA que reacciona con tres o más grupos malonatos produciendo malonil CoA, que junto con más Acetil CoA formarán un compuesto policetónico, luego sufren ciclación y aromatización para formar antrona y su compuesto oxidado que es el ácido norsolínico, después otra serie de reacciones puede dar formación a las aflatoxinas (Santos, s.f.).

El crecimiento de aflatoxinas depende de muchos factores como el sustrato, la temperatura, el pH, la humedad relativa y la presencia de microflora competidora. Las condiciones climáticas de las zonas tropicales favorecen la formación de aflatoxinas, sin embargo, también pueden producirse en zonas más templadas. El rango de temperatura para la formación de *Aspergillus* y por lo tanto la producción de aflatoxinas es de 11°C a 35°C con una temperatura optima de 22°C y una humedad relativa del 80-90% (Agroalimentaria, 2013).

Otros factores que contribuyen al crecimiento de *Aspergillus* en los alimentos es que estos suelen servir como sustrato, favoreciendo la presencia de estos mohos, así como factores químicos como la presencia de minerales o carbohidratos (Bogantes, Bogantes, & Bogantes, 2004).

Tipos de aflatoxinas

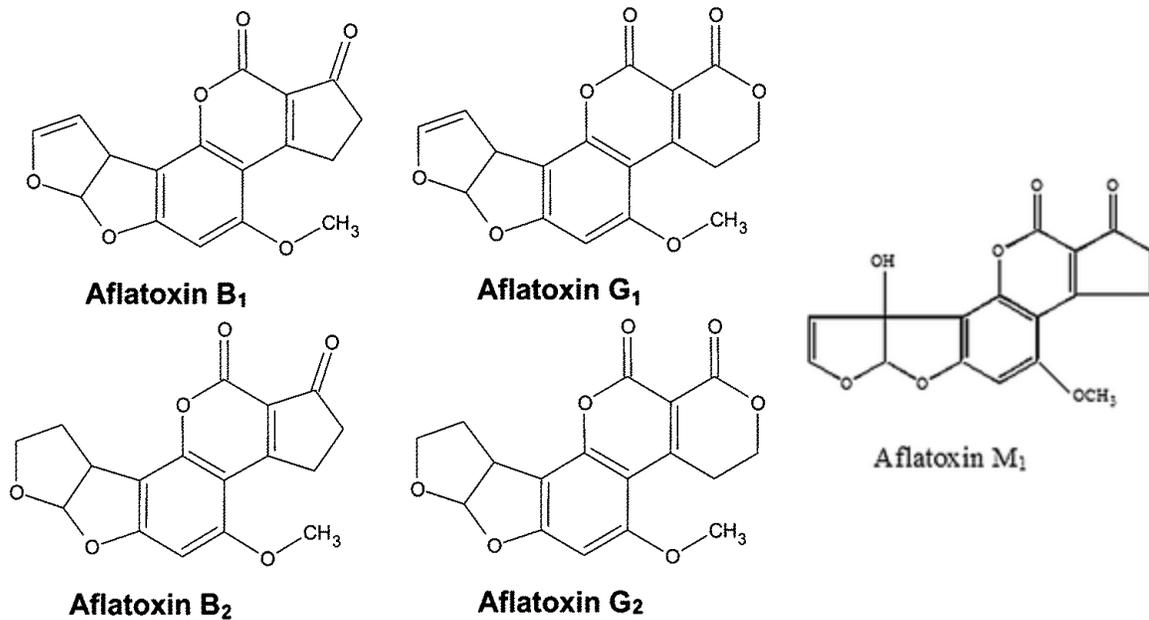
Se han identificado 18 tipos de aflatoxinas, de las cuales las más frecuentes en los alimentos son la B1, B2, G1, G2, M1 y M2. Sin embargo las aflatoxinas de mayor interés son las B1, B2, G1, G2 y la M1 (Santos, s.f.). La nomenclatura de los tipos de aflatoxinas hace referencia a sus propiedades físico-químicas, ya que las de tipo B presentan fluorescencia azul (Blue) y las de tipo G fluorescencia verde (Green) cuando se les observa bajo la luz ultravioleta. El subíndice 1 indica mayor movilidad cromatográfica que el 2 (Contreras & Florez, 2009).

Las aflatoxinas son contaminantes naturales los cuales se encuentran principalmente en productos agrícolas, estas han sido reportadas en todo el mundo y en mayor o menor grado, en casi todos los alimentos de primera necesidad. Los alimentos considerados más susceptibles a contaminación con *Aspergillus* con la consiguiente producción de aflatoxinas incluye típicamente al maíz, cacahuates, pistachos, nueces de Brasil, semillas de algodón y pulpa seca de coco (Bolet & Socarrás, 2005).

También se han encontrado aflatoxinas en semillas oleaginosas como el girasol y la soja, en aceites vegetales sin refinar y en otros frutos secos como las almendras, avellanas y nueces, en las especies como el pimentón, el chile, la pimienta, en las frutas desecadas como los higos secos y las pasas, en el café y el cacao, y en el resto de los cereales y sus productos derivados (Martínez, Vargas, & Gómez, 2013).

Dentro del grupo de aflatoxinas la de mayor importancia en salud pública es la aflatoxina B1, ya que esta se relaciona con el desarrollo de carcinoma hepatocelular en poblaciones que consumen alimentos contaminados, esta aflatoxina está clasificada dentro del grupo I según la IARC, por su efecto carcinogénico para humanos y animales (Duarte & Villamil, 2006).

Imagen 1. Tipos de Aflatoxinas presentes en alimentos



Fuente: (Martínez, Vargas, & Gómez, 2013).

D. Mecanismo de acción y Efectos tóxicos de las aflatoxinas

Mecanismo de acción

El rol de la aflatoxina en el cáncer humano requiere una activación para producir mutaciones, de manera que para que la acción tóxica de la aflatoxina ocurra es necesario que esta tenga un cambio metabólico, el cual ocurre cuando la aflatoxina llega al hígado de los seres que la ingieren. Dicho cambio ocurre en las células hepáticas, en la función microsomal citocromo P450.

Esto causa una formación de ligandos entre el residuo de la aflatoxina y el grupo guanina del ADN o ARN, lo cual causa en el proceso de replicación, que el complejo formado se intercale causando mutación en la estructura del ADN (Zumbado, Ulloa, & Rojas, 2014).

Efectos tóxicos de las aflatoxinas

Las aflatoxinas pueden tener un efecto muy serio en la salud de los organismos vivos. El riesgo para el ser humano de ser afectado por estas toxinas puede ser a través del consumo de productos vegetales contaminados o de bio-productos. La severidad de la acción de la toxina puede causar efectos en la actividad relativa de las vías de biotransformación y reparación del ADN, produciendo efectos principalmente carcinogénicos y mutagénicos, y también alterando varios factores nutricionales, incluyendo cambios en la grasa, proteínas, vitaminas y minerales esenciales o en procesos energéticos (Santos, s.f.).

El grupo poblacional de mayor riesgo son los niños y jóvenes debido a que tienen mecanismos biológicos de defensa. También se debe tener en cuenta a las mujeres embarazadas por la posibilidad de intoxicación del bebé con la leche materna, en caso de que la madre este intoxicada con aflatoxinas. La magnitud de la expresión de los síntomas se puede ver influenciada por la edad, el sexo y la exposición a otros patógenos (Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria, 2013).

La ingesta de aflatoxinas puede provocar en el ser humano una intoxicación denominada aflatoxicosis, causando efectos tóxicos en el sistema inmunológico y hepático. Los síntomas más frecuentes son vómitos, dolor abdominal, edemas, alteraciones hepáticas y convulsiones en el caso de alta concentración en los alimentos (Martínez, Vargas, & Gómez, 2013).

Pueden darse dos tipos de intoxicaciones, aguda y crónica. En la intoxicación crónica con aflatoxinas se observan lesiones hepáticas como coagulopatías, aumento de la fragilidad capilar, hemorragia y tiempos prolongados de coagulación.

La muerte del huésped puede suceder de horas hasta pocos días. Se ha visto además una relación muy cercana entre la prevalencia de desnutrición.

Este reporte describe cómo las aflatoxinas pueden afectar a recién nacidos en los países tropicales, causándoles bajo peso, ictericia y poca viabilidad. En cuanto a la exposición crónica el efecto más drástico se ve en el ADN.

Su efecto se puede subdividir en carcinogénico, mutagénico y teratogénico. Este tipo de intoxicación puede afectar cualquier órgano, sin embargo el órgano blanco principal es el hígado, produciendo enfermedades relacionadas al mismo (Santos, s.f.).

E. Características de la uva pasa

1. Descripción Botánica de la Vid (árbol de la uva)

Nombre científico: *Vitis vinifera*

Familia: Vitáceas (Vitaceae)

Hábitat: Las especies de vides pueden encontrarse en estado salvaje en muchas regiones templadas del hemisferio norte.

Descripción de la vid

Los tallos son leñosos y cortos, de ellos nacen ramas nudosas. A medida que van creciendo se van alargando y lignificando. Poseen hojas alternas, dentadas, palmatinervias, y la mayoría de ellas de forma corazonada, opuestos a las hojas se encuentran zarcillos ahorquillados, que permiten trepar, aunque muchas plantas normalmente se arrastran por el suelo. Las flores se convierten en frutos de 1 a 2 cm de diámetro de color negro azulado, llamadas uvas. Cada uno de estos frutos se conoce como grano (Botanical, 2012).

Imagen 2. Ilustración de la vid (árbol de la uva)



Fuente: (Botanical, 2012).

2. Uvas Pasas

Las uvas pasas se obtienen por un proceso de deshidratación. Este proceso es uno de los métodos más antiguos utilizados por el hombre, el cual permite conservar algunas frutas por largos periodos de tiempo. Este tipo de conservación es muy utilizado mundialmente y tiene como ventajas que al deshidratarlos se reduce el volumen que ocupan y se facilita su comercialización (Suarez, 2003).

Al ser un producto deshidratado contienen todos los nutrientes de las uvas concentrados. Entre los principales componentes que presentan las uvas pasas son los carbohidratos, proteínas, fibra, Potasio, Magnesio, Calcio y provitamina, además de presentar un alto contenido de azúcar, principalmente fructosa (Botanical, 2012).

-Usos de las pasas

- En recetas culinarias
- Golosinas principalmente en niños
- Para el tratamiento de algunas afecciones como el estreñimiento, anemia y revitalización energética.

(Botanical, 2012).

F. Prueba de ELISA para la determinación de aflatoxinas.

Los ensayos inmunológicos son procedimientos en los cuales se utilizan anticuerpos como reactivos enlazantes específicos. Tienen aplicación universal para la determinación o cuantificación de fármacos terapéuticos y no terapéuticos, sustancias biológicas, sustancias infecciosas o anticuerpos de respuesta del hospedador (Guzmán, 2004).

Dos sistemas de ELISA se han utilizado para el análisis de micotoxinas y ambos son ensayos competitivos heterogéneos. Un sistema es ELISA directo, si se utiliza un conjugado enzima-micotoxina y el sistema es ELISA indirecto, si se utiliza un conjugado proteína-micotoxina y un anticuerpo secundario con el cual la enzima ha sido conjugada (Guzmán, 2004).

En el ensayo competitivo directo, los anticuerpos se inmovilizan en una fase sólida, esferas o tubos de poliestireno, esferas de nylon o tarjetas material plástico, o bien placas para microtitulación. La muestra en solución o el estándar de toxina es generalmente incubada simultáneamente con el conjugado enzimático. Después de los lavados apropiados, la cantidad de enzima conjugada que reacciona con el anticuerpo se determina por incubación con un sustrato en solución que contiene peróxido de hidrógeno que actúa como un oxidante cromógeno. El color resultante se mide ya sea visualmente o por medio de un espectrofotómetro. En este ensayo, las toxinas presentes en el extracto de la muestra y los conjugados enzimáticos de las toxinas compiten por los mismos sitios de enlace presentes en el anticuerpo inmovilizado en la superficie sólida (Cultek, 2006).

Debido a que las concentraciones de conjugado enzimático y de anticuerpo son constantes, la intensidad del color es un función inversamente proporcional a la concentración de toxina (Medina & Castillo, 2000).

Por otra parte, en el ensayo ELISA indirecto un conjugado formado por la micotoxina enlazada a una proteína o un polipéptido se inmoviliza en una placa de microtitulación.

La placa se incuba con el anticuerpo específico en presencia o ausencia de las micotoxinas homólogas. La cantidad de anticuerpo enlazado al conjugado proteínico inmovilizado en la placa es determinado después por la reacción con un complejo enzimático IgG, que se encuentra disponible comercialmente y por la subsecuente reacción con el sustrato. Así la toxina en las muestras y la toxina en la fase sólida compiten con los mismos sitios de unión con el anticuerpo específico en solución (Medina & Castillo, 2000).

El método de ELISA específico para aflatoxinas, es un inmunoanálisis que permite que las aflatoxinas libres de las muestras y controles compitan con la aflatoxina enzimomarcada; se agrega un sustrato que reacciona con el conjugado absorbido para producir una coloración azul, entre más color azul se observe, menos aflatoxinas presentes habrán.

G. Antecedentes de estudios en otros países

Debido a los conocimientos sobre los efectos tóxicos de las aflatoxinas en el ser humano, se han realizado varios estudios relacionados a la determinación de las mismas en diversos alimentos. El principal alimento de estudio ha sido el maíz debido a su alto consumo en diversos países.

En el año 2017 se realizó un estudio llamado Aflatoxinas en alimentos y exposición dietaria como factor de riesgo para el carcinoma hepatocelular, por Londono, E & Martínez, M, en Colombia, en el cual se determina que según los estudios realizados se demostró que la presencia de aflatoxinas en alimentos es alta, principalmente en cereales y frutos secos. Además de indicar la relación que existe entre la exposición de micotoxinas y el riesgo de desarrollar carcinoma hepatocelular especialmente en personas que han contraído el virus de hepatitis B.

Un estudio realizado en el 2014 por Mejía, N. Alvarado, P. y Vásquez, N. titulado determinación de aflatoxinas en productos de cereales de consumo humano en mercados de Trujillo, Perú. En el cual evaluaron la presencia de aflatoxinas en derivados de cereales mediante el test de ELISA.

Además, presenta información en cuanto a las características adecuadas para el crecimiento de las aflatoxinas y los alimentos en los que estas pueden desarrollarse. Se concluyó que se detectó la presencia de aflatoxinas en un 12.5% de las muestras en la harina de maíz, mientras que en la harina de avena y trigo fueron negativas para la presencia de aflatoxinas.

Existe una investigación realizada por Herrero, L; Ayala, S. & Sánchez, M, titulada propuesta a punto de validación de un método de análisis de aflatoxinas en frutos secos y cereales, el año 2012 en España. En la que resaltan la importancia del control y determinación de las mismas en los alimentos ya que los hongos del género *Aspergillus* están distribuidos en climas cálidos, y estos pueden producir aflatoxinas las cuales tienen efectos nocivos para la salud humana y animal, ya que tienen efectos tóxicos, teratogénicos, carcinogénicos e inmunosupresores. En este estudio se valida el análisis para determinación de aflatoxinas en distintas matrices alimentarias (Frutos secos y cereales), mediante HPLC, en donde las muestras presentaron contaminación baja, inferior al límite máximo establecido por la legislación, a excepción del pistacho, el cual dio un valor por encima del límite.

En el año 2007, en Marruecos, se realizó la evaluación de la presencia de aflatoxinas en frutos secos y nueces, para el cual se tomaron 100 muestras en total; los productos muestreados fueron nueces, uvas pasas, higos, nuez de castilla y pistachos. Se reportó un 5%, 20%, 30%, 30% y 45% respectivamente de aflatoxinas. Además, se demostró que las muestras de pistacho, nuez de castilla y uvas pasas excedieron el límite máximo tolerable para aflatoxinas.

En 2001, Moscoso, J. realizó una investigación titulada Evaluación de dos métodos de diagnóstico de micotoxinas en alimentos terminados y materias primas para la alimentación de animales (Fluorescencia y ELISA). En donde compara ambas pruebas y concluye que la metodología ELISA proporciona resultados más confiables, exactos, en menor tiempo y a un menor costo cuando se analizan micotoxinas en alimentos con relación a la metodología de fluorescencia.

En el 2013, Torres, O, en Guatemala, realizó una investigación titulada Determinación, Caracterización y Evaluación de Aflatoxinas que influyen en el Retardo de Talla para Edad en niños de Guatemala, Proyecto FODECYT 04-2012.

En este estudio se utilizó la prueba ELISA para determinar la presencia de aflatoxinas, el cual llegó a la conclusión de que la presencia de aflatoxinas efectivamente contribuye al retardo en el crecimiento de los niños y se encontró presencia de las mismas por encima de los niveles establecidos, por lo que el maíz no era aceptable para el consumo humano ni animal.

Hasta el momento no existen estudios en Guatemala sobre la identificación de aflatoxinas en frutos secos, sin embargo, existen algunas investigaciones basadas en la presencia de aflatoxinas en granos de maíz, en tortillas o en productos lácteos.

4. JUSTIFICACIÓN

La finalidad principal del estudio fue demostrar los efectos que el almacenamiento, distribución y los factores climáticos propios de la región, los cuales son los requeridos para el crecimiento de *Aspergillus* y por lo tanto para la producción de aflatoxinas, pueden producir para contribuir con la contaminación de las uvas pasas. La determinación de aflatoxinas en uvas pasas es importante, debido a que expone cómo el mal almacenamiento, distribución y falta de regulación por parte de las autoridades para el control de estos productos, puede llegar a causar la pérdida de la inocuidad de los mismos, brindando un medio adecuado para el crecimiento y formación de diversos contaminantes, pudiendo causar un serio daño a la salud de los consumidores.

El buen manejo y almacenamiento de estos productos puede contribuir a mantener la inocuidad de los productos, evitando o previniendo la contaminación del mismo con micotoxinas o cualquier otro agente no deseado en el producto, lo cual beneficiaría a la población guatemalteca, evitando la exposición y consumo de alimentos contaminados, los cuales podrían causar daños a la salud de la población guatemalteca, principalmente niños y personas de la tercera edad, los cuales se ven mayormente afectadas por este tipo de contaminaciones.

La contaminación causada por las micotoxinas y el aseguramiento de la inocuidad de los alimentos ha constituido un tema importante de acción tanto a nivel nacional como internacional, esto debido a los efectos negativos que las mismas pueden ocasionar sobre los seres humanos, lo que ha llevado a muchos países a crear reglamentos para proteger y controlar la salud humana. En el año 2003 entró en vigencia un reglamento a nivel mundial que regula la utilización de las micotoxinas en los alimentos y en las raciones, el que fue publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), en el que se formula los efectos tóxicos conocidos para este tipo de contaminantes, además de indicar los límites máximos permitidos de aflatoxinas en los alimentos (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, 2004).

En Guatemala, no existe un límite establecido para la presencia de aflatoxinas, por lo tanto, el almacenamiento y la manipulación de los productos de venta en los mercados municipales no tiene una vigilancia sanitaria, y tampoco un control en el almacenamiento y la manipulación del producto durante su venta, facilitando el posible crecimiento de *Aspergillus* y por lo tanto la producción de aflatoxinas en las uvas pasas.

Para la determinación de aflatoxinas se efectuó una extracción a las muestras de uvas pasas recolectadas y se realizó la prueba inmunológica ELISA para aflatoxinas, la cual ha sido ampliamente utilizada para el análisis de la presencia de diversas micotoxinas, incluyendo las aflatoxinas. Esto contribuye a ubicar el lugar que posee un mayor control de sus productos y de las condiciones de calidad de los mismos.

Se determinó la presencia de aflatoxinas, producto de la presencia de *Aspergillus spp* en las uvas pasas.; debido a que este estudio es de carácter cualitativo, se agruparon los resultados como presencia o ausencia de aflatoxinas en la muestra, y se analizaron los resultados mediante gráficas, tablas y porcentajes.

5. OBJETIVOS

A. Objetivo General

Determinar la presencia de aflatoxinas en uvas pasas, en los mercados municipales de la ciudad capital, y los efectos que la temperatura y humedad tienen en el crecimiento de *Aspergillus*.

B. Objetivos Específicos

1. Evaluar la presencia o ausencia de aflatoxinas en uvas pasas recolectadas en los mercados municipales.
2. Evaluar la influencia de la temperatura y humedad en el crecimiento de *Aspergillus sp.* y la producción de aflatoxinas.
3. Determinar la influencia del almacenamiento y el manejo de las uvas pasas en el crecimiento de *Aspergillus sp.* y la producción de aflatoxinas.
4. Observar en qué época del año, seca o lluviosa, se obtiene una mayor contaminación con aflatoxinas.
5. Identificar las condiciones ambientales que pueden ser favorables para el crecimiento de *Aspergillus*, y producción de aflatoxinas en los diferentes mercados.

6. HIPÓTESIS

La temperatura y humedad favorecen el crecimiento de *Aspergillus* y por lo tanto la producción de aflatoxinas en las uvas pasas comercializadas en los mercados municipales de la ciudad de Guatemala

7. MATERIALES Y MÉTODOS

A. UNIVERSO

Uvas pasas (*Vitis vinifera*)

B. POBLACIÓN

Uvas pasas (*Vitis vinifera*), comercializadas en los mercados municipales de la ciudad capital de Guatemala.

Mercado	Ubicación
Central	9 ^a . av. entre 7 ^a . y 8 ^a . Calle zona 1
La Terminal	0 av. Entre 7 ^a . y 8 ^a . Calle zona 4
Sur Dos	6 ^a . Av entre 19 y 21 calle, zona 1
La Presidenta	2 ^a . Av. Entre 21 y 22 calle, zona 1
Satélite 27 calle	Av. Elena entre 27 y 28 calle, zona 3
Colón	13 av. Entre 7 ^a . Y 6 ^a . Calle, zona 1
Satélite Gerona	16 av. Entre 15 y 15 calle "A", zona 1
Parroquia	Calle Martí y 11 av. zona 6
Satélite 3 de mayo	10 ^a . Calle y 15 av. "A", zona 6
Satélite La Maya	Manzana 12, calle principal, zona 18
Cervantes	Avenida Elena y 18 calle, zona 3
La Palmita	16 av. Entre 26 y 27 calle, zona 5
Satélite Santa Ana	33 avenida, zona 5
La Villa	14 av. entre 18 y 19 calle zona 10
Satélite Cantón 21	17 av. Y 4 ^a . Calle, zona 14
El Granero	28 calle final vía 1, zona 4
San Martin de Porres	18 av. entre 1 ^a . Y 1 ^a . Calle "A" zona 6
Satélite Kennedy	3 ^a . Y 4 ^a . Calle, zona 18
La Florida	12 av. Y 5 ^a . Calle, zona 19

Satélite La florida	2ª. Calle entre 7ª. Y 8ª. Avenida zona 19
El Gallito	13 calle entre 2ª. Y 3ª. Avenida zona 3
Satélite El Sauce	1ª. av. y 3ª. Calle zona 1
Satélite Trinidad	5ª. Av. Y 14 calle zona 3
Satélite Unibus	6ª. Av. Y 12 calle "B", zona 3
San José Mercantil	5ª. Calle y 12 av. Quinta Samayoa zona 7
Candelaria	5ª. Av. Y 25 calle, proyecto 4-3, zona 6
La Reformita	11 av. Entre 22 y 23 calle, zona 12
La Asunción	35av. Y 18 calle zona 5
Satélite el Tierrero	21 calle entre 29 31 y 32 av. zona 5
Satélite la Chácara	20 calle entre 44 45 y 46 av. Zona 5
Flores	Avenida el cementerio y 18 calle zona 3
Satélite Candelaria	2ª. Av. De la 32 a 35 calle, zona 8
Roosevelt	12 av. Y 11 calle, zona 11
Satélite 12 avenida	12 av. entre 4ª. y 5ª. calle zona 11
Santa Fe	11 av. y 2ª. calle Santa Fe, zona 13
Bethania	11av. y 27 calle, zona 7
Satélite Landivar	6ª. av. y 9ª. calle landivar, zona 7
Satélite La Verbena	20 calle Final y Avenida el cementerio zona 3
Justo Rufino Barrios	Col. Justo Rufino barrios, zona 21

(Municipalidad de Guatemala, 2004)

C. MUESTRA

Uvas pasas (*Vitis vinifera*), a la venta en los siguientes mercados municipales de la ciudad de Guatemala seleccionados por conveniencia:

No.	Mercado	Código de Mercado	Ubicación
1	Central	MC	9 ^a . av. entre 7 ^a . y 8 ^a . Calle zona 1
2	La Terminal	MT	0 av. Entre 7 ^a . y 8 ^a . Calle zona 4
3	Sur Dos	MS2	6 ^a . Av entre 19 y 21 calle, zona 1
4	Satélite 27 calle	MS27c	Av. Elena entre 27 y 28 calle, zona 3
5	Colón	MCo	13 av. Entre 7 ^a . Y 6 ^a . Calle, zona 1
6	Satélite Gerona	MSG	16 av. Entre 15 y 15 calle "A", zona 1
7	Parroquia	MP	Calle Martí y 11 av. zona 6
8	Satélite 3 de mayo	MS3M	10 ^a . Calle y 15 av. "A", zona 6
9	Cervantes	MCvn	Avenida Elena y 18 calle, zona 3
10	La Palmita	MLP	16 av. Entre 26 y 27 calle, zona 5
11	La Villa	MV	14 av. entre 18 y 19 calle zona 10
12	Satélite Cantón 21	MSC21	17 av. Y 4 ^a . Calle, zona 14
13	San Martín de Porres	MSM	18 av. entre 1 ^a . Y 1 ^a . Calle "A" zona 6
14	La Florida	MF	12 av. Y 5 ^a . Calle, zona 19
15	Candelaria	MCand	5 ^a . Av. Y 25 calle, proyecto 4-3, zona 6
16	La Asunción	MAS	35av. Y 18 calle zona 5
17	Satélite Candelaria	MSCand	2 ^a . Av. De la 32 a 35 calle, zona 8
18	Roosevelt	MR	12 av. Y 11 calle, zona 11
19	Satélite 12 avenida	MS12Av	12 av. entre 4 ^a . y 5 ^a . calle zona 11

(Municipalidad de Guatemala, 2004).

D. MATERIALES

1. Producto
 - Uvas pasas

2. Reactivos
 - 2.1 Metanol al 70% grado analítico o grado reactivo
 - 2.2 Agua destilada
 - 2.3 Kit de reactivos para prueba ELISA en micotoxinas Veratox®

3. Equipo
 - 3.1 Lector de ELISA semi automatizado para 96 pocillos modelo STAT FAX 4200®.
 - 3.2 Balanza semianalítica marca Ohaus scot-pro®
 - 3.3 Termo higrómetro digital marca HTC-1
 - 3.4 Pipeteador

4. Cristalería
 - 4.1 Probeta graduada 100 ml.
 - 4.2 Vasos colectores graduados 100 ml.
 - 4.3 Beaker de 250 ml.
 - 4.4 Embudo.
 - 4.5 Varilla de agitación.
 - 4.6 Micropipetas.
 - 4.7 Papel filtro Whatmann No. 1
 - 4.8 Mortero y pistilo

5. Recursos Humanos
 - 5.1 Autora: Br. María José Salazar Ordóñez
 - 5.2 Asesor: Lic. Julio Gerardo Chinchilla Vettorazi
 - 5.3 Revisora: Licda. Carolina Guzmán Quilo, MSc.

E. METODOLOGÍA

1. Recolección

Se colectó la muestra en la parte superior, media y baja del lugar de almacenamiento de las uvas pasas, utilizando el mismo utensilio para servir, que usan los comerciantes y se colocaron en bolsas tipo ziploc, con cierre, separadas y previamente codificadas.

Este muestreo se realizó en época seca en los meses de marzo a mayo y en época lluviosa de junio a septiembre.

2. Extracción

2.1 Moler la muestra en un mortero.

2.2 Pesar 5g. de la muestra agregar 25ml de metanol al 70%

2.3 Agitar vigorosamente por 3 minutos.

2.4 Filtrar el extracto a través de papel filtro Whatmann No.1 a un beaker de 50 ml

3. Dilución del extracto

3.1 Tomar 1 ml del filtrado y diluir con 1ml de agua destilada en un tubo de 10 ml.

4. Procedimiento método ELISA

4.1 Todos los reactivos deben estar a temperatura ambiente antes de ser utilizados.

4.2 Abrir el empaque de aluminio y extraer los pocillos a utilizar.

4.3 Colocar los pocillos en el marco porta-pocillos para los estándares y las muestras a analizar, marcar la posición de los estándares y de las muestras.

4.4 Agregar 50 microlitros de los estándares y de las muestras a analizar en los pocillos correspondientes.

4.5 Utilizar una pipeta nueva para cada estándar y para cada muestra

- 4.6 Agregar 50 microlitros de conjugado en los pocillos correspondientes.
- 4.7 Agregar 50 microlitros de anticuerpo de aflatoxina en cada pocillo.
- 4.8 Mezclar cuidadosamente e incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente (18-30°C).
- 4.9 Vaciar los pocillos y luego agitar enérgicamente 3 veces sobre un papel absorbente limpio, para asegurar eliminación de restos líquidos.
- 4.10 Lavar pocillos con agua destilada utilizando pipeta y vaciar nuevamente los pocillos de forma indicada. Repetir paso 2 veces más.
- 4.11 Agregar 2 gotas o 100 microlitros de sustrato/cromógeno en cada pocillo.
- 4.12 Mezclar cuidadosamente e incubar por 5 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.
- 4.13 Agregar 2 gotas o 100 microlitros de solución stock en cada pocillo.
- 4.14 Mezclar bien y medir en el transcurso de la media hora siguiente el cambio de coloración de la muestra

5. Análisis de Datos

Una vez obtenidos los resultados, se utilizó un método descriptivo cualitativo, mediante tablas y gráficos para realizar el análisis de los mismos, debido a que esta es una de las formas más utilizadas para presentar este tipo de datos de forma simple y organizada, además de permitir detectar tanto las características sobresalientes como las inesperadas. Se utilizaron datos categóricos o cualitativos. Los datos categóricos a usar son dicotómicos, ya que la unidad observacional puede ser asignada a solo una de las dos categorías. En general, se trata de presencia o ausencia del atributo (Orellana, 2001), como este caso, en el que se asignó como positivo (+) a la presencia y como negativo (-) a la ausencia de la aflatoxina en las uvas pasas.

8. RESULTADOS

Tabla 1. Datos generales de la recolección de muestras y resultados en época seca y época lluviosa

	ÉPOCA SECA	ÉPOCA LLUVIOSA
Rango de temperatura durante la recolección	26.5°C a 29.1°C	22.3°C a 26.4°C
Rango de Humedad Relativa durante la recolección	65%-80%	65%-89%
Total de muestras con alguna parte contaminada con Aflatoxinas	14/19	16/19
Porcentaje de muestras contaminadas	73.68%	84.21%

Fuente: Datos experimentales obtenidos en el estudio

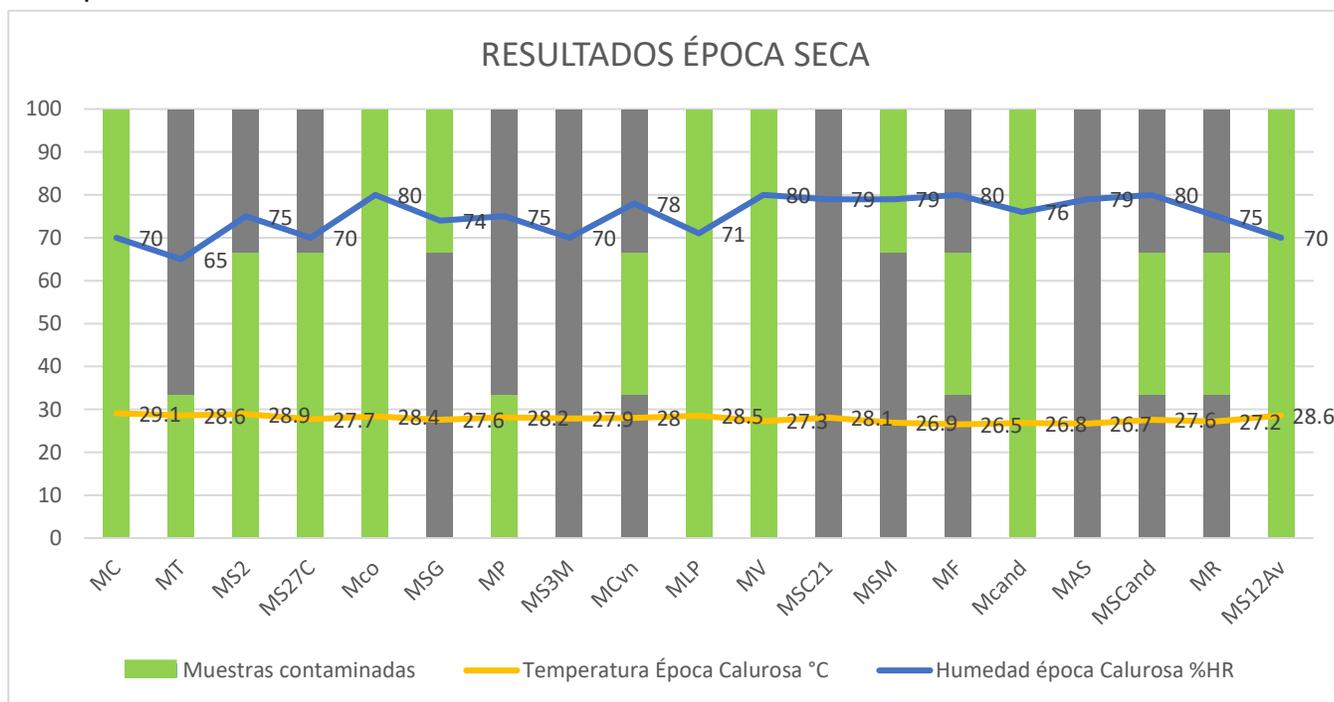
En la tabla 1 se puede observar que la diferencia entre la temperatura más baja reportada para la época seca y la época lluviosa es 4.2°C, mientras que para la temperatura más alta reportada en ambas épocas la diferencia es de 2.7°C. La temperatura mínima en ambas épocas se encontró en la época lluviosa, mientras que la temperatura máxima en ambas épocas se presentó en la época seca. En cuanto a la humedad relativa, el valor mínimo reportado es el mismo para ambas épocas, contrario a la humedad relativa reportada como máxima para las dos épocas, la cual tiene una diferencia del 9% de humedad, siendo la época lluviosa más húmeda que la época seca.

De las 19 muestras evaluadas en ambas épocas, la época lluviosa presentó mayor cantidad de muestras contaminadas, teniendo una diferencia únicamente de 2 muestras más contaminadas respecto a la época seca.

Como se observa en la tabla 1, del 100% de las muestras recolectadas para ambas épocas, más de el 50% de muestras se encuentran contaminadas.

El porcentaje de contaminación presenta una diferencia de 10.42%, entre la época seca y la época lluviosa, determinándose la mayor cantidad de muestras contaminadas en la época seca.

Gráfica 2. Temperatura, Humedad relativa y resultado de muestras tomadas en época seca.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en el estudio

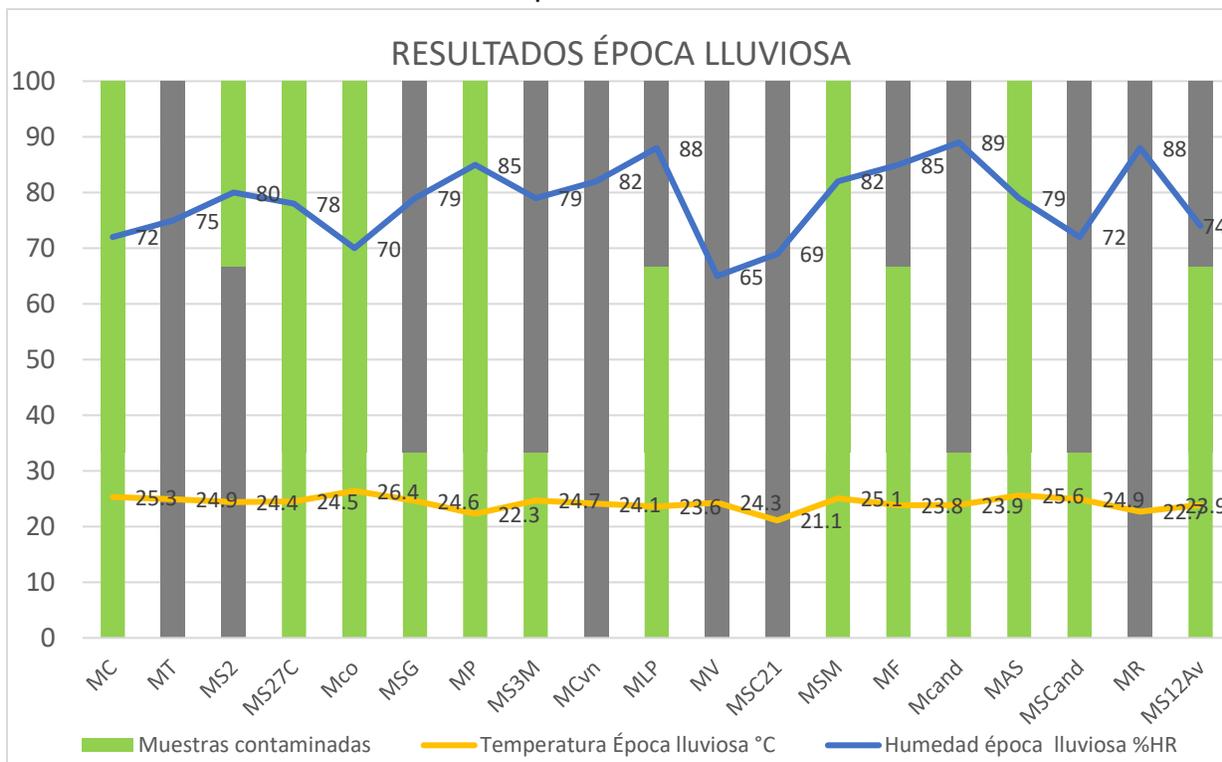
MC: Mercado Central, MT: Mercado la terminal, MS2: Mercado sur dos, MS27C: Mercado satélite 27 calle, MCo: Mercado Colón, MSG: Mercado Satélite Gerona, MP: Mercado Parroquia, MS3M: Mercado Satélite 3 de Mayo, MCvn: Mercado Cervantes, MLP: Mercado la Palmita, MV: Mercado la Villa, MSC21: Mercado Satélite Cantón 21, MSM: Mercado San Martín, MF: Mercado la Florida, MCand: Mercado Candelaria, MAS: Mercado la Asunción, MSCand: Mercado Satélite Candelaria, MR: Mercado Roosevelt, MS12Av: Mercado Satélite 12 Avenida.

En la gráfica 2, se pueden observar los parámetros tomados en cuenta al momento de recolectar las muestras para la época seca, temperatura y humedad, los cuales se encuentran en líneas de color azul para la humedad y amarillas para la temperatura, asimismo, se puede observar por mercado, la cantidad y las porciones contaminadas por cada muestra. Las muestras con las tres porciones contaminadas, fueron colectadas en un rango de temperatura de 29.1°C a 28.6°C y una humedad entre 70-80%, estas muestras se tomaron en los mercados: Central, Colón, La Palmita, La Villa, Candelaria y Satélite de la 12 Avenida zona 11.

Las muestras con dos porciones contaminadas fueron colectadas en un rango de temperatura de 28.9°C a 27.7°C y una humedad de 70-75%, estas muestras pertenecen al mercado Sur dos y Satélite de la 27 calle zona 5. Las muestras con contaminación en una de las porciones muestreadas colectadas a una temperatura entre 28.6°C a 26.5°C, con una humedad de 65% a 80%, fueron las del mercado La Terminal, Satélite Gerona, La Parroquia, Cervantes, San Martín, La Florida, Satélite Candelaria y Roosevelt.

En cuanto a los mercados que no presentaron contaminación en ninguna de las porciones muestreadas, se colectaron a una temperatura entre 26.7°C a 28.1°C y una humedad de 70% a 79%, son el mercado Satélite 3 de Mayo, Satélite Cantón 21 y La Asunción. Los mercados con contaminación en las tres porciones muestreadas, son los que presentaron mayor valor de temperatura y humedad alcanzada durante el periodo de muestreo.

Gráfica 3. Temperatura, Humedad relativa y resultado de muestras tomadas en época lluviosa.



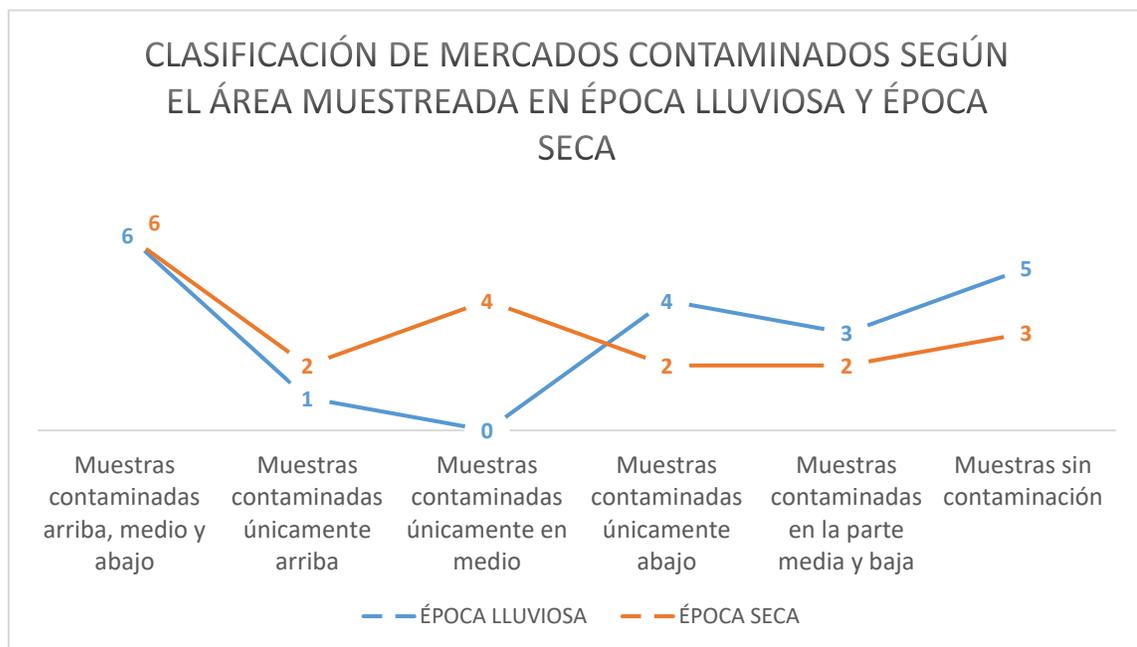
MC: Mercado Central, MT: Mercado la terminal, MS2: Mercado sur dos, MS27C: Mercado satélite 27 calle, MCo: Mercado Colón, MSG: Mercado Satélite Gerona, MP: Mercado Parroquia, MS3M: Mercado Satélite 3 de Mayo, MCvn: Mercado Cervantes, MLP: Mercado la Palmita, MV: Mercado la Villa, MSC21: Mercado Satélite Cantón 21, MSM: Mercado San Martín, MF: Mercado la Florida, MCand: Mercado Candelaria, MAS: Mercado la Asunción, MSCand: Mercado Satélite Candelaria, MR: Mercado Roosevelt, MS12Av: Mercado Satélite 12 Avenida.

En la gráfica 3, se pueden observar los resultados de las muestras recolectadas en la época lluviosa. Para las muestras con las tres porciones muestreadas contaminadas se reportó un rango de temperatura de 22.3°C a 26.4°C y una humedad de 70% a 85%, entre los mercados podemos mencionar al mercado Colón, Satélite de la 27 calle, Central, La Parroquia y San Martín.

Para las muestras con contaminación en dos de las tres porciones muestreadas se encontró una temperatura entre 23.6°C a 23.9°C, y humedad de 74% a 88%, estos mercados son, el mercado La Palmita, La Florida y Satélite de la 12 Avenida zona 11.

En cuanto a las muestras con únicamente una porción muestreada contaminada, se presentó una temperatura de 23.9°C a 24.9°C y un rango de humedad de 72% a 89%, los mercados que se encuentran en este grupo son: Sur 2, Satélite Gerona, y Satélite Candelaria. Las muestras sin contaminación provienen de los mercados La Terminal, Cervantes, La Villa, Satélite Cantón 21 y Roosevelt, para estos mercados se reportaron temperaturas entre 21.1°C a 24.9°C y humedad entre 65% a 88%. La mayor temperatura se reporta en una de las muestras, todas las porciones muestreadas contaminadas, siendo esta de 26.5°C y la humedad más alta se reporta en las muestras con dos porciones contaminadas, con un valor de 89%.

Gráfica 4. Clasificación de muestras contaminadas según el área muestreada en época lluviosa y época seca.



En total, se tomaron 19 muestras, (1 muestra por cada mercado) en la época seca y 19 en la época lluviosa. En la gráfica 4, se puede observar que 12 muestras tomando en cuenta ambas épocas, se encontraron contaminadas en la totalidad de las porciones muestreadas (arriba, en medio y abajo), de las cuales 6 fueron colectadas en la época lluviosa, 6 a la época seca y 2 de ellas se encontraron contaminados en ambas épocas.

Únicamente 3 del total de las muestras colectadas presentaron contaminación en la porción superior en ambas épocas. Para la parte media, se observaron 4 muestras contaminadas, y estas pertenecen únicamente a la época seca. En cuanto a las muestras con contaminación en la muestra colectada en la parte baja, se reportaron un total de 6 muestras. Se presentaron además muestras con contaminación tanto en la porción de la parte media como en la porción de la parte baja, representando un total de 5 muestras con este tipo de contaminación. La cantidad de muestras que no presentaron contaminación alguna en total fue de 8 mercados, 5 de ellas colectadas en la época lluviosa, 3 en la época seca y de estos una muestra presentó ausencia de contaminación en ambas épocas.

9. DISCUSIÓN

El clima presente en la ciudad capital (temperatura y humedad) durante la época lluviosa y seca, no presenta diferencias significativas en los valores reportados, ya que se mantienen en un rango general de entre 22.3-29.1 °C y una humedad de 65-89% durante ambas épocas.

La cantidad de agua existente en el ambiente y en los sustratos es uno de los factores determinantes para el desarrollo de *Aspergillus sp.* y la producción de aflatoxinas, ya que mientras tengan la humedad suficiente en ambas partes, ambiente y sustrato (uvas pasas), habrá una mayor probabilidad de presencia de aflatoxinas, puesto que se tendrán las condiciones de humedad necesarias para su proliferación. Según el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo de España en el año 2012, establece que, para el *Aspergillus sp.* la humedad en el ambiente necesaria para su crecimiento va de 60-90%, mientras que la humedad necesaria en el sustrato es de 9- 18%. Por otra parte, la temperatura óptima para el desarrollo de este hongo se encuentra entre 25 y 30°C y el límite máximo entre 40 y 45°C. Como se puede observar en la tabla 1, los valores de humedad y temperatura en ambas épocas se encuentran dentro de estos rangos, creando el ambiente propicio para el crecimiento y producción de aflatoxinas en las uvas pasas y la contaminación de las mismas, dando un resultado positivo para la presencia de aflatoxinas.

En cuanto a la presencia de aflatoxinas, como se puede ver en la tabla 1, más de la mitad de las muestras recolectadas en ambas épocas presentaron contaminación, observándose un comportamiento constante, sin embargo, al hacer una comparación entre estas épocas, se puede observar que hay más muestras contaminadas en la época lluviosa respecto a la seca, debido que existe mayor humedad en el ambiente.

Las aflatoxinas son un producto de desecho del *Aspergillus sp.*, las cuales pueden estar presentes sin estar el hongo. Por lo que, para las muestras con alguna o todas las porciones muestreadas contaminadas se puede deducir que pudieron haber estado contaminadas por *Aspergillus sp.* en algún momento o bien seguir estando contaminadas al momento de tomar las muestras, por lo que la muestra podría tener o no presencia de *Aspergillus sp.* aun dando un resultado positivo para aflatoxinas, ya que, la prueba utilizada para este estudio es específica para aflatoxinas y no determina la presencia o ausencia de *Aspergillus sp.* Si las condiciones ambientales y nutricionales son adecuadas, la cantidad de *Aspergillus sp.* presente en la muestra podría presentar una mayor proliferación y por lo tanto una mayor producción de aflatoxinas, al momento de proliferarse el hongo aumenta la probabilidad de estar presente en la totalidad o en la mayoría de porciones de las muestras tomadas.

La humedad en el sustrato es un punto crítico para la producción de aflatoxinas por presencia de *Aspergillus sp.*, durante la recolección de las muestras, se pudo observar que en algunos mercados estas estaban expuestas al ambiente y en contacto directo con el suelo, y en otros mercados las muestras se encontraban guardadas en bolsas plásticas, en lugares oscuros, húmedos y cerrados, ambas condiciones contribuyen al aumento de la humedad presente en el sustrato, ya que se encuentran en un ambiente con un porcentaje de humedad elevado, y a esto se le puede sumar el mal almacenamiento en los mercados, que crea las condiciones de humedad y temperatura propicias para que el hongo prolifere y se contamine la muestra.

En el caso de la época lluviosa, el contacto directo con el ambiente o con el suelo puede causar mayor humedad en el sustrato. En cuanto al ambiente, debido a que las uvas pasas se encuentran expuestas a la lluvia, esta puede caer sobre ellas y aumentar la humedad presente en la bolsa o saco que las contienen, y por lo tanto en el sustrato, además de tener contacto directo con la humedad ambiental generada durante o después de la lluvia.

En cuanto a los mercados con las muestras guardadas en bolsas, lugares oscuros y húmedos o en lugares en contacto directo con el suelo, podemos atribuir el aumento en la humedad, a un mal almacenamiento ya que, al no ser hermético, permite que la humedad ingrese y pueda existir una filtración a la bolsa o recipiente que contienen las uvas pasas, según sea el caso.

En cuanto a la época seca, para las muestras que se encuentran en contacto directo con el ambiente, están expuestas al aumento de temperatura por contacto directo con el sol, creando la temperatura idónea para que el hongo pueda proliferar, en el caso de los mercados con las muestras en bolsas o recipientes, al encontrarse en un sitio encerrado, tienden a tener un aumento en la temperatura, o bien, debido al calor y a la humedad presente en las pasas, se genera vapor, y este aumenta la temperatura y la humedad en el recipiente o bolsa, debido a las condiciones no herméticas en las que se encuentran.

Ninguno de los mercados muestreados cumplía con las condiciones mínimas de almacenamiento de las uvas pasas, tales como una temperatura y humedad controlada, en recipientes herméticos o en bolsas selladas adecuadamente.

En las gráficas 2 y 3, se pueden observar que la mayoría de los mercados presentan contaminación en al menos una de las 3 porciones de la bolsa muestreadas por mercado. Las muestras contaminadas en todas las porciones se encuentran dentro de los rangos de temperatura mayores, en ambas épocas, por lo que se puede inferir que esta contaminación es debida a las aptas condiciones de temperatura y humedad para el crecimiento del hongo y la producción de aflatoxinas. En estos casos, la principal fuente de contaminación son los factores ambientales, así como factores de manejo y almacenamiento de las uvas pasas, ya que la muestra está contaminada en su totalidad, pudiendo deberse a la proliferación propia del hongo, así como a la contaminación causada por la mala manipulación del producto.

Los mercados que tienen la contaminación en la porción superior de las muestras recolectadas, de igual manera que las muestras completamente contaminadas, puede atribuirse a las condiciones ambientales, así como a la mala manipulación del producto.

Algunos de los factores relacionados con la manipulación del producto al momento de recolectar la muestra son: el uso de un mismo utensilio para suministrar los diversos productos durante la venta, generalmente los granos y frutos secos, causando una posible contaminación cruzada y contaminando las uvas pasas, la manipulación con la mano de todos los productos, causando de igual manera una posible contaminación cruzada entre los productos, el mal almacenamiento de las uvas pasas, ya que en su mayoría, estos no se encontraban en su recipiente de origen (caja de cartón con bolsa cerrada).

Durante la recolección de las muestras se observó que en la mayoría de mercados el almacenamiento de las uvas pasas se realizaba en bolsas que se encontraban en contacto directo con el piso, cajas de plástico, en la caja de cartón, recipientes vacíos de otros productos, bolsas abiertas y el lugar de almacenamiento generalmente era en lugares oscuros y húmedos.

En las gráficas 2 y 3, se observó que la mayor parte de la contaminación ocurre de la parte baja hacia arriba, o bien se encuentra aislada en la parte media, estas muestras no tienen contacto directo con el ambiente o bien con la manipulación inadecuada del producto, por lo que la contaminación no puede atribuirse directamente a las condiciones ambientales y de almacenamiento en el lugar muestreado. Sin embargo, la mala manipulación de la muestra al momento de despachar, puede ser la causa de este comportamiento de contaminación observado, ya que en los mercados en donde las uvas pasas se encontraban almacenadas en recipientes diferentes al empaque original o en bolsas, generalmente realizaban agitación del frasco o bolsa en donde estaba la muestra, o bien con el cucharón servidor realizaban una homogenización en el frasco o caja, provocando que las pasas de la superficie, las cuales están en contacto con el ambiente y el cucharón, quedaran dispersas por todo el recipiente.

Otro motivo de este tipo de contaminación podría ser la presencia de zonas de micoflora, causando una contaminación aislada en un área alejada de la superficie.

A esto se le puede sumar también un posible problema de infiltración o acumulación de humedad en la parte inferior ya que la caja o bolsa en donde están contenidas las pasas se encuentra en contacto directo con el piso en la mayoría de los casos, creando las condiciones necesarias para que el hongo crezca y produzca aflatoxinas.

Un factor importante a tomar en cuenta es que las muestras que presentan la contaminación aislada o de la parte inferior hacia arriba, podría deberse a la mala manipulación durante la producción y el almacenamiento del producto a granel, o bien el mal almacenamiento durante su distribución a los diferentes proveedores.

10. CONCLUSIONES

1. De las muestras recolectadas en las dos épocas, seca y lluviosa, treinta de treinta y ocho muestras presentaron contaminación de aflatoxinas en alguna de las porciones muestreadas.
2. Las condiciones de almacenamiento y manipulación identificadas en el estudio fueron: almacenamiento en lugares húmedos, en contacto directo con el suelo, en recipientes diferentes a su empaque de origen; manipulación con los mismos instrumentos utilizados para servir otro tipo de productos o agitar y homogenizar el producto con la mano antes de tomar la muestra.
3. La mayoría de las muestras presentaron contaminación de abajo hacia arriba, por lo que se puede suponer que la contaminación es causada por la inapropiada manipulación y el mal almacenamiento (temperatura desde 22.3 hasta 29.1°C y humedad entre el 65 y 89%), de las uvas pasas ya que estos brindan los recursos necesarios al *Aspergillus sp.* para su proliferación y por lo tanto la producción de aflatoxinas, las cuales pueden estar presentes aun cuando el hongo ya no se encuentra.
4. La contaminación de las uvas pasas es propensa a darse en ambas épocas, sin embargo, se presentó una mayor contaminación en la época lluviosa respecto a la época seca.

11. RECOMENDACIONES

Realizar un estudio y muestreo a las uvas pasas a granel de los mayores proveedores de pasas del país, con el fin de asegurar que la contaminación no provenga desde esa fuente.

Realizar una investigación muestreando cajas de producto terminado en diferentes porciones antes de su distribución para lograr comprobar que las uvas pasas no están contaminadas desde su distribución.

Regular la manipulación y almacenamiento de las muestras en los mercados de la ciudad capital con el fin de reducir la probabilidad de contaminación de las uvas pasas.

Crear ambientes apropiados con la temperatura y humedad necesarios para mantener el mínimo de condiciones de proliferación de *Aspergillus sp.* capacitando a las personas que distribuyen y dispensan las uvas pasas.

Informar al departamento de regulación de alimentos del Ministerio de Salud y Asistencia Social sobre los resultados obtenidos.

12. REFERENCIAS

- Abarca, M., Bragulat, M., Castellá, G., Accensi, F., & Cabañes, J. (2000). Hongos productores de micotoxinas emergentes. *Revista Iberoamericana de Micología*, 63-68.
- Acuña, N., Salinas, P., & Vásquez, N. (2014). Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en Mercados de Trujillo (Perú). *REBIOLEST*, 1-7.
- Agroalimentaria, F. V. (2013). *Aflatoxinas*. elika.
- Bogantes, P., Bogantes, D., & Bogantes, S. (2004). Aflatoxinas. *Acta Médica Costarricense*, 25-30.
- Bolet, M., & Socarrás, M. (2005). Micotoxinas y cáncer. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 161-170.
- Botanical. (2012). *Botanical Online*. Obtenido de Vid (*Vitis vinifera*): <http://www.botanical-online.com/medicinalesvid.htm>
- Botanical. (2012). *Propiedades de las pasas* . Obtenido de <http://www.botanical-online.com/pasas.htm>
- Carrillo, L., & Molina, G. (2007). *Micotoxinas*. Obtenido de <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/9%20micotoxinas.pdf>
- Carvajal, M. (12 de Julio de 2013). Boletín UNAM-DGCS-420. *Asocian diversos tipos de cancer con alimentos contaminados por aflatoxinas* . México: Universidad Nacional de México .
- Contreras, R., & Florez, W. (2009). Determinación de Aflatoxinas en Alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander. *Revista Bistua*, 20-32.

- Cultek. (Febrero de 2006). *Fundamentos y tipos de ELISAs*. Obtenido de <http://www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-protocolos.pdf>
- Duarte, S., & Villamil, L. (2006). Micotoxinas en la Salud Pública. *Revista de Salud Pública*, 129-135.
- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria. (28 de Febrero de 2013). *Sustancias Indeseables*. Obtenido de Aflatoxinas B1: <https://agrinews.es/wp-content/uploads/2014/04/Aflatoxina-1.pdf>
- Guzmán, E. (2004). Las pruebas de ELISA. *Gaceta Médica de México*, 48-.
- Martínez, M., Vargas, L., & Gómez, V. (2013). Aflatoxinas: incidencia, impactos en la salud, control y prevención. *Biosalud*, 89-109.
- Medina, J., & Castillo, E. (2000). Determinación de micotoxinas por medio de ensayos inmunoquímicos. *Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura*.
- Municipalidad de Guatemala. (2004). *Muniguate*. Obtenido de Mercados Municipales : <http://mu.muniguate.com/index.php/component/content/article/3-mercados/177-mercadosmunicipales>
- Orellana, L. (2001). Estadística Descriptiva. Argentina.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. (2004). *Regalmentos a nivel mundial para las micotoxinas en los alimentos y en las raciones en el año 2003*. Italia: FAO.
- Pascual, A., & Calderón, V. (2000). *Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas*. Madrid: Editoria Díaz de Santos, S.A.
- Reyes, C., & Vásquez, G. (2013). El Género *Aspergillus* y sus Micotoxinas en Maíz en México; Problemática y Perspectivas. *Revista Mexicana de fitopatología*.
- Santos, O. (2007). Impotancia y Efectos de la Aflatoxina en los seres humanos. Bucaramanga, Universidd Autonoma de Bucaramanga.

Santos, O. (s.f.). Importancia y Efectos de la Aflatoxina en los seres humanos. *Microbiología de los Alimentos*, 1-9.

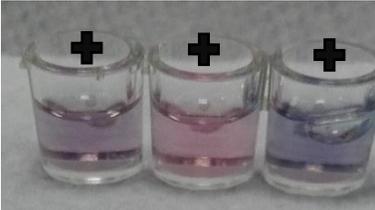
Suarez, D. (2003). *Guía de procesos para la elaboracion de néctares, mermeladas, uvas pasas y vinos*. Bogotá: Convenio Andrés Bello.

Zumbado, C., Ulloa, M., & Rojas, G. (2014). Aflatoxina B1 y su relación con el cáncer Hepático. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamerica* , 637-641.

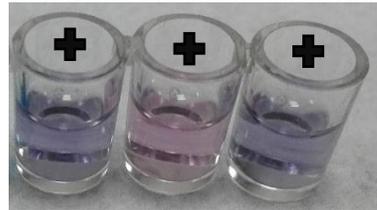
13. ANEXO

A. Resultados prueba de Aflatoxinas

MERCADO CENTRAL

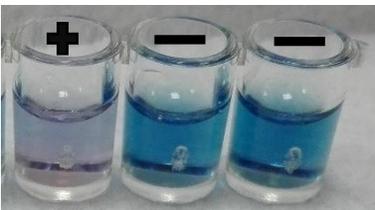


Verano

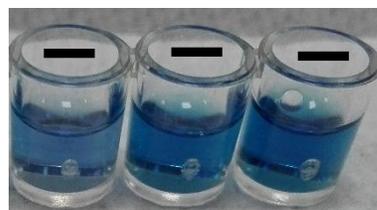


Invierno

MERCADO LA TERMINAL

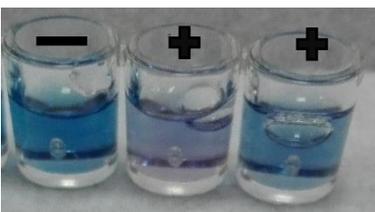


Verano

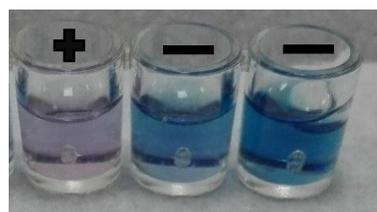


Invierno

MERCADO SUR DOS

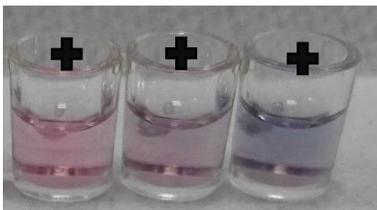


Verano

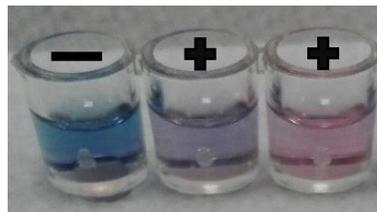


Invierno

MERCADO SATÉLITE 27 CALLE

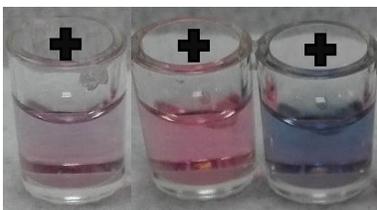


Verano

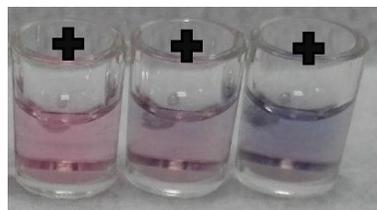


Invierno

MERCADO COLÓN



Verano

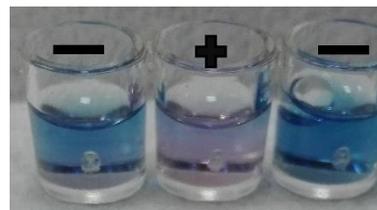


Invierno

MERCADO SATÉLITE GERONA

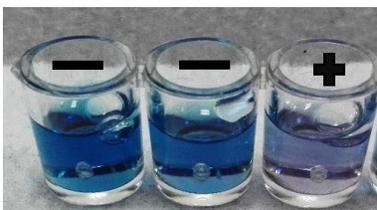


Verano

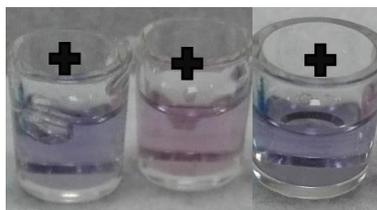


Invierno

MERCADO LA PARROQUIA

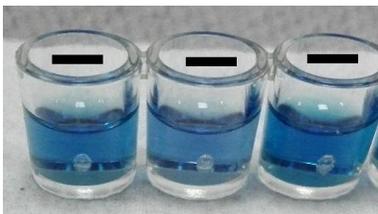


Verano

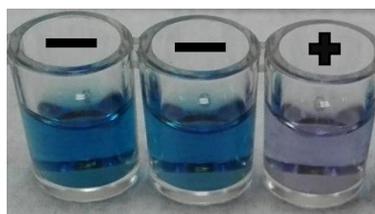


Invierno

MERCADO SATÉLITE 3 DE MAYO

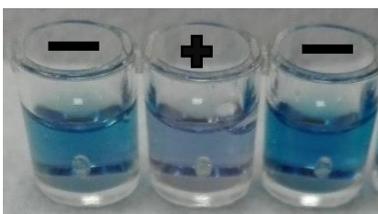


Verano



Invierno

MERCADO CERVANTES

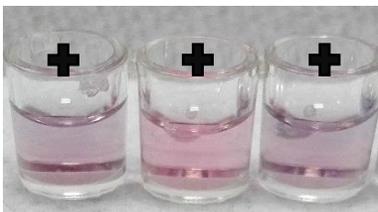


Verano

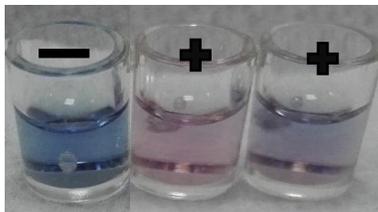


Invierno

MERCADO LA PALMITA

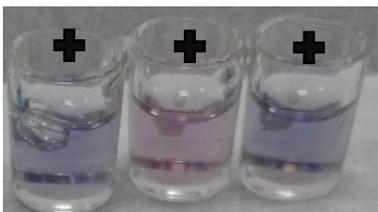


Verano

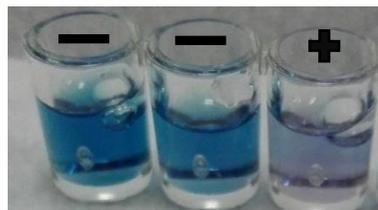


Invierno

MERCADO LA VILLA

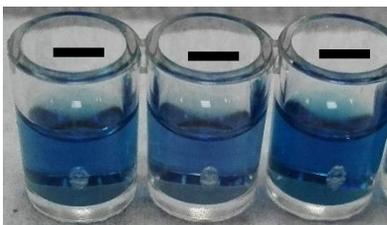


Verano

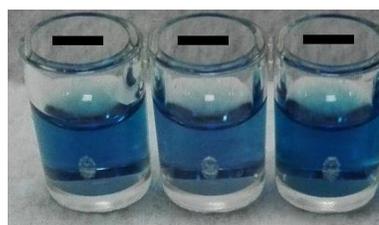


Invierno

MERCADO SATÉLITE CANTÓN 21

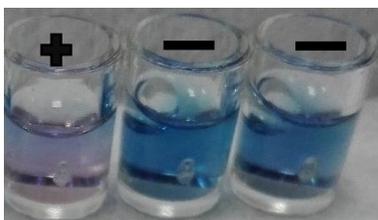


Verano

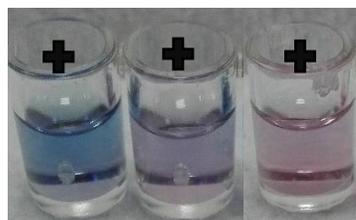


Invierno

MERCADO SAN MARTÍN DE PORRES

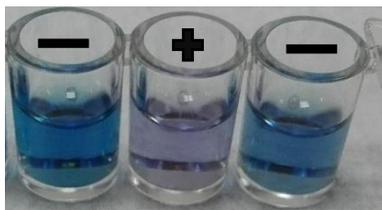


Verano

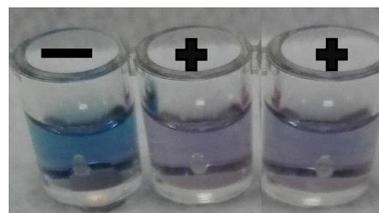


Invierno

MERCADO LA FLORIDA

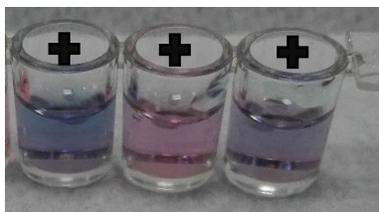


Verano

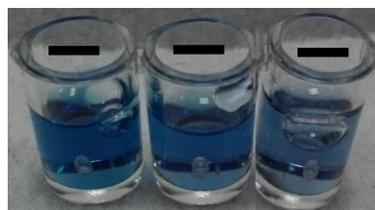


Invierno

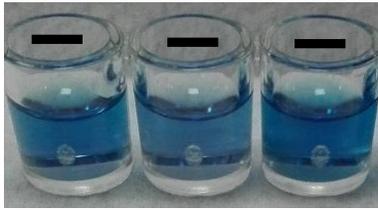
MERCADO CANDELARIA



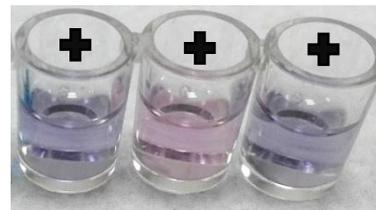
Verano



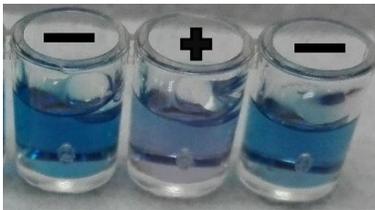
Invierno

MERCADO LA ASUNCIÓN

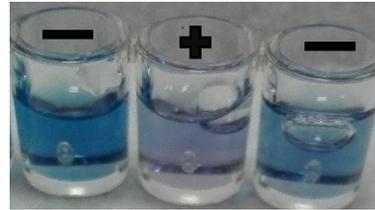
Verano



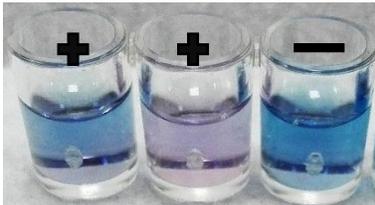
Invierno

MERCADO SATÉLITE CANDELARIA

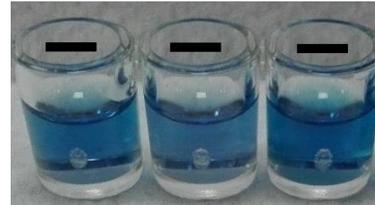
Verano



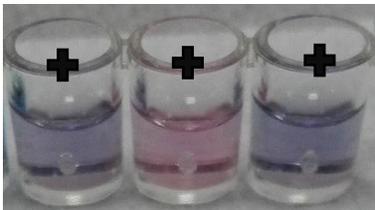
Invierno

MERCADO ROOSEVELT

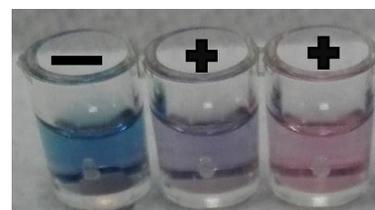
Verano



Invierno

MERCADO SATÉLITE 12 AVENIDA

Verano



Invierno



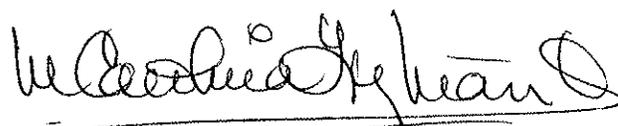
María José Salazar Ordóñez

Autor



Lic. Julio Gerardo Chinchilla Vettorazzi

Asesor



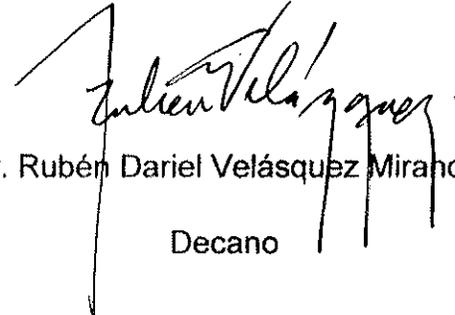
M.Sc. Miriam Carolina Guzmán Quilo

Revisora



M.A. Hada Marieta Alvarado Beteta

Directora de Escuela



Dr. Rubén Daríel Velásquez Miranda

Decano