UNIVERSIDAD PERUANA DE CIENCIAS APLICADAS

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA ACADÉMICO DE NUTRICIÓN Y DIETÉTICA

Cuantificación de Aflatoxinas en *Arachis hypogaea* (maní) envasado y a
granel comercializado en los mercados de tres distritos de Lima

TESIS

Para optar el título profesional de Licenciado en Nutrición y Dietética

AUTOR(ES)

Aguilar Canales, Anita Teresa del Consuelo (0000-0002-8672-4282)

Pillaca Lopez, Gemma Fabiola (0000-0001-6042-3142)

ASESOR(ES)

Medina Pizzali, María Luisa (0000-0002-9288-1794)

Lima, 04 de febrero de 2020

DEDICATORIA

A la comunidad estudiantil para que este trabajo sirva de referencia en la búsqueda de información de este tema.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al PhD. Pohl Milón, por el tiempo compartido y la gestión realizada para el apoyo de materiales y equipos empleados en esta investigación. Asimismo, agradecemos a todo el personal del Laboratorio de Bioquímica y Biofísica Aplicada del Centro de Investigación e Innovación-UPC, que compartió desinteresadamente sus conocimientos con nosotras y a Katherin Peñaranda por guiarnos desde el inicio con este proyecto de investigación. Finalmente, agradecemos a M.Sc María Luisa Medina por asesorarnos y a Dios porque fue Él, el que finalmente hizo que todo sea posible.

RESUMEN

Objetivo: Este estudio tuvo como finalidad cuantificar el contenido de aflatoxinas totales (AF) en el maní tostado, a granel y envasado, expendido en los mercados de tres distritos de Lima Metropolitana. **Materiales y métodos:** La cuantificación de AF se realizó mediante un kit de detección rápida: RIDASCREEN®FAST Aflatoxin total. El nivel máximo de AF establecido por el *Codex Alimentarius* fue usado como criterio de evaluación para las muestras. **Resultados:** De las 18 muestras analizadas solo una arrojó resultados por encima del límite de 15 µg/kg; la muestra pertenecía al distrito de San Luis y su nivel de AF fue de 60 µg de aflatoxina/kg maní. Ninguna de las muestras de maní envasado arrojó niveles cuantificables de AF. **Discusión:** Los resultados del estudio indican que en general, existen bajos niveles de AF en el maní tostado expendido en los distritos incluidos en estudio. No obstante, debido al alto riesgo de salud relacionado con la ingesta de productos contaminados con AF, el personal de salud debe sopesar la indicación del consumo frecuente de maní tostado y/o productos derivados del mismo, hasta que las autoridades pertinentes realicen las evaluaciones sanitarias correspondientes. **Conclusión:** En líneas generales, el maní expendido en los tres distritos de estudio no superó el límite permitido por el *Codex Alimentarius*. No obstante, se encontró un caso aislado, el cual cuadruplicaba este límite, siendo un gran riesgo para el consumidor. Consideramos necesario realizar estudios adicionales que evalúen los niveles de AF en otros distritos de Lima Metropolitana.

Palabras clave: Aflatoxinas; maní; inmunoensayo, exposición dietética

**Quantification of Aflatoxins in packaged and bulk sale of *Arachis hypogaea* (peanuts)
in the markets of three districts of Lima**

ABSTRACT

Objective: The purpose of this study was to quantify the total aflatoxins levels (AF) in roasted, bulk and packaged peanuts, sold in markets of three districts of Metropolitan Lima. **Materials and methods:** The AF levels determination was performed using a rapid detection kit: RIDASCREEN®FAST Aflatoxin total. In this study, we used the maximum AF level set by the *Codex Alimentarius* as an evaluation criterion for the samples. **Results:** Only one out of 18 samples surpassed the 15µg/kg limit; the sample belonged to the district of San Luis and contained 60 µg of aflatoxin/kg of peanut. None of the packaged peanut samples yielded measurable AF concentrations. **Discussion:** In general, the results of this study showed that roasted peanuts distributed in the markets of three districts of Lima have low levels of AF. However, considering the adverse health risk associated with the intake of products contaminated with AF; health personnel should be cautious about recommending frequent consumption of roasted peanuts and/or peanut products until appropriate safety assessments are carried out by the authorities on this product. **Conclusions:** Overall, peanuts distributed in three districts of Lima did not exceed the limit set by the *Codex Alimentarius*. However, we found high levels of AF in an isolated case, which showed four times this limit, involving a considerable health risk to the consumer. Further studies are needed to assess the AF levels of peanuts in other districts of Lima.

Keywords: Aflatoxins; peanut; immunoassay, dietary exposure

TABLA DE CONTENIDO

1	CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO	9
2	CAPITULO 2: OBJETIVOS	11
2.1	OBJETIVO GENERAL	11
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3	CAPITULO 3: METODOLOGIA.....	12
3.1	DISEÑO DE ESTUDIO.....	12
3.2	POBLACIÓN.....	12
3.3	CRITERIOS DE SELECCIÓN	12
3.3.1	Criterios de inclusión.....	12
3.4	MUESTREO Y TAMAÑO DE MUESTRA.....	12
3.4.1	Tamaño de muestra.....	12
3.4.2	Muestreo	13
3.5	VARIABLES.....	13
3.5.1	Variable dependiente	13
3.5.2	Variables Independientes.....	13
3.5.3	Cuadro de variables	13
3.6	PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE MUESTRAS	14
3.6.1	Recolección de muestras a granel.....	14
3.7	ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS MEDIANTE INMUNOENSAYO RIDASCREEN.....	15
3.7.1	Preparación de las muestras.....	15
3.7.2	Extracción y filtración de las muestras.....	15
3.7.3	Diseño de la Placa	15
3.7.4	Utilización del KIT ELISA	16
3.7.5	Determinación de la absorbancia.....	16
3.7.6	Elaboración de la curva de calibración.....	17
3.7.7	Determinación de la concentración de aflatoxinas	18
3.8	EVALUACIÓN OBSERVACIONAL DE LOS MERCADOS Y PUESTOS.....	18
3.9	PLAN DE MANEJO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	18
4	CAPITULO 4: RESULTADOS	19
5	CAPITULO 5: DISCUSION	24

6	CAPITULO 6: LIMITACIONES.....	27
7	CAPITULO 7: CONCLUSIONES.....	27
8	CAPITULO 8: RECOMENDACIONES	28
9	REFERENCIAS	28
10	ANEXOS.....	36

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tamaño de muestra	12
Tabla 2. Variables de estudio	13
Tabla 3. Mercados analizados	14
Tabla 4. Diseño de Placa	15
Tabla 5. Valores de las absorbancias de los estándares utilizados leídas en multiscan a 450 nm	17
Tabla 6. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní comercializados en los mercados de La Molina	19
Tabla 7. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní comercializados en los mercados de San Luis	20
Tabla 8. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní comercializados en los mercados de Magdalena	21
Tabla 9. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní de las marcas comerciales seleccionadas	22
Tabla 10. Mercados analizados bajo observación directa	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Flujograma de procesos ensayo ELISA	16
Figura 2. Curva patrón para la determinación de la concentración de Aflatoxinas totales. 18	
Figura 3. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní tostado comercializado en La Molina.	20
Figura 4. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní tostado comercializado en San Luis.	21
Figura 5. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní tostado comercializado en Magdalena	22
Figura 6. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní envasado.	23

1 CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO

Las aflatoxinas (AF) son micotoxinas sintetizadas por los hongos *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nomius*.(1) Son insípidas, incoloras e inodoras; estables en los alimentos y resistentes a la degradación bajo procedimientos de cocción normales (2). Existen 18 tipos de AF, de las cuales destacan las cepas B1, B2, G1 G2, M1 y M2; siendo B1 (AFB1) la más tóxica e importante por su eminente potencial cancerígeno (1,3,4). En estado agudo, la ingesta de AF (5), puede llegar a toxificar órganos específicos como riñón, corazón e hígado (6,7). Mientras que en su estado crónico, aún a dosis sub-letales produce cambios perjudiciales asociados a desnutrición proteica (8), inmunosupresión (9) e incluso carcinogénesis.(4) (10)

Desde su descubrimiento, numerosas investigaciones han revelado que la exposición a AFB1 es uno de los principales factores en el desarrollo de hepactocarcinoma (HCC) (11,12). Por ello, desde el 2002 la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) la incluyó dentro del Grupo 1 de cancerígenos(13); efecto que se explicaría por la formación de aductos inductores de neoplasias en el ADN (13). Además, en personas expuestas a AF el virus de la hepatitis B podría aumentar 30 veces el riesgo de HCC. (14)

Aunque, el cáncer hepático es uno de los resultados más graves de la exposición a esta micotoxina, existen otros conflictos de salud relacionados con las AF que preocupan a nivel mundial (5). Con respecto a lo anterior, en el 2013, Sánchez realizó una investigación en 50 gestantes colombianas, concluyendo que una dieta rica en productos con alta sospecha de AF estaría condicionando la presencia de estas en la leche materna (LM). (15) Por otra parte, estudios demuestran que la exposición a este tóxico por medio de la LM y/o la ingestión de alimentos contaminados desde muy temprana edad, podrían causar retardo del crecimiento en niños (16,17), supresión inmunológica, especialmente en la respuesta inmunológica mediada por células(18) y efectos adversos sobre el sistema reproductivo (19).

Según la “Food and Drug Administrations” (FDA) de los Estados Unidos, el límite máximo permisible (LMP) para el contenido de AF totales en alimentos es de 20 µg/kg. (16) Por el contrario, la Unión Europea establece un rango de 4 a 15 µg/kg,

dependiendo del tipo de alimento (20). No obstante, en el Perú, no existe una normativa específica que indique el LMP; sin embargo, el *Codex Alimentarius* determina que el contenido máximo sea de 15 µg/kg(21). En 2012, SENASA estableció el “Programa Nacional De Monitoreo De Contaminantes En Alimentos Agropecuarios Primarios Y Piensos” (22); pese a ello, hasta el momento los planes anuales realizados no han contemplado la evaluación de AF en el maní, y el monitoreo de 2018 solo evaluó muestras de paprika, nueces de Brasil, maíz amarillo duro y torta de soya. (23)

El maní es una oleaginosa que suele ser considerada popularmente como “fruto seco”(24). Dentro de la gastronomía local, este grano sirve como ingrediente de diversas preparaciones (patita al maní, carapulcra, ocopa, ají de gallina, entre otras) siendo consumido cocido o tostado, con sal o sin sal, con o sin azúcar(25). Desde el punto de vista nutricional, las semillas de maní contribuyen de forma importante a la dieta en muchos países (26,27).

Esta oleaginosa se caracteriza por contener entre un 25-28% de proteínas y 50-55% de lípidos con predominancia de ácido oleico (45-50%) y ácido linoleico (30-35%), además provee fibra, fósforo, magnesio, niacina, vitamina E y fitoesteroles (28). Con respecto a los lípidos insaturados presentes en el maní, diversos estudios han descrito los efectos del consumo de a. oleico y linoleico en la disminución de la fracción de colesterol LDL siendo confirmados tanto en mujeres hipercolesterolémicas y postmenopáusicas, como en hombres y mujeres normolipémicos (29–32). Por esta razón, dentro de la comunidad de nutricionistas, este grano se presenta como una opción de snack recomendado y/o empleado en regímenes de pacientes con colesterolemia, deportistas y niños en crecimiento.

No obstante, el cultivo de maní se lleva a cabo en las regiones tropicales y semitropicales, en donde el clima favorece el crecimiento de los hongos productores de AF (33). La presencia de esta micotoxina está asociada, tanto a las condiciones de almacenamiento inadecuadas, como a la contaminación del producto en el campo (34). Por lo anterior, el informe de la IARC 2016 insta a tomar medidas contra la AF en países en desarrollo en los que las regulaciones son frágiles y el monitoreo escaso.(35) Pese a que el Perú cuenta con la Ley de Inocuidad de los Alimentos (N°1062) (36) y

un plan anual de monitoreo de contaminantes en alimentos, no se han encontrado reportes de vigilancia de AF en el maní, por parte de los entes reguladores correspondientes(23).

Puesto que las investigaciones sobre AF indican que la exposición humana a niveles de nanogramos a microgramos por día, ocurren principalmente a través del consumo de maní(37). El estudio del contenido AF en el maní que se expende en Perú se considera de gran importancia en el ámbito de la investigación. Considerando que la contaminación con AF es silenciosa y puede presentarse de forma temprana en la vida, pudiendo tener consecuencias en la madre, en el feto y más adelante en el lactante, el objetivo del presente estudio es cuantificar el contenido de AF totales en el maní envasado y a granel expendido en los distritos de Magdalena, San Luis y La Molina, con el fin de determinar si su consumo pone en riesgo a los consumidores de este producto.

2 CAPITULO 2: OBJETIVOS

2.1 **Objetivo General**

Cuantificar el contenido de aflatoxinas totales en el maní envasado y a granel comercializado en mercados de los distritos: Magdalena, San Luis y La Molina.

2.2 **Objetivos Específicos**

Detectar la presencia de aflatoxinas totales en las muestras de maní envasadas y a granel.

Cuantificar el contenido de aflatoxinas totales.

Confrontar los resultados obtenidos en las muestras con el nivel máximo de aflatoxinas totales establecido por el *Codex Alimentarius*.

3 CAPITULO 3: METODOLOGIA

3.1 Diseño de estudio

Estudio transversal, observacional y exploratorio de laboratorio realizado en mercados de los distritos: Magdalena, San Luis y La Molina de Lima Metropolitana.

3.2 Población

La población estudiada corresponde a muestras de maní a granel y envasadas de los mercados de los distritos: Magdalena, San Luis y La Molina. Las muestras de estudio corresponden a granos de maní tostados y expendidos directamente a los consumidores finales, en centros de abasto minorista.

3.3 Criterios de selección

3.3.1 Criterios de inclusión

Muestras de maní tostado a granel comercializados en los mercados de estudio.

Se tomó como muestra envasada a toda aquella proveniente de las marcas con mayor participación en el mercado peruano (38–43) , en empaques adecuadamente rotulados con: registro sanitario, lote de producción, fecha de vencimiento, entre otros según la NTP 209.038:2009(44).

3.4 Muestreo y tamaño de muestra

3.4.1 Tamaño de muestra

Para establecer el tamaño de muestra se recolectaron los datos del Censo Nacional de Mercado de Abastos 2016 (45). Como se demuestra en la siguiente tabla se escogió una fracción muestral de $\frac{1}{2}$ del total de mercados de cada uno de los tres distritos: Magdalena (8 mercados), La Molina (8 mercados) y San Luis (15 mercados). Se obtuvo un total de 15 muestras considerando que la unidad muestral es el mercado.

Tabla 1. Tamaño de muestra

Distritos de Estudio	Número de Mercados por Distrito			
	Magdalena	San Luis	La Molina	Total
Tamaño de la población	8	15	8	-
Fracción muestral	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	-
Tamaño final de muestra	4	7	4	15

3.4.2 Muestreo

Se realizó un muestreo estratificado de los mercados según la ubicación geográfica de cercanía al mar en Lima Metropolitana. Los estratos correspondieron a los distritos: San Luis (SL), La Molina (LM) y Magdalena (MG); los cuales se diferencian en condición climática por ubicarse: cerca, medio y lejos del mar peruano respectivamente (46).

3.5 Variables

3.5.1 Variable dependiente

El nivel de aflatoxinas totales (AF) en las muestras se determinó con el kit RIDASCREEN® FAST aflatoxin a través de un inmunoensayo enzimático competitivo (ELISA) (47). Para determinar la presencia de la micotoxina se empleó un espectrofotómetro de microplaca para la cuantificación por colorimetría.

3.5.2 Variables Independientes

3.5.2.1 Variable Independiente 1: El tipo de presentación se categorizó de acuerdo con la presentación de las muestras de maní al momento de su recolección encontrándose a granel o envasada

3.5.2.2 Variable Independiente 2: La variable secundaria en este estudio fue la procedencia según distrito de Lima Metropolitana: Magdalena, San Luis y La Molina.

3.5.3 Cuadro de variables

Tabla 2. Variables de estudio

Variable Dependiente	Tipo de Variable	Sub tipo	Escala de Medición	Definición de variable	Indicador	Técnica
Nivel de Aflatoxina totales	Numérica	Politómica	Nominal	Contenido de aflatoxinas	µg/kg	ELISA – Colorimetría
Variable Independiente	Tipo de Variable	Sub tipo	Escala de Medición	Definición de variable	Indicador	Técnica
Tipo de presentación	Categórica	Dicotómica	Nominal	Tipo	Granel Envasada	-
Procedencia	Categórica	Politómica	Nominal	Lugar	Magdalena San Luis La Molina	-

3.6 Procedimiento de Recolección de Muestras

La recolección de muestras se realizó en los mercados de los distritos de Magdalena, San Luis y La Molina (ver tabla 3). Las muestras de maní tostado a granel fueron recogidas en los puestos de expendio de cada mercado, las muestras de maní envasado fueron compradas en una tienda a conveniencia.

Tabla 3. Mercados analizados

Lugar de recolección de muestras	Código
La Económica	M1 SL
Señor de los Milagros	M2 SL
Mercado del Aire	M3 SL
Mercado Unión	M4 SL
Santa Rosa La Viña	M5 SL
Mercado Villa Jardín	M6 SL
Mercado Royal	M7 SL
El Edén	M1 LM
Santa Rosa	M2 LM
Las Cascadas	M3 LM
Las Acacias	M4 LM
Mercado de Magdalena	M1 MG
Mercado Ramón Castilla	M2 MG
Mercado Castilla	M3 MG
Mercado Nueva Magdalena	M4 MG
Marca 1	E1 CH
Marca 2	E2 CH
Marca 3	E4 CH

3.6.1 Recolección de muestras a granel

En cada mercado, se recolectaron 100g de submuestras por cada stand abierto que vendiera maní tostado sin sal peruano, para ello se emplearon bolsas de polietileno con cierre hermético individuales (ziplocs), etiquetadas y selladas con el menor contenido de aire. Posteriormente, se mezclaron las submuestras obtenidas de cada mercado y se almacenaron en una congeladora del laboratorio a -70°C en tubos falcon de 50mL estériles. Se empleó un termostato para determinar la temperatura al momento de la recolección.

Las tres muestras envasadas fueron recolectadas en una tienda a conveniencia. Posteriormente, se procesaron las muestras según las técnicas sugeridas por el método RIDASCREEN° FAST aflatoxin en el laboratorio de Investigación de la Facultad de Ciencias de la Salud en la Universidad de Ciencias Aplicadas Sede Villa, Chorrillos.

3.7 Análisis de las muestras mediante inmunoensayo RIDASCREEN

3.7.1 Preparación de las muestras

Luego de recolectar las muestras estas fueron almacenados a -70°C , posteriormente se trituraron empleando morteros de granito. Con la finalidad de minimizar el riesgo de contaminación cruzada, durante el procesamiento de cada muestra se llevó a cabo una higienización profunda del material utilizado. (mortero, cucharas, pinzas, etc.). Dichos lavados fueron efectuados en el siguiente orden: lejía (10min), etanol y agua ultra pura autoclavada. Una vez triturada la muestra, está fue nuevamente almacenada a -70°C .

- Tiempo total por cada muestra: 30 min
- Tiempo total para preparación de materiales: 1 hora y 20 min: para preparar agua, tubos falcon autoclavados y lejía al 10%.

3.7.2 Extracción y filtración de las muestras

Posterior al triturado de las muestras, se realizó la extracción. Se pesó 5g de muestra molida y se le agregó 25 mL de metanol al 70%. Luego, se agitó en un agitador vortex por 3 min para obtener las muestras homogeneizadas. El sobrenadante se filtró a través de papel de filtro Whatman n°1, se colocaron en tubos falcon esterilizados de 15 mL y finalmente se almacenaron 4°C hasta su análisis. Por cada muestra, se realizó un lavado profundo de los materiales (embudo de vidrio, beakers, pinzas, etc.).

- Tiempo total por cada muestra: 40 min
- Tiempo total por preparación de materiales: 1 hora y 30 min; para preparar agua ultra pura autoclavada, tubos falcon esterilizados, metanol al 70% y lejía al 10%.

3.7.3 Diseño de la Placa

Una vez obtenida la muestra filtrada se almacenó y se procedió a realizar el diseño de la placa ELISA para definir la posición de cada muestra por duplicado y de los cuatro estándares. Como se aprecia en la imagen la placa consto de seis filas enumeradas y ocho columnas ordenadas por letras siguiendo esta distribución:

Tabla 4. Diseño de Placa

	1	2	3	4	5	6
A	M1 SL	M2 SL	M3 SL	M4 SL	M5 SL	M6 SL
B	duplicado fila A	duplicado fila A	duplicado fila A	duplicado fila A	duplicado fila A	duplicado fila A
C	M7 SL	M1 LM	M2 LM	M3 LM	M4 ML	M1 MG
D	duplicado fila C	duplicado fila C	duplicado fila C	duplicado fila C	duplicado fila C	duplicado fila C
E	M2 MG	M3 MG	M4 MG	E1	E2	E4
F	duplicado fila E	duplicado fila E	duplicado fila E	duplicado fila E	duplicado fila E	duplicado fila E
G	Blanco	S1	S2	S3	S4	S5
H	duplicado fila G	duplicado fila G	duplicado fila G	duplicado fila G	duplicado fila G	duplicado fila G
		0ug/kg	1.7ug/kg	5ug/kg	15ug/kg	45ug/kg

3.7.4 Utilización del KIT ELISA

El kit empleado se basa en una prueba de ELISA competitivo. Los pocillos de la placa contienen anticuerpos de captura inmovilizados, los cuales están sensibilizados a anticuerpos anti-aflatoxinas. Al agregar las muestras y el conjugado aflatoxina-enzima, la aflatoxina libre y la enzima conjugada compiten por los sitios de unión de los anticuerpos anti-aflatoxinas que a la vez se unen a los anticuerpos de captura. Las enzimas conjugadas no unidas, se eliminan con el lavado. Al agregar el sustrato/cromógeno a los pocillos, los conjugados unidos transforman el cromógeno en un color azul. Mientras que al adicionar la solución stop, convierte los conjugados en amarillo. El espectrofotómetro indica la absorbancia de las muestras, la cual es inversamente proporcional a la concentración de aflatoxinas totales(48).

Previamente a la utilización del KIT, se realizó un ensayo piloto para mejorar la precisión y reducir errores. Se utilizó una placa ELISA, sólo con agua destilada. Posterior a ello, se realizó el ensayo siguiendo los pasos que sugiere el protocolo del KIT (ver figura 1).

3.7.5 Determinación de la absorbancia

Se utilizó un espectrofotómetro para placas portapocillos con una longitud de onda a 450 nm para determinar la absorbancia de las muestras. La lectura de los datos se realizó en el transcurso de los diez primeros

Figura 1. Flujograma de procesos ensayo ELISA

minutos a fin de evitar alteraciones en las lecturas espectrofotométricas de la absorbancia.

3.7.6 Elaboración de la curva de calibración

Para la cuantificación de la concentración de aflatoxinas es necesario construir una curva de calibración con los estándares del Kit empleado. RIDASCREEN AFLATOXIN FAST permite cuantificar la totalidad de las especies de aflatoxinas que contiene un determinado producto. Esta cuantificación se realiza mediante espectrofotometría, razón por la cual el kit trae 4 estándares que permiten la construcción de una curva patrón. No obstante, es importante mencionar que el standard con menor límite de detección es de 1.7ug/kg de aflatoxinas totales, por lo que las muestras con menor contenido no pueden ser cuantificadas por este kit.

La curva de calibración para este estudio fue construida a partir de concentraciones de 0, 1.7, 5, 15, 45 µg/kg de aflatoxina. Los valores de absorbancia que se obtuvieron (tabla 5), en comparación a los valores reportados por el kit RIDASCREEN FAST Aflatoxin, son muy cercanos, ya que se maneja un coeficiente de variación no superior a 0.34, lo que indica un grado de variabilidad bajo y homogeneidad en los valores.

Tabla 5. Valores de las absorbancias de los estándares utilizados leídas en multiscan a 450 nm

Estándar	Concentración de Aflatoxinas totales estándares (µg/Kg)	Absorbancia	CV*	Valor calculado (ppb)	% DE**
1	0	2.106	0.04	***	0.26
2	1.7	1.867	0.04	1.4	0.86
3	5	1.530	0.06	7.5	0.42
4	15	1.314	0.34	12.1	0.25
5	45	0.440	0.11	45.6	0.12

*CV: coeficiente de variación entre la absorbancia del certificado de calidad del kit y absorbancia obtenida en prueba.

**DE: desviación estándar de la medición L1, L2, L3 en lectora ELISA.

***Fuera del límite de detección del kit.

Figura 2. Curva patrón para la determinación de la concentración de Aflatoxinas totales.

3.7.7 Determinación de la concentración de aflatoxinas totales

Una vez generada la curva patrón se procedió a generar una ecuación de la recta hallada. El fundamento del kit utilizado indica que la relación de la absorbancia obtenida es inversamente proporcional a la concentración de aflatoxinas totales en la muestra, por lo que para el establecimiento de la curva patrón se llevaron las absorbancias a base logarítmica, generando una ecuación de recta que al reemplazar el valor de “Y” con las absorbancias halladas arrojó un valor de “X” concentración de aflatoxinas totales por cada muestra.

3.8 Evaluación observacional de los mercados y puestos

Se desarrolló una lista de chequeo higiénico sanitario con la finalidad de identificar características de los puestos de los mercados donde se recolectaron las muestras. Para ello se diseñó un breve instrumento para la evaluación observacional de la actividad de plagas, ventilación del puesto, almacenamiento y limpieza general del puesto (ver anexo 1). Cuatro semanas después de la recolección de las muestras se aplicó esta evaluación en cada centro de abasto.

3.9 Plan de Manejo y Análisis de datos

Los datos obtenidos en el análisis de laboratorio fueron ingresados, en doble digitación, en una hoja de Excel, para asegurar que se haya ingresado la información correctamente. Posteriormente, se analizó el resultado de las absorbancias obtenidas

en el programa Stata v14, empleando un valor de $p < 0.05$ a un nivel de confianza del 95%.

4 CAPITULO 4: RESULTADOS

De todas las muestras analizadas, solo se logró determinar la concentración de aflatoxinas totales de un mercado del distrito de San Luis (Tabla 7). No se pudo determinar la concentración de la micotoxina en estudio en las muestras provenientes de los otros mercados, por encontrarse debajo del límite de detección correspondiente a $1.7 \mu\text{g/kg}$.

Pese a que las concentraciones de AF totales no pudieron ser cuantificadas en el distrito de la Molina (Tabla 6), no se puede asegurar que no exista la presencia de esta micotoxina. Si comparamos el límite mínimo de detección de $1.7 \mu\text{g/kg}$ con los valores máximos permitidos en el país $15 \mu\text{g/kg}$ (*Codex Alimentarius*). Las concentraciones que podrían tener las muestras de este distrito se encuentran muy por debajo, lo que indicaría que la concentración de la aflatoxina presente en el maní tostado que se expende en los mercados de la Molina no afectaría la salud del consumidor.

Tabla 6. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní comercializados en los mercados de La Molina

Nº Muestra	Nombre del Mercado	Temperatura de recolección (°C)	Absorbancia	%CV*	Concentración AF ($\mu\text{g/Kg}$)
1	El Edén	29.4	2.260	0.13	***
2	Santa Rosa	29.7	2.220	0.30	***
3	Las Cascadas	27.9	2.286	0.28	***
4	Las Acacias	29.5	2.017	0.30	***
Promedio					<1.7

*CV: coeficiente de variación entre la absorbancia de las mediciones L1, L2, L3

***Fuera del límite de detección del kit.

Aunque, no se puede determinar el contenido de AF de las muestras. El kit RIDASCREEN indica que la relación que existe entre la absorbancia de las muestras y el contenido de AF es inversamente proporcional. Por lo anterior, en este distrito (Figura 3) se evidencia que el maní expendido en el Mercado Las Acacias sería el que

podría tener una cantidad mayor de AF frente a los otros centros de abastos analizados.

Figura 3. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní tostado comercializado en La Molina.

En cuanto a los resultados del distrito de San Luis, en el Mercado Señor de los Milagros se detectó la presencia de AF en el maní tostado que expenden en concentraciones de 60.6µg/kg (Tabla. 7). Puesto que, estas concentraciones cuadruplican el límite permitido por nuestra legislación el consumo de dicho maní estaría poniendo en riesgo a los consumidores.

Tabla 7. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní comercializados en los mercados de San Luis

N° Muestra	Nombre del Mercado	Temperatura de recolección (°C)	Absorbancia	%CV	Concentración AF (µg/Kg)
1	La Económica	27.0	2.205	2.85	***
2	Señor de Los Milagros	29.7	0.269	0.97	60.6
3	Mercado del Aire	30.9	2.033	1.95	***
4	Mercado Unión	31.4	2.207	0.22	***
5	Santa Rosa la Viña	31.2	2.291	0.20	***
6	Mercado Villa Jardín	31.0	2.042	0.89	***
7	Supermercado Royal	30.2	2.318	1.05	***
Promedio					8.7**

*CV: coeficiente de variación entre la absorbancia de las mediciones L1, L2, L3

**Estimando que las demás muestras carecen de aflatoxina

***Fuera del límite de detección del kit.

La figura 4 evidencia la diferencia de absorbancias entre las muestras del distrito de San Luis donde se aprecia una clara variación entre los resultados obtenidos por el mercado Señor de los Milagros y el resto de los mercados evaluados del distrito.

A la concentración tan alta de AF encontrada en este distrito ($60\mu\text{g/kg}$), el consumo frecuente de este maní tostado podría incrementar el riesgo de intoxicación crónica con diversos efectos a largo plazo, tales como el cáncer.

Figura 4. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní tostado comercializado en San Luis.

Las concentraciones de AF obtenidas en las muestras de maní del distrito de Magdalena (Tabla 8), tampoco logran ser cuantificadas la concentración que podrían tener las muestras de este distrito está muy por debajo, lo que indicaría que la concentración de la aflatoxina presente en el maní tostado que se expende en los mercados de Magdalena no proporcionaría riesgos a la salud del consumidor.

Tabla 8. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní comercializados en los mercados de Magdalena

Nº Muestra	Nombre del Mercado	Temperatura de recolección (°C)	Absorbancia	%CV	Concentración AF ($\mu\text{g/Kg}$)
1	Mercado de Magdalena	30.9	2.254	0.06	***
2	Mercado Ramón Castilla	29.0	2.334	1.93	***
3	Mercado Castilla	28.4	2.289	0.24	***
4	Nueva Magdalena	28.3	2.137	0.32	***
Promedio					<1.7

*CV: coeficiente de variación entre la absorbancia de las mediciones L1, L2, L3

***Fuera del límite de detección del kit.

Para este distrito (Figura 5), se evidencia que el maní expendido en el Mercado Nueva Magdalena sería el que podría tener una cantidad mayor de AF frente a los otros centros de abastos analizados.

Figura 5. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní tostado comercializado en Magdalena

Finalmente, para el análisis de AF de las muestras envasadas se evidenció que ninguna de las tres marcas analizadas contiene límites detectables de esta micotoxina ($>1.7\mu\text{g/kg}$). No obstante, la figura 6 evidencia que la marca 3 posee menor absorbancia. Por lo anterior, se puede decir que el maní de dicha marca podría contener más cantidad de AF frente a las otras.

Tabla 9. Valores de AF obtenidos en las muestras de maní de las marcas comerciales seleccionadas

Nº muestra	Marca de maní	Temperatura de recolección (°C)	Absorbancia	%CV*	Concentración AF ($\mu\text{g/Kg}$)
1	Marca 1	24.0	2.182	0.22	***
2	Marca 2	24.0	2.185	0.22	***
3	Marca 3	24.0	2.067	0.32	***
Promedio					<1.7

*CV: coeficiente de variación entre la absorbancia de las mediciones L1, L2, L3

***Fuera del límite de detección del kit.

Figura 6. Variación de la absorbancia encontrada en el en maní envasado.

Resultado observacional de los mercados y puestos

Tabla 10. Mercados analizados bajo observación directa

Con la finalidad de complementar los resultados obtenidos, se realizó una evaluación observacional directa de los mercados y puestos donde se recolectaron las muestras de maní. Se seleccionó a la mitad de los mercados visitados y se diseñó una lista de cotejo para la evaluación observacional. Los mercados analizados fueron aquellos que tuvieron menor absorbancia, estos se detallan en la tabla 10.

Mercado	Nº puestos	Distrito
La Económica	1	San Luis
Sr. De los Milagros	2	San Luis
Villa Jardín	2	San Luis
Royal	3	San Luis
Santa Rosa	2	La Molina
Acacias	1	La Molina
Nueva Magdalena	2	Magdalena
Magdalena	7	Magdalena

Dicha evaluación evidenció que los puestos de los mercados de La Molina y Magdalena seguían una distribución dentro del centro de abasto, estando agrupados los vendedores de igual producto de manera contigua. Además, el maní comercializado en estos distritos se vendía en puestos de abarrotes o snacks. La ubicación del maní tostado estaba a simple vista del consumidor, almacenado en bolsas y/o tapers de plástico adecuadamente cerrados y con buena apariencia, sin presencia de plagas, roedores o insectos.

Por otro lado, en los mercados de San Luis, se pudo evidenciar que el maní a granel no se encontraba a simple vista del consumidor, es decir que se debía preguntar al comerciante si vendía maní, el cual buscaba entre sus productos y luego lo

despachaba. Además, estos puestos no eran exclusivos de abarrotes o snacks, si no también vendían vegetales y/o especiarías. Es importante mencionar que, los puestos que vendían maní no se hallaban en un área específica dentro de las instalaciones de los centros de abastos, incluso algunos se posicionaban cerca a puestos de pescadería, que podrían provocar concentración de olores indeseables y humedad.

Con respecto a la apariencia general del maní, no se encontraron diferencias significativas en la regularidad del grano dentro de los distintos mercados. No obstante, se pudo apreciar diferencias en el tamaño y color del maní. Los granos de los mercados Nueva Magdalena y Señor de Los Milagros poseían un tono más opaco y ligeras manchas blanquecinas. Por otro lado, en cuanto a la ventilación, se evidenció que en los mercados de La Molina los puestos poseen mejor distribución, no encontrándose productos hacinados dentro y en las laderas de los pasillos permitiendo el libre tránsito. Es importante mencionar que todos los puestos analizados estibaban el maní a más de 20cm del piso como lo indica la legislación.

Finalmente, en cuanto a la limpieza general se pudo apreciar que los pisos circundantes a los puestos de maní en los mercados: La económica, Sr. De Los Milagros, Villa Jardín y Magdalena; poseían restos de hojas de vegetales, bolsas, papeles, entre otros. Además, de forma general los puestos de los mercados del distrito de San Luis presentaban grietas en la pintura e infraestructura dañada con presencia de humedad.

5 CAPITULO 5: DISCUSION

El objetivo de este estudio fue cuantificar el contenido de AF en el maní expendido a granel y envasado en los mercados de tres distritos de Lima. De las quince muestras de maní tostado a granel, sólo una superó el nivel máximo establecido por el *Codex Alimentarius*, cuadruplicándolo ($60 \mu\text{g/kg}$). Lo encontrado en esta investigación se puede relacionar con lo reportado por Chalco (2015), quien realizó una exploración en muestras de nueces y maní a granel que se expenden en los mercados de la Ciudad de Cuenca, provincia de Azuay en Ecuador, y encontró que las concentraciones de AF no sobrepasaron los límites permitidos por la normativa internacional, a excepción de

dos muestras de maní que superaban el límite de AF totales y una de ellas obtuvo un valor demasiado alto de AFG1 y AFB1(49).

Por el contrario, una investigación en Sao Paulo, Brasil detectó la presencia de AF, mediante el método de cromatografía líquida, en 44.2% del total de muestras de productos que contenían maní (240 und), en donde nueve de las muestras positivas sobrepasaron el límite establecido por las regulaciones brasileñas (20 µg/kg). Estos datos resultaron alarmantes para los autores, quienes concluyeron que lo hallado podría ser un problema de salud pública para el país, considerando la alta exposición de esta micotoxina en poblaciones susceptibles, ya que en Brasil existe una alta incidencia de niños que consumen dulces hechos con maní. (50)

Por otro lado, al igual que en nuestra investigación Mejía y Alvarado (2015) empleando el mismo kit de detección, RIDASCREEN FAST Aflatoxin Total, analizaron muestras de harina de maíz, trigo y avena recolectados en los mercados de la ciudad de Trujillo, encontraron que el contenido de AF en dichos productos se encontraba por debajo del valor máximo de la normativa establecida por FAO/OMS (20µg/kg). Además, los autores señalan que los resultados obtenidos pudieron tener variaciones respecto a la época del año de recolección (51). En la presente investigación, no se encontró relación entre la temperatura y la cantidad de aflatoxinas en las muestras de maní, ya que la variación de temperatura por distritos no fue significativa. Lo anterior, podría explicarse a la estación del año en que fueron recolectadas las muestras (verano), en donde la temperatura se mantuvo aproximadamente en 28.5°C. Pese a lo anterior, el estudio de Yao et al (2015) expone que la concentración de AF cuantificada bajo inmunoensayo ELISA son presuntivas y precisan de un análisis confirmatorio bajo cromatografía líquida (HPLC) (52).

Con respecto a las observaciones hechas en los centros de abastos, se encontró que, en los mercados de La Molina y Magdalena, los vendedores de maní exponían el producto lo que sugeriría que sería uno de los insumos con mayor compra del puesto. Por el contrario, en el mercado Sr. De Los Milagros del distrito de San Luis, el maní

se encontraba oculto. Lo anterior, se relaciona con lo encontrado en el estudio de Voth-Gaeddert (2019), en el que analizo granos de maíz y determino que el maíz con mayor tiempo de almacenamiento en los mercados poseía mayor nivel de aflatoxina total. Los investigadores explican que esto se debería a la baja rotación del producto sumado a la escasa higiene en los mercados, ambos factores condicionantes para el desarrollo de un ambiente favorable para la proliferación de *aspergillus*, hongo que al encontrarse en el producto por más tiempo elevaría la producción de toxinas(53).

Aunque los resultados de esta investigación sugieren que existe bajo nivel de contaminación por aflatoxinas en el maní tostado, la muestra encontrada en el mercado Sr. de los Milagros (60ug/kg) representaría un grave riesgo a la salud del consumidor. Con relación a lo anterior, Arrúa y colaboradores (2017) señalan que estas micotoxinas serían los carcinógenos naturales más potentes siendo teratogénicas y mutagénicas. Producen daño hepático y afecciones de los pulmones, inducen tumores, y disminuyen la eficiencia del sistema inmunitario. Se acumulan en los tejidos y se excretan por la leche materna impactando en la edad gestacional de los niños al nacer y ocasionando retardo en el crecimiento(54).

Es importante mencionar que, el estudio de Wu et al, en el cual se intenta determinar si las normas actuales para las aflatoxinas permisibles en los alimentos protegen adecuadamente la salud humana en todo el mundo, expone que en Perú (15µg/g) no se cumpliría dicha premisa. Pese a que el estándar es más estrictos que en Estados Unidos (20µg/g), el consumo de productos susceptibles a la contaminación con AF (maíz y maní) es mayor y la prevalencia de hepatitis es relativamente alta en Perú, por lo que los estándares actuales de aflatoxinas no protegerían a la población de hepatocarcinoma celular de por vida (55). Además, como lo exponen Frisvad et al, por lo general la AFB1 es la que se encuentra en mayores concentraciones cuando existe cuantificación de AF totales, siendo esta la más potente y cancerígena(56). Por esta razón, como lo menciona, Kilic (2018) la vigilancia sanitaria en productos que tiene predisposición a la contaminación con AF es vital para prevenir costes en la salud pública (57).

6 CAPITULO 6: LIMITACIONES

La presente investigación contó con ciertas limitaciones. En primer lugar, los resultados encontrados en las muestras de maní seleccionadas aleatoriamente no pueden ser extrapolados a otros mercados no incluidos en el estudio. Asimismo, es importante mencionar que el método utilizado para medir la variable aflatoxinas totales (inmuno-ensayo ELISA Kit RIDASCREEN) posee reactividad cruzada con otras micotoxinas y solo tiene un nivel de sensibilidad mayor a 1.7ug/ kg de AF, por ello no se puede asegurar que aquellas muestras analizadas que no obtuvieron resultados no posean AF. Por lo que se debería asegurar los datos obtenidos con el método HPLC. Sin embargo, esto no se pudo realizar, ya que la universidad no cuenta con este equipo.

7 CAPITULO 7: CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que el maní tostado a granel que se expende en los mercados de los distritos de San Luis, Magdalena y La Molina poseen bajos niveles AF, en base al muestreo y métodos aplicados. No obstante, habiéndose detectado y cuantificado altos niveles de AF en maní obtenido en un mercado del Distrito de San Luis, podemos inferir que el maní tostado a granel expendido en otros mercados de Lima Metropolitana podría tener presencia de esta micotoxina, lo cual podría estar influenciado por las condiciones higiénico-sanitarias existentes. La muestra que arrojó 60ug de aflatoxinas /kg, tendría cuatro veces el nivel máximo de AF totales establecido por el *Codex Alimentarius* siendo un riesgo para los usuarios de este mercado y para la salud pública en general.

A pesar de que el maní es un producto de alto valor nutricional y muy usado en alimentación humana, la vigilancia de AF para este producto comercializado a granel no se realiza por parte del ente encargado en el Perú (SENASA y DIGESA); siendo que la mayoría de los productos analizados, en los planes de monitoreo anuales de estas instituciones, son aquellos que se destinan a la exportación.

Los resultados de esta investigación sugieren que deberían hacerse estudios más amplios y con métodos más sensibles a fin de conocer con mayor precisión los niveles

de AF en maní tostado, en especial el expendido a granel. Esto permitirá a los profesionales nutricionistas considerar esta información al momento de aconsejar su consumo durante una prescripción alimentaria.

8 CAPITULO 8: RECOMENDACIONES.

Se recomienda realizar estudios de mayor especificidad donde la metodología permita distinguir el tipo de aflatoxina presente en este producto. Dado que la toxicidad de los distintos tipos de aflatoxinas varía.

Para estudios posteriores se recomienda emplear un análisis HPLC a fin de determinar con mayor precisión el contenido de aflatoxinas en el maní. Esto se debe a que dicho método es el más exacto en la actualidad.

Sería importante realizar otras investigaciones que evalúen toda la cadena de producción y expendio del maní en los mercados de Lima para determinar el punto de contaminación. Asimismo, evaluar el contenido de AF en el maní en las distintas estaciones del año.

A fin de minimizar el riesgo del consumo de maní con AF, al prescribir esta oleaginosa dentro de un plan nutricional, se recomienda instar a los pacientes a no comer el producto si este sabe rancio o posee coloraciones sospechosas. Además, es importante que se realice la compra de dicho producto en puestos fiables que tengan alta rotación; cuando es utilizado como ingrediente en la preparación de platillos comprar el grano entero no molido. Con respecto al almacenamiento, se sugiere almacenar el maní en refrigeración a 4°C y hacer uso de esta en un plazo máximo de 2 semanas.

9 REFERENCIAS

1. Acuña C, Díaz G, Espitia M. AFLATOXINAS EN MAÍZ: REPORTE DE CASO EN LA COSTA ATLÁNTICA COLOMBIANA. Rev la Fac Med Vet y Zootec [Internet]. 2005 [cited 2018 Aug 31];52(II):156–62. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639209007>
2. Urrego J, Diaz G. AFLATOXINAS: MECANISMOS DE TOXICIDAD EN LA ETIOLOGÍA DE CÁNCER HEPÁTICO CELULAR. Rev la Fac Med [Internet]. 2006 [cited 2018 Aug 31];54(2):108–16. Available from:

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112006000200006&lng=pt.

3. Ledezma PB, Ledezma DB, Ledezma SB. Aflatoxinas. *Acta Med Costarric* [Internet]. 2004 [cited 2018 Aug 31];46(4):174–8. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43446404>
4. Serrano-Coll H, Cardona-Castro N. Micotoxicosis y micotoxinas: generalidades y aspectos básicos [Internet]. Vol. 29. 2015 [cited 2018 Aug 31]. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v29n1/v29n1a12.pdf>
5. Gong YY, Watson S, Routledge MN. Aflatoxin Exposure and Associated Human Health Effects, a Review of Epidemiological Studies. *Food Saf* [Internet]. 2016 [cited 2018 Sep 28];4(1):14–27. Available from: https://www.jstage.jst.go.jp/article/foodsafetyfscj/4/1/4_2015026/_article
6. Negash D. A Review of Aflatoxin: Occurrence, Prevention, and Gaps in Both Food and Feed Safety. *J Appl Microbiol Res* [Internet]. 2018 [cited 2018 Sep 28];1(1):1–35. Available from: <http://innovationinfo.org/articles/JAMBR-106.pdf>
7. Pitt JJ. Mycotoxins [Internet]. *Foodborne Infections and Intoxications*. Academic Press; 2013 [cited 2018 Sep 28]. 409–418 p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124160415000305>
8. Mupunga I, Mngqawa P, Katerere DR. Peanuts, Aflatoxins and Undernutrition in Children in Sub-Saharan Africa. *Nutrients* [Internet]. 2017 Nov 26 [cited 2018 Sep 28];9(12). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29186859>
9. Jolly PE, Yi J, Ellis WO, Jia S, Afriyie-Gyawu E, Phillips TD, et al. Modulation of the human immune system by aflatoxin. In: *Mycotoxins: detection methods, management, public health and agricultural trade* [Internet]. Wallingford: CABI; [cited 2018 Sep 28]. p. 41–52. Available from: <http://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20083189561>
10. Omar NA. Effect Of Some Aflatoxins On A Lymphatic Organ (Spleen) Of Male Albino Rats (Histopathological Study) [Internet]. Vol. 48, *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2012 [cited 2018 Sep 28]. Available from: http://egyptianjournal.xyz/48_3.pdf

11. Hamid AS, Tesfamariam IG, Zhang Y, Zhang ZG. Aflatoxin B1-induced hepatocellular carcinoma in developing countries: Geographical distribution, mechanism of action and prevention. *Oncol Lett* [Internet]. 2013 Apr [cited 2018 Sep 28];5(4):1087–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23599745>
12. Johnson NM, Egner PA, Baxter VK, Sporn MB, Wible RS, Sutter TR, et al. Complete protection against aflatoxin B(1)-induced liver cancer with a triterpenoid: DNA adduct dosimetry, molecular signature, and genotoxicity threshold. *Cancer Prev Res (Phila)* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2018 Sep 28];7(7):658–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24662598>
13. International Agency for Research on Cancer (IARC). Aflatoxins IARC MONOGRAPHS – 100F [Internet]. Chem. Abstr. Serv. 2002 [cited 2018 Sep 28]. Available from: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono100F-23.pdf>
14. Marchese S, Polo A, Ariano A, Velotto S, Costantini S, Severino L. Aflatoxin B1 and M1: Biological properties and their involvement in cancer development. *Toxins (Basel)*. 2018;10(6):1–19.
15. Sanchez Torres MP. Determinacion de niveles de aflatoxina M1 en leche materna: estudio observacional descriptivo en muestras recolectas en un hospital pediatrico de referencia de la ciudad de Bogota, durante el ano 2013. 2014;164. Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/46059/>
16. Gong YY, Hounsa A, Sharif E, Turner PC, Sutcliffe AE, Hall AJ, et al. Postweaning exposure to aflatoxins results in impaired child growth: A longitudinal study in Benin, West Africa. *Environ Health Perspect*. 2004;112(13):1334–8.
17. Khlangwiset P, Shephard GS, Wu F. Aflatoxins and growth impairment: A review. *Crit Rev Toxicol*. 2011;41(9):740–55.
18. Jiang Y, Jolly PE, Preko P, Wang J-S, Ellis WO, Phillips TD, et al. Aflatoxin-Related Immune Dysfunction in Health and in Human Immunodeficiency Virus Disease. *Clin Dev Immunol* [Internet]. 2008;2008:1–12. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/jir/2008/790309/>

19. Shuaib FMB, Ehiri J, Abdullahi A, Williams JH, Jolly PE. Reproductive health effects of aflatoxins: A review of the literature. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2010;29(3):262–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2009.12.005>
20. Unión Europea. Cantidad máxima de micotoxinas en alimentos. [Internet]. 2014 p. 1–35. Available from: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/PDF/?uri=CELEX:02006R1881-20140701&from=EN>
21. JECFA. NORMA GENERAL DEL CODEX PARA LOS CONTAMINANTES Y LAS TOXINAS PRESENTES EN LOS ALIMENTOS Y PIENSOS! (CODEX STAN 193-1995)! 1. PREÁMBULO 1.1 ÁMBITO DE APLICACIÓN [Internet]. 2007 [cited 2019 Jul 2]. Available from: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/livestockgov/documents/CXS_193s.pdf
22. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Programa nacional de monitoreo de contaminantes en alimentos agropecuarios primarios y piensos. [Internet]. Lima, Peru; 2011. Available from: <https://www.senasa.gob.pe/senasa/descargasarchivos/2014/12/PROGRAMA-NACIONAL-MONITOREO-SENASA7.9.pdf>
23. SENASA. Plan Anual de Monitoreo de Residuos Químicos y Otros Contaminantes en Alimentos Agropecuarios Primarios y Piensos , para el período Marzo a Diciembre del 2018 . 2018;
24. Soto D, Gysling J, Loewe V. Antecedentes del Mercado Internacional de Piñones de Pino. *ResearchGate* [Internet]. 2008 [cited 2018 Sep 28]; Available from: https://www.researchgate.net/publication/303286092_Antecedentes_del_Mercado_Internacional_de_Pinones_de_Pino
25. Chocano DM. La comida Nativa en la Amazonía Peruana. *Amaz - Rev Antropol* [Internet]. 2009 Apr 6 [cited 2018 Sep 28];1(1). Available from: <https://periodicos.ufpa.br/index.php/amazonica/article/view/143/226>
26. King JC, Blumberg J, Ingwersen L, Jenab M, Tucker KL. Tree Nuts and Peanuts as Components of a Healthy Diet. *J Nutr* [Internet]. 2008 Sep 1 [cited 2018 Sep 28];138(9):1736S-1740S. Available from:

<https://academic.oup.com/jn/article/138/9/1736S/4750848>

27. Arya SS, Salve AR, Chauhan S. Peanuts as functional food: a review. *J Food Sci Technol* [Internet]. 2016 Jan [cited 2018 Sep 28];53(1):31–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26787930>
28. Settaluri VS, Kandala CVK, Puppala N, Sundaram J. Peanuts and Their Nutritional Aspects-A Review. *Food Nutr Sci* [Internet]. 2012 [cited 2018 Sep 28];3:1644–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2012.312215PublishedOnlineDecember2012>
29. Sales R, Coelho S, Neuza M, Costa B, et al. The effects of peanut oil on lipid profile of normolipidemic adults: A three-country collaborative study. *J Appl Res* [Internet]. 2008 [cited 2018 Sep 28];8(2). Available from: https://www.researchgate.net/publication/286136827_The_effects_of_peanut_oil_on_lipid_profile_of_normolipidemic_adults_A_three-country_collaborative_study
30. Fernández I, Pallaro A, Slobodianik N. Estudio comparativo entre dos fuentes alimentarias aportadoras de ácidos grasos poliinsaturados n-3 y su efecto sobre el timo y el perfil lipídico de ratas. *Arch Latinoam Nutr* [Internet]. 2007 [cited 2018 Sep 28];57(2):146–54. Available from: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222007000200007
31. Pérez P, López J, Delgadi J, López F., Pérez F. Aceite de oliva y prevención cardiovascular: más que una grasa. *Clínica e Investig en Arterioscler* [Internet]. 2006 Sep 1 [cited 2018 Sep 28];18(5):195–206. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-clinica-e-investigacion-arteriosclerosis-15-articulo-aceite-oliva-prevencion-cardiovascular-mas-13094393?code=Bw5QrXmfpaYAsJh734lvSjNxC01Mbd&newsletter=true>
32. Aguilera C, Ramírez M, Mesa M, Gil Á. Efectos protectores de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados sobre el desarrollo de la enfermedad cardiovascular PROTECTIVE EFFECTS OF MONOUNSATURATED FATTY ACIDS AND POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN THE DEVELOPMENT OF CARDIOVASCULAR DISEASE. *Nutr Hosp* [Internet]. 2001 [cited 2018 Sep 28];(3):78–91. Available from: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3224.pdf>

33. Ochse J, Soule M, Dijkman M, Wehlburg C. Cultivo y Mejoramiento de Plantas Tropicales y Subtropicales. Volúmen I y II. [Internet]. LimusaMexico D, editor. 1965 [cited 2018 Sep 28]. Available from: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CEDIA.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expression=mfn=001626>
34. Rica C, Ledezma B, Ledezma B, Ledezma B, José S, Rica C, et al. Revisión Aflatoxinas. 2004;
35. WHO. New IARC report urges action against widespread mycotoxin contamination in developing countries. IARC WHO Press Release. 2016;(9):2015–6.
36. CONGRESO PERUANO. Decretos Legislativos 1062 [Internet]. 2008 [cited 2018 Sep 28]. Available from: http://www.digesa.minsa.gob.pe/compial/archivos/dl_1062-2.pdf
37. Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación al efecto sobre la población española de la derogación de la normativa nacional sobre límite máximos permitidos para las aflatoxinas B1, B2, G1 y. Rev del Com Científico [Internet]. 2011;14. Available from: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/AFLATOXINAS_ALIMENTOS.pdf
38. CPI "Compañía peruana de estudios de mercado y opinion publica. Mercado de Productos de Consumo y uso personal. 2012;(05). Available from: <http://www.cpi.pe/images/upload/paginaweb/archivo/26/mr201205-01.pdf>
39. López B, Olivares P, Alvarado P. PLAN DE COMUNICACIÓN INTEGRADA DE MARKETING. 2014.
40. Marketing Supermercado Tottus. Marcas de Maní más vendidas -Tottus [Internet]. [cited 2018 Oct 12]. Available from: <http://www.tottus.com.pe/tottus/search?Ns=sku.numberSales%7C1%7C%7Csku.activePrice%7C0&Ntt=mani>
41. Marketing Plaza Veá. Marcas de Maní más vendidas – PlazaVeá - Food [Internet].

- [cited 2018 Oct 12]. Available from: <https://www.plazavea.com.pe/Busca/?PS=20&cc=24&sm=0&PageNumber=1&ft=mani&sc=1>
42. Markentig Supermercados Metro. Marcas de Maní más vendidas Mani – Metro-Peru [Internet]. [cited 2018 Oct 12]. Available from: <https://www.metro.pe/busca/?ft=mani>
 43. Marketing Supermercados Wong. Marcas de Maní más vendidas – Wong-Peru [Internet]. [cited 2018 Oct 12]. Available from: <https://www.wong.pe/busca/?ft=mani>
 44. INDECOPI. NTP 209.038 2009 ALIMENTOS ENVASADOS. Etiquetado [Internet]. Available from: http://www.sanipes.gob.pe/documentos/5_NTP209.038-2009AlimentosEnvasados-Etiquetado.pdf
 45. INEI. CENSO NACIONAL de MERCADOS de ABASTOS 2016 Resultados a Nivel Nacional [Internet]. 2016 [cited 2018 Sep 28]. Available from: www.inei.gob.pe
 46. SENAMHI - Perú. Clima/ Mapa Climático del Perú [Internet]. [cited 2018 Sep 28]. Available from: <https://www.senamhi.gob.pe/?p=mapa-climatico-del-peru>
 47. R-biopharm. RIDASCREEN ® FAST Aflatoxin [Internet]. Germany; 2016 [cited 2018 Sep 25]. Available from: www.r-biopharm.de
 48. Abcam. Tipos de ELISA [Internet]. 2018 [cited 2019 Jul 2]. Available from: <https://www.abcam.com/kits/types-of-elisa>
 49. Chalco D. RIESGO TOXICOLÓGICO DE AFLATOXINAS PRESENTES EN MANÍ Y NUECES COMERCIALIZADOS EN LOS PRINCIPALES MERCADOS DE LA CIUDAD DE CUENCA [Internet]. UNIVERSIDAD DE CUENCA; 2014 [cited 2019 Jul 2]. Available from: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5482/1/TESIS.pdf>
 50. Oliveira CAF, Gonçalves NB, Rosim RE, Fernandes AM. Determination of aflatoxins in peanut products in the northeast region of São Paulo, Brazil. Int J Mol Sci [Internet]. 2009 Jan [cited 2019 Jul 3];10(1):174–83. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19333440>

51. Acuña NM, Salinas PA, Valles NV. Determinación de aflatoxinas en productos derivados de cereales de consumo humano en Mercados de Trujillo (Perú). *Rev REBIOLEST* [Internet]. 2015 Jan 8 [cited 2019 Jul 3];2(2):5–11. Available from: <http://www.revistas.unitru.edu.pe/index.php/ECCBB/article/view/747>
52. Yao H, Hruska Z, Di Mavungu JD. Developments in detection and determination of aflatoxins. *World Mycotoxin J* [Internet]. 2015 Jan 28 [cited 2019 Jul 3];8(2):181–91. Available from: <https://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/WMJ2014.1797>
53. Voth-Gaeddert LE, Stoker M, Torres OR, Oerther DB. The influence of local market and household factors on aflatoxin presence in maize and symptoms of its exposure to children in Guatemala. *Int J Environ Health Res* [Internet]. 2019 Mar 22 [cited 2019 Jul 2];1–15. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09603123.2019.1594721>
54. Arrúa A, Moura J, Fernández D. AFLATOXINAS, UN RIESGO REAL. *REPORTES Cient LA FACEN* [Internet]. 2017 May 22 [cited 2019 Jul 2];4(1). Available from: <http://revistascientificas.una.py/index.php/RCF/article/view/1206/1077>
55. Wu F, Stacy SL, Kensler TW. Global risk assessment of aflatoxins in maize and peanuts: are regulatory standards adequately protective? *Toxicol Sci* [Internet]. 2013 Sep [cited 2019 Jul 3];135(1):251–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23761295>
56. Frisvad JC, Skouboe P, Samson RA. Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B₁, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Syst Appl Microbiol* [Internet]. 2005 Jul [cited 2019 Jul 2];28(5):442–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16094871>
57. Kilic S, Cam IB, Tongur T, Kilic M. Health Risk Assessment of Exposure to Heavy Metals and Aflatoxins via Dietary Intake of Dried Red Pepper from Marketplaces in Antalya, Southern Turkey. *J Food Sci* [Internet]. 2018 Oct [cited 2019 Jul

2];83(10):2675–81.

Available

from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30178501>

10 ANEXOS

Anexo 1: Lista de chequeo de observación

CHECK LIST PARA EVALUACIÓN SANITARIA DE PUESTOS DE LOS MERCADOS QUE COMERCIALIZAN MANI TOSTADO A GRANEL					
I. Datos del mercado					
a	Nombre del mercado				
b	Dirección				
c	Distrito				
d	Código				
II. Datos del puesto de venta					
a	Nombre del puesto			Número	
III. Control de t°, humedad y AW		CUMPLE		RESULTADO	OBSERVACIONES
		SI	NO		
a	Temperatura (20 a 22°C)				
b	Humedad (menor a 12%)				
c	Actividad de agua (menor a 0,7)				
IV. Inspección sanitaria de los puestos				CUMPLE	OBSERVACIONES
				SI NO	
1. Plagas					
a	No se evidencia actividad de plagas				
2. Ventilación					
a	Evita la concentración de olores indeseables, humedad o incremento de la temperatura en el puesto				
3. Almacenamiento					
a	El mani se encuentra entero sin manchas				
b	El mani se encuentra libre de materiales extraños				
c	El mani se encuentra en envases limpios y en buen estado				
d	El mani se encuentra en envases tapados				
e	Estiba el mani a una altura mínima de 0.2m del piso				
4. Limpieza					
a	El manipulador desinfecta el puesto de venta				
b	Los alimentos no se contaminan con las labores de limpieza y desinfección				