

## Identificación de hongos en alimentos concentrados a granel para mascotas en expendios comerciales de la provincia de Coclé, Panamá

Identification of fungi in bulk concentrated pet food sold in commercial stores in the province of Coclé, Panama

<sup>1</sup>Diorlín Arrocha Sánchez, <sup>2</sup>Martha de Von Chong, <sup>3</sup>Carlos Morán, <sup>4</sup>Rito Herrera

- <sup>1</sup> Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Coclé, Panamá.  
[diorlin.arrocha@up.ac.pa](mailto:diorlin.arrocha@up.ac.pa), <https://orcid.org/0009-0007-8631-7197-67983131>
- <sup>2</sup> Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Coclé, Panamá.  
[martha.chaves@up.ac.pa](mailto:martha.chaves@up.ac.pa), <https://orcid.org/0000-0003-2509-0391-64870679>
- <sup>3</sup> Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Coclé, Panamá.  
[carlos.moranr@up.ac.pa](mailto:carlos.moranr@up.ac.pa), <https://orcid.org/0009-0000-5256-5765-66697146>
- <sup>4</sup> Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Coclé, Panamá.  
[rito.herrera@up.ac.pa](mailto:rito.herrera@up.ac.pa), <https://orcid.org/0000-0003-2509-0391-65716521>

Recibido: 25/12/2024 - Aceptado: 23/1/2025

DOI <https://doi.org/10.48204/j.guacamaya.v9n2.a7026>

### Resumen

La presente investigación se basa en la identificación de mohos y levaduras en alimentos concentrados a granel, que se venden en expendios comerciales a un bajo precio a comparación con los alimentos sellados herméticamente. Se analizaron cuatro marcas escogidas al azar y se dividieron en dos muestras por marca en dos lotes. Los resultados obtenidos, permitieron determinar la presencia de hongos e identificar distintos géneros y especies de mohos. También, se determinó que, las muestras a granel el 62% de los recuentos para mohos y el 43% de los recuentos para levaduras, superan los índices microbiológicos establecidos por las normas, donde los valores de recuentos microbianos superiores ( $10^2/10g$ ) son inaceptables y el alimento representa un riesgo para la salud. Se logró identificar dos especies productoras de micotoxinas *Aspergillus flavus* (aflatoxina) y *Penicillium corylophilum* (citrina y alcaloides), en ambos lotes en estudio. Por otra parte, se realizaron pruebas de humedad a las muestras y los resultados indican que estas muestras no superaban el 2% de humedad lo cual indica que se encuentran por debajo de los índices normales (6-10%) de humedad. Dado estos análisis se concluye que los alimentos concentrados a granel representan un grave riesgo para la salud de los animales ya que los índices microbiológicos son inestables.

**Palabras clave:** Alimentos concentrados, intoxicación, hongos, micotoxinas.

## Abstract

The present investigation is based on the identification of molds and yeasts in concentrated bulk foods, which are sold in commercial stores at a low price compared to hermetically sealed foods. Four brands chosen at random were analyzed and divided into two samples per brand in two batches. The results obtained allowed us to determine the presence of fungi and identify different genera and species of molds. Also, it was determined that, in bulk samples, 62% of the counts for molds and 43% of the counts for yeasts exceed the microbiological indices established by the standards, where the values of higher microbial counts ( $10^2/10g$ ) are unacceptable, and the food represents a health risk. Two mycotoxin-producing species, *Aspergillus flavus* (aflatoxin) and *Penicillium corylophilum* (citric and alkaloids), were identified in both batches under study. On the other hand, humidity tests were carried out on the samples and the results indicate that these samples did not exceed 2% humidity, which indicates that they are below normal humidity levels (6-10%). Given these analyzes it is concluded that bulk concentrated foods represent a serious risk to the health of animals since the microbiological indices are unstable.

**Keywords:** Concentrated foods, poisoning, fungi, mycotoxins.

## Introducción

Las intoxicaciones en las mascotas domésticas comunes como los perros se han vuelto muy frecuentes y peligrosas. Estas intoxicaciones, se pueden dar en la mayoría de los casos por el consumo de alimentos contaminados que son suministrados a diario en la dieta del animal (OMS, 2018). Los alimentos más frecuentes, que se le suministran a estas mascotas pueden ser de origen casero o alimentos concentrados vendidos en expendios comerciales. (Muñoz et al., 2015; Quiroz y Velasco, 2021). Estos concentrados pueden estar compuestos de muchas materias primas que pueden ser de origen animal y de origen vegetal. Las materias primas, son muy susceptibles a contaminaciones que pueden provenir desde su origen o hasta en sus procesos finales para conformar el producto. Uno de los principales contaminantes de estos alimentos son los hongos, que pueden tener efectos graves en los animales. Algunos tipos de hongos como los mohos son productores de micotoxinas de alto riesgo para la salud de las mascotas e incluso para los humanos (OMS, 2018).

Las micotoxinas son las principales causantes de enfermedades y muertes de los animales, ya que influyen de una manera exponencial en la salud. Algunos de los efectos graves provocadas por las micotoxinas son: la genotoxicidad, carcinogenicidad, y mutagenicidad, así como problemas gastrointestinales, hepáticos o renales, además algunas micotoxinas actúan sobre el metabolismo de los estrógenos y son inmunodepresoras, reduciendo la resistencia a enfermedades infecciosas. (AMVAC, 2020; Fung y Clark; OMS, 2018). Una de las toxinas que más destaca dentro de este grupo de micotoxinas son las aflatoxinas, que son sustancias altamente tóxicas, resultantes del metabolismo de algunas cepas de *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* y de las especies relacionadas, *A. nomius* y *A. niger*; existen cuatro aflatoxinas importantes: B1, B2, G1, G2 y los productos metabólicos adicionales, M1 y M2, que comprometen la salud tanto de seres humanos y a los animales (Cornejo y Villarroel, 2012; Macario, 2021). Un ejemplo de las consecuencias de las aflatoxinas, lo menciona Arce y Reyes (2021): “Se conoce que los caninos son una de las especies más sensibles a las

aflatoxinas y el órgano afectado primordialmente es el hígado”. Una de las consecuencias de las toxicosis crónicas es la producción de heces blandas y también causan una disminución del apetito del perro que la padece. La insuficiencia hepática se manifiesta a medida que avanza la enfermedad. Otras toxinas relevantes producidas por los hongos e igual de tóxicas se pueden mencionar: la ocratoxina A (las ocratoxinas son metabolitos secundarios de cepas de *Aspergillus* y *Penicillium*), la zearalenona, las fumonisinas y los tricotecenos, que junto a las aflatoxinas están principalmente asociadas a problemas de toxicidad alimentaria.

Esta investigación tiene como objetivo principal identificar hongos en alimentos concentrados para mascotas domésticas, que se venden en distintos expendios comerciales en la provincia de Coclé y afectan a la salud de los animales.

## Materiales y Métodos

**Origen y obtención de muestras.** Para este estudio se compraron al azar en distintos sitios comerciales de la provincia de Coclé, Panamá, 4 marcas de alimentos concentrados a granel para perros, se muestreo el lote 1 (vencimiento enero 2023) y el lote 2 (vencimiento enero 2025) y para cada marca por lote se tomaron dos muestras (M1) y (M2).

**Análisis microbiológico.** Para el análisis de los hongos (mohos y levaduras) se utilizó la técnica de inoculación en placas Petrifilm, siguiendo el protocolo recomendado por 3M™ Petrifilm™ (Guía de interpretación 3M™ Petrifilm™).

**Prueba de humedad.** De cada lote a las 4 marcas se le realizaron pruebas de humedad por triplicado empleando la técnica de secado en estufa, donde se iniciaba pesando 2 gramos de muestra (por triplicado), luego se pesaron los recipientes (caracolas) donde se colocaron los gramos de la muestra. Después de haber sacado todos los pesos, se procedió a llevar las muestras a una estufa de desecación por 2 horas a 110°C. Al finalizar este tiempo las muestras se sacaron de la estufa y se colocaron en un recipiente especial para que se enfriaran y ser pesados nuevamente.

**Aislamiento de mohos.** Luego de efectuarse la cuantificación de las colonias, se tomaron estructuras vegetativas de hongos en las distintas placas de petrifilm para su caracterización en morfotipos y aislamiento (por triplicado) en platos Petri que contenían Agar Papa Dextrosa (PDA), con la ayuda de placas de asas micológicas, seguidamente se incubaron de 5 a 8 días a temperatura ambiente (25 a 30°C) para obtener cultivos monospóricos.

**Caracterización de los morfotipos.** Se tomaron en cuenta los siguientes criterios morfotípicos: Tasa de crecimiento (lento, medio), textura, color del micelio, forma del margen, como lo establece Moller et al. (1995).

**Análisis estadístico.** Para este estudio se realizaron análisis descriptivos utilizando tablas y gráficas, además de curvas de acumulación de géneros y especies en el índice de diversidad de Shannon-Wiener para alimentos concentrados a granel para mascotas.

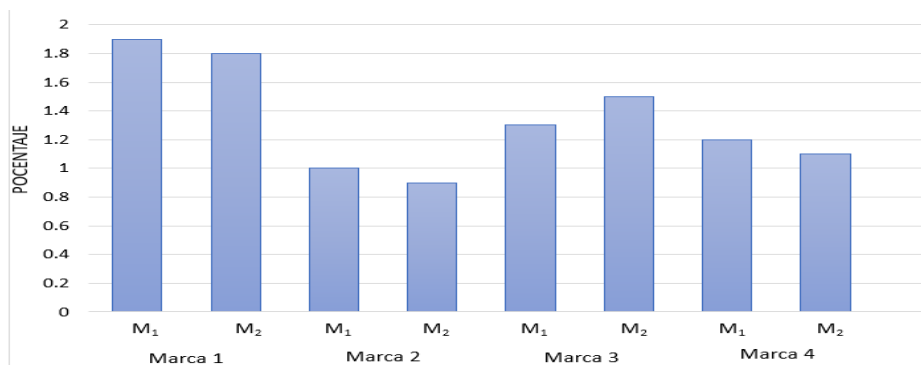
## Resultados y Discusiones

### Prueba de humedad en las cuatro marcas para el lote 1 y 2

A las 16 muestras de los dos lotes se les realizaron pruebas de humedad, para verificar si cumplían con los requisitos propuestos por Bustos, (2006). Los resultados obtenidos por lote se muestran en la (Figura 1).

**Figura 1**

*Porcentaje de humedad de las marcas del lote 1.*



La prueba de humedad del lote 1 fueron muy bajos en relación con lo propuesto por Bustos, (2006) donde menciona que estos alimentos deben tener entre 6-10% de humedad. Las muestras M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub> de la marca 1, fueron las que presentaron el porcentaje de humedad más alto con un (1.9 y 1.8% de humedad). Las muestras de la marca 2, para el caso de la M<sub>1</sub> un 1% y para M<sub>2</sub> un total de 0.9% de humedad, lo que nos indica que estos alimentos están demasiado secos (Figura 1).

En la marca 3 la M<sub>1</sub> presento un 1.3% y para la M<sub>2</sub> un 1.5% de humedad. En la marca 4 los porcentajes de humedad fueron: en la M<sub>1</sub> un 1.2% y en la M<sub>2</sub> un 1.1% de humedad, también estas dos marcas presentan índices de humedad demasiado bajos. En este lote los resultados fueron similares al del lote 1, porque también presentaron porcentajes de humedad muy bajos.

Los resultados obtenidos en la marca 1 son los más altos en relación con las demás muestras, en la M<sub>1</sub> el porcentaje fue de 2.2% y en M<sub>2</sub> con un 2.1% de humedad. En la marca 2 se obtuvo en la M<sub>1</sub> un 0.9% y en la M<sub>2</sub> un 1.3 % de humedad. Aunque la marca 1 presentara valores un poco más altos, no alcanzan ni la mitad del porcentaje de humedad establecido (6-10%), es decir estas muestras siguen estando demasiado secas. En la marca 3, los resultados de la M<sub>1</sub> fueron de 1.4% y en la M<sub>2</sub> de 1.5% de humedad. Y por último en la marca 4, la M<sub>1</sub> y la M<sub>2</sub> fueron iguales un 1% de humedad para cada muestra.

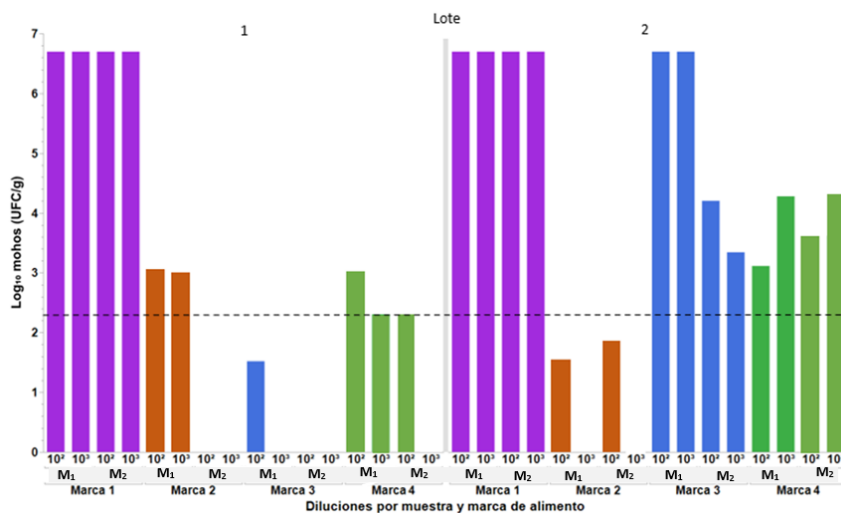
### **Análisis microbiológico de mohos y levaduras en placas de 3M™ Petrifilm™**

De cada dilución para las muestras se hicieron replicas en petrifilm y se tomó un índice promedio de la suma de todas las unidades formadoras de colonias. Como se presenta en la Figura 2, los resultados obtenidos indican que, las muestras presentaron un alto índice de unidades formadoras de colonias (UFC/g) los cuales superaban los límites microbiológicos establecidos *Norma sanitaria RM N° 615-2003 SA/DM*, donde los

valores aceptables menores o igual ‘m’ es decir 200 UFC/g en  $10^2$  ( $\log_{10}$  2.30) y rechazables ‘M’ de 2 000 UFC/g en  $10^3$  ( $\log_{10}$  3.30) para alimentos cocidos, extruidos de consumo directo.

**Figura 2**

Recuento en  $\log_{10}$  para mohos en las cuatro marcas los lotes 1 y 2



En el lote 1 para la marca 1 las dos muestras presentaron altos índices en la muestra 1 ( $M_1$ ), el conteo promedio fue de 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.69) en las diluciones  $10^2$  y  $10^3$  y en la muestra 2 ( $M_2$ ), resultados fueron iguales, 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.69) en las dos diluciones ( $10^2$  y  $10^3$ ). Las dos muestras de esta marca son rechazables ya que superan los límites microbiológicos aceptables establecidos en la Norma referenciada. Los resultados de la marca 2 presentan índices para  $M_1$  de 1 100 UFC/g ( $\log_{10}$  3.04) en  $10^{-2}$  y 1 000 UFC/g ( $\log_{10}$  3) en la dilución  $10^3$ . En la  $M_2$  no se obtuvo conteo de colonias de mohos en ninguna de las diluciones (0 UFC/g). En esta marca, la  $M_1$  es rechazable ya que supera los 200 UFC/g en  $10^2$  ( $\log_{10}$  2.30) establecidos por la norma, pero la  $M_2$  si está dentro de los límites aceptables para mohos. La marca 3 los valores cuantificados solamente fueron en la  $M_1$ , un promedio de 33 UFC/g ( $\log_{10}$  1.51) en la dilución  $10^2$  y 0 UFC/g en  $10^3$ . Para  $M_2$  ninguna de las diluciones se obtuvo crecimiento de mohos.

La marca 2 el promedio de UFC/g en la  $M_1$  se obtuvo un conteo de 2 000 UFC/g ( $\log_{10}$  3.30) en la dilución  $10^2$  y en la dilución  $10^3$  un total de 1 000 UFC/g. ( $\log_{10}$  3). En la  $M_2$ , el conteo promedio fue de 200 UFC/g ( $\log_{10}$  2.30) en la dilución  $10^2$  y 0 UFC/g en  $10^3$ . El lote 2 en la marca 1, los resultados obtenidos para la  $M_1$  el promedio fue de 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.69), en la dilución  $10^2$  y en la  $10^3$ . En  $M_2$  hubo valores iguales 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.69), en la dilución  $10^2$  y en la  $10^3$ . La marca 2, en la  $M_1$ , la cuantificación fue de 33 UFC/g ( $\log_{10}$  1.51), en la dilución  $10^2$  y en la  $10^3$  no hubo presencia de colonias de mohos. En la  $M_2$  el conteo solo fue en la dilución  $10^2$  con un total de 70 UFC/g ( $\log_{10}$  1.84).

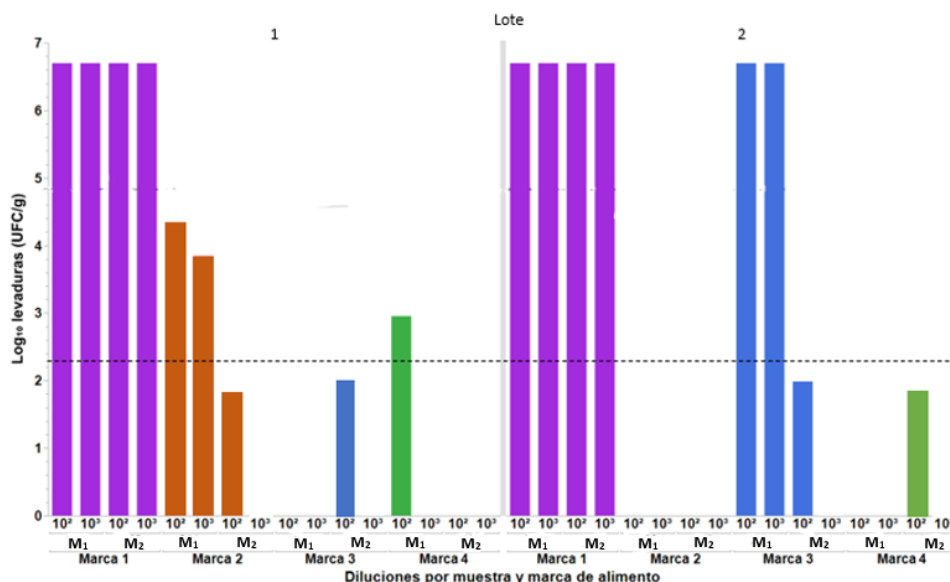
En la marca 3 la  $M_1$  los promedios se elevaron en las dos diluciones ( $10^2$  y  $10^3$ ), los conteos fueron de 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.69), En la  $M_2$ , se obtuvo un conteo promedio de 2,700 UFC/g ( $\log_{10}$  3.43) en la dilución  $10^2$  y en la  $10^3$  un conteo de 1 900 UFC/g ( $\log_{10}$  3.27). La marca 4 los promedios obtenidos de la  $M_1$  fueron de 13 000 UFC/g ( $\log_{10}$  4.11) en la  $10^2$  y 19 000 UFC/g ( $\log_{10}$  4.27) en la  $10^3$  y en la  $M_2$  los

conteos promedios fueron de 1 230 UFC/g ( $\log_{10}$  3.08) en la  $10^2$  y 14 000 UFC/g ( $\log_{10}$  4.14) en la  $10^3$ .

En la cuantificación de levaduras en esta investigación como muestra la Figura 3 se lograron los siguientes resultados:

**Figura 3**

*Recuento en  $\log_{10}$  para levaduras en las cuatro marcas en los lotes 1 y 2.*



En la cuantificación de levaduras para el lote 1, la marca 1 en la M<sub>1</sub> fue de 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.6) en la dilución  $10^2$  y en la  $10^3$  también se obtuvieron los mismos resultados. En la M<sub>2</sub>, el recuento fue de 5,000,000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.6) para las dos diluciones ( $10^2$  y  $10^3$ ).

Para la marca 2, la cuantificación obtenida en la M<sub>1</sub> fue de 22 000 UFC/g ( $\log_{10}$  4.34) en la dilución  $10^2$  y en la dilución  $10^3$  un total de 7 000 UFC/g ( $\log_{10}$  3.84). En la M<sub>2</sub> la cuantificación fue de 70 UFC/g ( $\log_{10}$  1.8) en la  $10^2$  y en  $10^3$  no se obtuvo recuento.

En la marca 3, la M<sub>1</sub> no se obtuvo crecimiento de colonias de levaduras (0 UFC/g) en la dilución  $10^2$  y en la dilución  $10^3$ . En la M<sub>2</sub> los recuentos obtenidos fueron de 100 UFC/g ( $\log_{10}$  2) en  $10^2$  y 0 UFC/g en  $10^3$ .

Los resultados obtenidos de la marca 4 son los siguientes: M<sub>1</sub> en la dilución  $10^2$  un total de 900 UFC/g ( $\log_{10}$  2.95) y en la  $10^3$  no se obtuvo conteo. La M<sub>2</sub> en ninguna de las dos diluciones ( $10^2$  y  $10^3$ ) hubo crecimiento de levaduras.

En el Lote 2 la primera marca, la M<sub>1</sub> los promedios fueron de 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.6) en la dilución  $10^2$  y en la  $10^3$  también se obtuvieron los mismos resultados 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.6). En la M<sub>2</sub> los promedios en las diluciones fueron también de 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.6) en la dilución  $10^2$  y en la  $10^3$ .

La segunda marca los recuentos fueron de 0 UFC/g, en las dos muestras (M<sub>1</sub> y M<sub>2</sub>) y sus respectivas diluciones ( $10^2$  y  $10^3$ ) es decir, no hubo crecimiento de levaduras.

En la tercera marca los valores promedio obtenidos en la M<sub>1</sub> eran de 5 000 000 UFC/g ( $\log_{10}$  6.6) en las dos diluciones ( $10^2$  y  $10^3$ ). En la M<sub>2</sub> el promedio por dilución fue de 100 UFC/g ( $\log_{10}$  2) en  $10^2$  y 0 UFC/g en  $10^3$ .



En la cuarta marca los resultados que se obtenidos en la M<sub>1</sub> fueron de 0 UFC/g en las dos diluciones (10<sup>2</sup> y 10<sup>3</sup>). En la M<sub>2</sub> los resultados promedio fueron de 70 UFC/g (log<sub>10</sub>1.8) en 10<sup>2</sup> y 0 UFC/g en 10<sup>3</sup>.

### Fase de aislamiento, clasificación e identificación de mohos

Para la clasificación de los morfotipos se empleó la categoría taxonómica propuesta por Moller et al. (1995), donde se toma es cuenta el color del micelio, textura, forma del margen, entre otras. A cada grupo se denominó morfotipo y se le asignó un número de identificación. De las 48 placas de 3M™ Petrifilm™ para mohos y levaduras en el lote 1 se clasificaron 19 morfotipos de los cuales el N°1 presenta una frecuencia de 65 seguido por los N°2 y N°3 con una frecuencia de 60 individuo, el N°18 con 22 cepas, el N°9 con cepas y el N°7 con cepas.

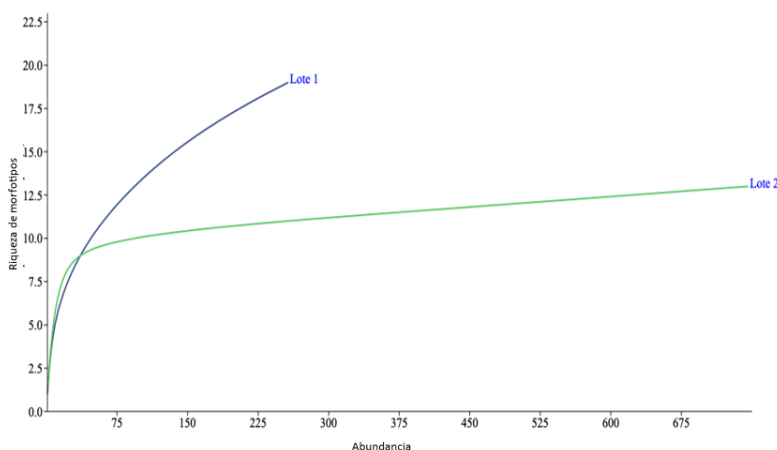
En el segundo lote se agruparon 13 morfotipos, de los cuales 8 de ellos son únicamente del lote 2. De estos los que presentaron una mayor frecuencia fueron los morfotipos N°25 con 104 cepas, el N°26 con 65 cepas, seguido por el N°22 con 62 cepas y el N°21 con 60 cepas. Es necesario señalar que en lote 2 fueron encontradas cepas bajo características morfológicas iguales a las del lote 1 estas son: los morfotipos N°1 con una frecuencia de 120 cepas, al igual que el N°2 y el N°3, seguido por el N°5 con una frecuencia de 60 cepas

### Análisis estadístico de diversidad de morfotipos

Según el análisis realizado para determinar la diversidad de morfotipos en los lotes en estudio, las curvas de diversidad como se muestra en la (Figura 4), no presentan una tendencia a la estabilidad (asíntota), por lo que la posibilidad de encontrar más morfotipos en el estudio aumenta. La diversidad de los morfotipos para el lote 1 fue de (H': 2.058±0.0043) y en el lote 2 (H': 2.176±0.00039), la prueba t de Hutchinson indica que hay una diversidad media (t= -2.1084, df= 304.88, p= 0.03581) y no hay diferencia significativa entre ambos lotes.

### Figura 4

Índice de diversidad de Shannon-Wiener para los morfotipos en el lote 1 y 2.



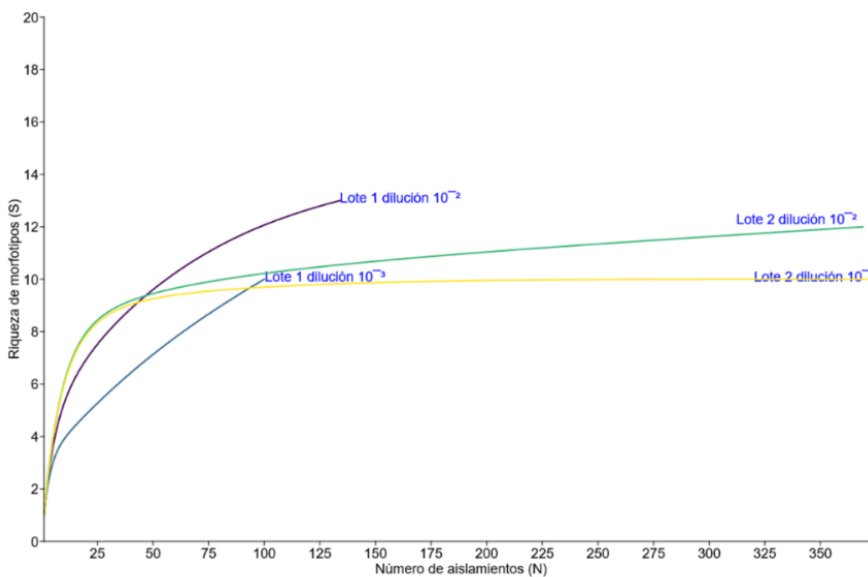
### Diversidad de morfotipos por dilución

En la (Figura 5) se muestra el análisis de diversidad de los morfotipos por cada dilución en los lotes 1 y 2. Para el lote 1 la dilución 10<sup>2</sup> presentó una diversidad de (H':2.005 ±

0.0059177) y la curva no presenta una tendencia a la estabilidad, en la dilución  $10^3$  la diversidad fue menor ( $H': 1.542 \pm 0.0084311$ ) y su curva tampoco presenta una tendencia a estar estable (asíntota). En cambio, para el lote 2 probablemente la diversidad en las diluciones sea similar, ya que para  $10^2$  la diversidad fue de ( $H': 2.184 \pm 0.00079899$ ) y  $10^3$  ( $H': 2.153 \pm 0.00062146$ ), en este lote las curvas en ambas diluciones ya presentan una tendencia a la estabilidad, lo que indica que todos los morfotipos presentes en ambas diluciones se encontraron (Tabla 1).

**Figura 5**

*Índice de diversidad de Shannon-Wiener para los morfotipos en las diluciones  $10^2$  y  $10^3$  de los lotes 1 y 2*





**Tabla 1**

*Morfotipos identificados en los lotes 1 y 2. Criterios morfológicos para la caracterización de hongos según Moller et al., (1995).*

Morfotipo	Tasa de crecimiento	Textura	Color	Forma del margen	Identificación taxonómica
1	lento	Liso	verde pardusco chocolate	circular	<i>Penicillium frequentas</i>
2	lento	Liso	claro	circular	Estructura vegetativa
3	lento	Liso	celeste chocolate	circular	Estructura vegetativa
4	medio	fibroso	oscuro chocolate	irregular	<i>Penicillium fellutanum</i>
5	medio	Lisa	claro Pardo	circular	<i>Penicillium fellutanum</i>
6	medio	Lisa	verdoso	circular	Estructura vegetativa
7	lento	Lisa	verde claro	irregular	Estructura vegetativa
8	medio	Liso	celeste	irregular	Estructura vegetativa
9	lento	Liso	Chocolate verde	irregular	Estructura vegetativa
10	lento	Liso	azulado	circular	Estructura vegetativa
11	medio	fibrosa	verde oscuro	circular	Estructura vegetativa
12	medio	fibroso	celeste claro chocolate	irregular	<i>Aspergillus terreus</i>
13	medio	fibroso	claro azul	irregular	<i>Aspergillus flavus</i>
14	medio	fibroso algodón	parduzco	irregular	<i>Penicillium corylophilum</i>
15	medio	so	azul claro	flecos	Estructura vegetativa
16	medio	Limoso	azul chocolate	irregular	<i>Aspergillus terreus</i>
17	medio	Fibroso	claro	circular	<i>Aspergillus flavus</i>
18	medio	fibroso	negro	circular	<i>Stachybotrys sp.</i>
19	medio	Liso	gris claro	circular	<i>Trichoderma sp.</i>
20	medio	fibroso	celeste claro	circular	Estructura vegetativa
21	medio	liso	verde claro	circular	Estructura vegetativa
22	medio	liso	celeste claro	circular	<i>Penicillium fellutanum</i>
23	lento	liso	Verde chocolate	circular	Estructura vegetativa
24	medio	Fibroso	claro	circular	Estructura vegetativa
25	medio	Fibroso	Gris Chocolate	irregular	<i>Penicillium corylophilum</i>
26	medio	Fibroso	claro anaranjado	circular	<i>Aspergillus flavus</i>
27	medio	Liso	claro	irregular	<i>Penicillium citreoviride</i>

### Aislamiento e identificación de mohos

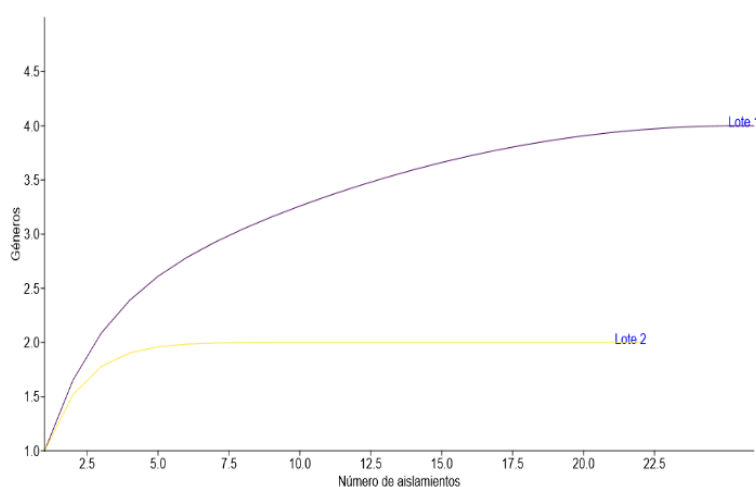
De los 27 morfotipos obtenidos del lote 1 y el lote 2 se tomaron segmentos de hifas y fueron transferidos a platos Petri con agar PDA (por triplicado) e incubados a temperatura ambiente de 25-32°C por 8 días, con periodos de luz y oscuridad (Figura 8); luego de observar crecimiento y desarrollo ocho días de los distintos aislamientos, se empleó la técnica de microcultivo para cada cepa y así lograr la identificación microscópica de cada una de ellas.

### Abundancias géneros aislados

Los resultados obtenidos en los dos lotes, evidencio que el esfuerzo de muestreo fue bueno, esto quiere decir que se logró encontrar e identificar la mayoría de los géneros presentes en todo el estudio. Como se muestra en la Figura N°6, en el lote 1 la diversidad de géneros presente fue mayor ( $H': 1.177 \pm 0.017109$ ), la curva de diversidad presenta una tendencia a la estabilización. En el lote 2 la diversidad de géneros aislados fue menor ( $H': 0.7117 \pm 0.0014077$ ) la curva también presenta la tendencia a estar estable. La prueba de t de Hutchinson indica que hay una diferencia significativa entre ambos lotes y la diversidad de géneros en ambos lotes es alta ( $t=3.1597$ ,  $df= 30.213$ ,  $p= 0.0035745$ ).

### Figura 6

Índice de diversidad de Shannon-Wiener para los géneros de mohos en el lote 1 y 2

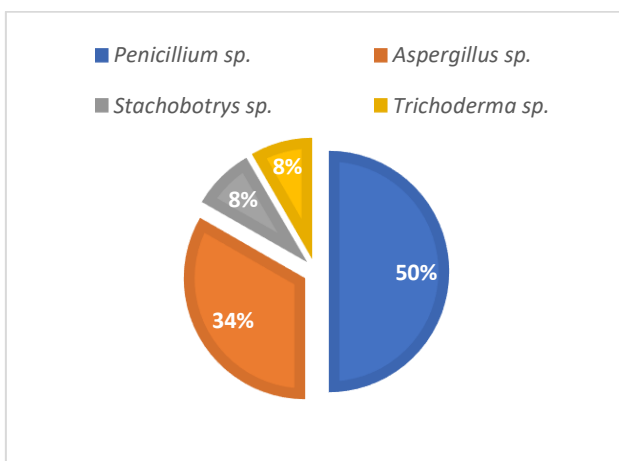


### Porcentaje de géneros aislados en cada lote

La Figura 7 muestra que en el lote 1, el género *Penicillium sp.* alcanza un 50 % del total de muestras analizadas, siendo el de mayor presencia, seguido del género *Aspergillus sp.* el cual estuvo presente en un 34%. Los siguientes géneros como el *Stachobotrys sp.* tuvo presencia de un 8%, al igual que el género *Trichoderma sp* (8%).

**Figura 7**

Porcentaje de géneros de mohos aislados en el lote 1

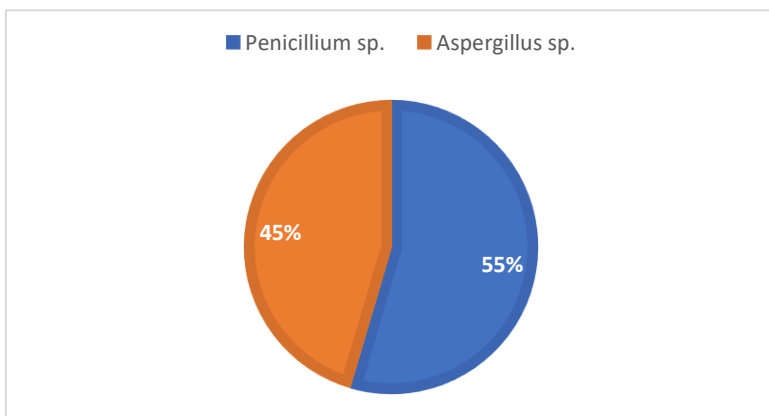


### Géneros aislados en el lote 2

De los aislamientos en el lote 2 como se muestra en la Figura 8, solo dos géneros se identificaron: *Aspergillus sp.* que fue el más abundante con un 55% de presencia en las muestras y el género *Penicillium sp.* con un total de 45%.

**Figura 8**

Porcentaje de géneros de mohos aislados en el lote 2



### Identificación de especies de mohos aislados

Con la técnica de microcultivo se logró observar las diferentes partes vegetativas (hifas, esporas, vesículas, estípites, etc.) del género *Penicillium sp.* para el cual se identificaron cuatro: *P. corylophilum*, *P. frequentans*, *P. fellutanum* y *P. citreo-viride* como se muestra en la tabla 2, del género *Aspergillus sp.* se lograron identificar *A. flavus* y *A. terreus*. Otros géneros presentes fueron el *Stachybotrys sp.* y *Trichoderma sp.* presentes solamente en el primer lote.

**Tabla 2**

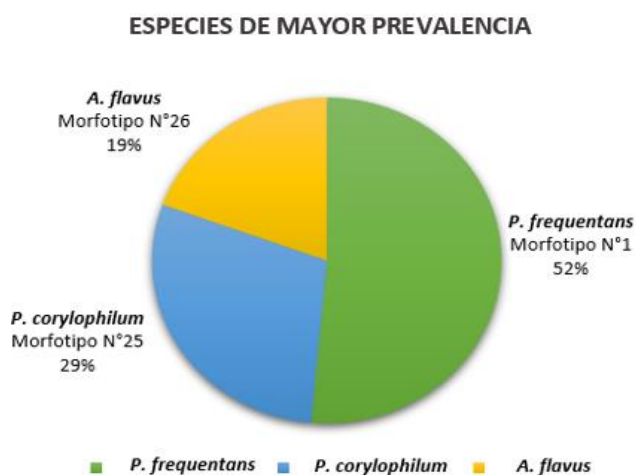
*Géneros y especies identificadas en los lotes*

Género	Especie	N.º de Morfotipo	Lote
<i>Penicillium</i>	<i>P. corylophilum</i>	14 y 25	1 y 2
	<i>P. frequentans</i>	1	1 y 2
	<i>P. fellutanum</i>	4 ,5 y 22	1 y 2
	<i>P. citreo-viride</i>	27	2
<i>Aspergillus</i>	<i>A. Flavus</i>	13,17 y 26	1 y 2
	<i>A. Terreus</i>	16 y 12	1
<i>Stachybotrys</i>		18	1
<i>Trichoderma</i>		19	1

Luego de la identificación taxonomica tres de las especies presentaron mayor como se muestra en la (Figura 9). El morfotipo N°1 identificado como *P. frequentans* abarcó el 52% de prevalencia, seguido por el morfotipo N°25 (*P. corylophilum*) con el 29% y por último el morfotipo N° 26 identificado como *A. flavus* con 19% de prevalencia.

**Figura 9**

*Géneros y especies identificadas de los lotes en estudio.*



***Penicillium frequentans***

Es un hongo común aislado en todo el mundo del suelo, plantas, plumas de aves, jerbos, ranas, orugas, pulpa de madera, papel, alimentos a base de harina, colmenas de abejas, frutas y jugos de frutas. Por su frecuencia esta asociada con las contaminaciones en las materias primas de los alimentos, además esta especie está implicado en la suberosis, una enfermedad respiratoria en los humanos (EDlab, 2022).

### *Penicillium corylophilum*

Es un hongo perteneciente al subgénero *Furcatum* del género *Penicillium*. Comúnmente se puede aislar de cereales (cebada, arroz con cáscara, trigo), harina, nueces, frutas y pasteles congelados, lácteos, frutas y productos cárnicos. *P. corylophilum* a menudo contamina alimentos ricos en grasa, el aceite y la margarina. También se encuentra con frecuencia en edificios húmedos, materiales de construcción mohosos, madera y madera manufacturada (Somborski y Sadikovic, s.f).

*P. corylophilum* produce compuestos muy dañinos como la micotoxina citrinina y el alcaloide cornezuelo de centeno epoxiagroclavina. La citrinina (CTN) se aísla inicialmente de *Penicillium citrinum*, que es el principal productor de esta micotoxina de un grupo de policétidos. Se ha informado que otras especies de *Penicillium*, incluyendo *P. corylophilum*, pueden producir citrinina. La citrinina se encuentra en diferentes productos vegetales, principalmente en granos después de la cosecha y granos almacenados (Somborski y Sadikovic, s.f).

Múltiples estudios en animales revelaron que la citrinina es principalmente tóxica para los riñones, pero también afecta el hígado y el sistema inmunológico y puede ser cancerígena. La cantidad máxima de citrinina permitida en los alimentos se agregó recientemente a las regulaciones de la Unión Europea, lo que indica que este tipo de micotoxina está causando mucha preocupación (Somborski y Sadikovic, s.f).

### *Aspergillus flavus*

Es un hongo filamentoso hialino, saprofito, perteneciente al filo *Ascomycota*. Se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios). Es una especie patógena oportunista que causa infecciones locales y superficiales como las micosis (otomicosis, onicomycosis, queratitis) y el aspergiloma o bola fúngica que se desarrolla en una cavidad como en una lesión pulmonar, producida por una enfermedad pulmonar previa o en un seno nasal y aspergilosis pulmonar crónica.

El Instituto nacional de seguridad y salud en el trabajo de España (INSST, 2021) y la OMS (2018) afirman que *A. flavus* es uno de los principales productores de aflatoxina B1, B2, G1 y G2 que están clasificadas en el grupo 1 de cancerígenos del IARC (carcinógeno para humanos y animales). Los efectos cancerígenos son principalmente por vía digestiva debido a la ingesta de micotoxinas, y no están suficientemente demostrados por vía respiratoria o dérmica.

En estudios anteriores distintos autores como Bustos (2006), Herrera (2007), Muñoz et al. (2015), Arce y Reyes (2021), coinciden respecto a que los alimentos concentrados o balanceados a granel para mascotas sobrepasan los índices de hongos que alteran la vida útil de estos alimentos y generan graves consecuencias como las intoxicaciones alimentarias.

En base a lo mencionado anteriormente Quiroz y Velasco (2021), confirman que en sus muestras el 50% resultado positivo para la presencia de mohos y negativo para la presencia de levaduras, Herrera (2007), por otra parte, menciona que los recuentos en la mayoría de sus lotes el 47% fueron superiores al umbral aceptado ( $10^2$ ). En los dos lotes analizados en la presente investigación se evidencio que el 62% de las muestras para mohos, sobrepasaron los límites microbiológicos y para las levaduras en el 43%, lo que indica que superaron incluso los porcentajes de los autores mencionados.

En las comparaciones estadísticas de los recuentos de hongos en los lotes que conformaban los lotes, superaron los límites microbiológicos que separa la calidad medianamente aceptable de la rechazable y que no debiera ser sobrepasado por ninguna unidad de muestra, ( $10^3/10g$ ), según la Norma sanitaria RM N° 615-2003 SA/DM de Perú; solamente la marca 2 cumplió con los límites microbiológicos para hongos establecidos en dicha norma. Es necesario señalar que los valores de recuento de hongos aumentan cuando son a granel, por las variables como la humedad, temperatura, almacenamiento y fechas de vencimiento.

Para identificar los hongos presentes en las muestras se clasificaron 27 morfotipos y de ellos se lograron aislar cuatro géneros de hongos, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Stachybotrys* y *Trichoderma*. De estos cuatro, *Aspergillus* y *Penicillium* presentaron mayor prevalencia durante todo el estudio, lo que concuerda con lo reportado por Muñoz et al. (2015), donde tres géneros en su investigación prevalecen en estos tipos de alimentos concentrados, estos son: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*; hay que resaltar que según Arce y Reyes (2021), estos dos géneros mencionados anteriormente *Aspergillus* y *Penicillium* están relacionados con la producción de micotoxinas. De los géneros se identificaron tres especies con mayor prevalencia: *P. frequentis*, *P. corylophilum* y *A. flavus*.

De las tres especies anteriormente mencionadas dos de ellas están relacionadas con la producción de micotoxinas. *P. corylophilum* que esta reportada en la unión europea según Somborski y Sadikovic (s.f), como productora de citrina y *A. flavus* como productor de aflatoxina. Arce y Reyes (2021) y Muñoz et al., (2015), también reportan que el mayor porcentaje de identificación en sus muestras lo presenta *A. flavus* donde confirman que es una especie que se caracteriza por la producción de dicha toxina.

El desarrollo de los hongos este asociado con la humedad y la temperatura, los alimentos concentrados a granel por no estar sellados herméticamente están expuestos a estas variaciones, lo que genera que estos productos no cumplan con el 6-10% de humedad que menciona Bustos (2006) y estén propensos a la colonización de hongos o bacterias (Herrera, 2007). Las muestras de los lotes analizados en el presente estudio no superaban el 2% de humedad, lo cual genera preocupación, ya que como lo afirma Herrera (2007), las condiciones de baja humedad en estos alimentos benefician el crecimiento de los hongos sobre el crecimiento bacteriano. Por ejemplo, Arce y Reyes (2021), explica que *A. flavus* para su desarrollo necesita componentes relevantes como lo son el tenor de humedad del substrato, humedad relativa y temperatura (para su desarrollo es 36 - 38 °C), no obstante, la máxima producción de aflatoxinas en esta especie está entre 25 - 27 °C, así como la sequía en la precosecha de los granos, la humedad en las plantas, tiempo húmedo junto con altas temperaturas en la cosecha y variedades de granos propensos a la contaminación.

### Conclusiones

Los alimentos a granel analizados presentan recuentos que sobrepasan los límites microbiológicos permisibles para hongos y ninguna de las cuatro marcas analizadas cumple con los límites microbiológicos permitidos en la norma RM N° 615-2003 SA/DM de Perú para hongos. Además, se identificaron cuatro géneros de hongos de los cuales *Penicillium sp.* y *Aspergillus sp.* presentaron mayor prevalencia en todas las muestras, seguidos por *Trichoderma sp.* y *Stachybotry sp.* con menor prevalencia. En todas las muestras se detectó la presencia de géneros y especies productoras de micotoxinas, *A. flavus* con un porcentaje de 19% y *P. corylophilum* con 29% de las



especies con mayor prevalencia. Finalmente, las pruebas de humedad no superaron el 2% en todas las muestras, esto indica que están por debajo de los índices normales lo que beneficia el crecimiento fúngico.

### Referencias bibliográficas

- Arce Hidalgo, J. B., Reyes, S. E. (2021). Tesis. Determinación de Aflatoxinas en alimento balanceado para perros. Recuperado a partir de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/57305>
- Asociación Madrileña de Veterinarios de Animales de Compañía (AMVAC,2020). Intoxicación alimentaria en mascotas. <https://enelveterinario.com/intoxicacion-alimentaria-en-mascotas/>
- Bustos, C. (2006). Calidad microbiológica de alimentos para perros comercializados a granel. <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/133752>
- Cornejo, J., Villarroel, O. (2012). Antecedentes generales sobre las aflatoxinas y otras micotoxinas y elementos a tener en cuenta para el diseño de prácticas correctas de cultivo y elaboración de nueces. Chile, Ministerio de Salud Chile. <https://www.minsal.cl/portal/url/item/72fd6274dad8792ee04001011f0109e4.pdf>
- Environmental Diagnostics Laboratory (EDLab). (2022 junio, 26). *Penicillium frequentans*. *Penicillium frequentans* - EDLab
- Fung, F., Clark, R. (2004). Efectos de las micotoxinas en la salud: una descripción general toxicológica, *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 42:2, 217-234, DOI: 10.1081/CLT-120030947
- Herrera, M. A. (2007). Análisis de la calidad microbiológica del alimento concentrado comercial para perros adultos que se expende en Costa Rica. <http://repo.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/1045/1/28022.pdf>
- Instituto Nacional del Trabajo (INSST). (2021). *Aspergillus flavus*. *Aspergillus flavus*. - Agentes Biológicos - Hongo ([insst.es](http://insst.es))
- Macario S., E. (2021). Determinación de la presencia de mohos y levaduras en alimento para caninos expandido a granel en el Mercado de Villa Nueva. Licenciatura tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala. <http://www.repositorio.usac.edu.gt/15377/>
- Moller, Ch. (1995). Manual Biolead Project. Switzerland. 24 – 28
- Muñoz, D., Rodríguez, R., Mota, J., Suarez, L. (2015). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos en alimentos concentrados para mascotas domésticas (perros y gatos). *Revista Científica*, vol. XXV, núm. 6, pp. 432-438 <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=95944009003>
- Organización Mundial de la Salud (OMS,2018). Micotoxinas. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/mycotoxins>
- Quiroz Zúñiga, V. A., Velasco, A. B., (2021). Determinación de hongos en alimentos balanceados de perros y gatos. <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/56941>

Somborski, J., Sadikovic, D. (s.f). *Penicillium Corylophilum*. library.bustmold. Mold Busters. Decontamination Experts I EST. 2005. [Penicillium corylophilum - Health Effects, Toxicity and Treatment \(bustmold.com\)](#)