



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## **Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional**

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2024-FFBB-014

**CONSTANCIA**

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

**“Evaluación de la prevalencia de ocratoxina A en vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica”**

Presentado por:

**FELIPA TORREJON, FRANCISCO ANTONIO**

**Bachiller** del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **14%** por el cual se otorga el calificativo de:

**APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.**

Con Código de Matricula: 20152864

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad. Observaciones:

Ica, 9 de Octubre de 2024

.....  
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE  
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE  
INVESTIGACION FACULTAD DE FARMACIA  
Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

Facultad de Farmacia y Bioquímica



"Evaluación de la prevalencia de ocratoxina A en vinos artesanales  
producidos en la ciudad de Ica"

Línea de Investigación  
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

Bach. FRANCISCO ANTONIO FELIPA TORREJON

Ica-Perú

2024

## **DEDICATORIA**

A mis padres Teobaldo y Carmen que siempre están presente en cada etapa de mi vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Felipe Artemio Surco Laos por haberme ayudado en el desarrollo y supervisión de este trabajo científico.

A mi asesor de tesis Mg. Juan Felipe Panay Centeno por haberme involucrado en este estudio y orientarme en cada etapa.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Portada	
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Índice	iv
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen	viii
Abstract	ix
I. Introducción	10
II. Estrategia metodológica	24
III. Resultados	31
IV. Discusión	42
V. Conclusiones	45
VI. Recomendaciones	46
VII. Referencias bibliográficas	47
VIII. Anexos	50

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Requisitos fisicoquímicos de vinos según la NTP 212.014. 2011	23
Tabla 2. Clasificación de las muestras de vinos tintos estudiados	31
Tabla 3. Determinación del extracto seco en las muestras de vinos	34
Tabla 4. Determinación de la acidez total de los vinos en estudios	36
Tabla 5. Determinación de pH y grado alcohólico aparente en la muestra en estudios	38
Tabla 6. Contenido de Ocratoxina A en vinos analizados expresados en ug/L	40



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Formulas estructurales de diversas micotoxinas.	15
Figura 2. Estructuras de las diversas clases de ocratoxinas	16
Figura 3. Racimo de uva con mohos	17
Figura 4. Muestras de vinos adquiridas para el estudio	21
Figura 5. Proceso de elaboración del vino	22
Figura 6. Distribucion de las muestras de vino según tipo de vino indicado en la etiqueta	32
Figura 7. Distribución de muestras según procedencia	32
Figura 8. Distribución de muestras según tipo de uva declarado	33
Figura 9. Distribución de los vinos analizados de acuerdo al contenido de extracto seco	35
Figura 10. Cumplimiento con requisito de extracto seco según NTP 212.014	35
Figura 11. Representación del cumplimiento de acidez total según requisito de la norma técnica peruana 212.014 2016	37
Figura 12. Representación de la medida de pH y grado alcohólico en las muestras	39
Figura 13. Distribución de muestras según la presencia o ausencia de ocratoxina	41
Figura 14. Distribución de presencia de ocratoxina según el tipo de vino	41
Figura 15. Muestras de vinos adquiridas para el estudio	50
Figura 16. Codificación de muestras para el análisis	50
Figura 17. Determinación de pH en muestras de vinos	51
Figura 18. Toma de muestra para la determinación de extracto seco	52
Figura 19. Peso de la placa para la determinación del extracto seco	52
Figura 20. Toma de las porciones de vino para enviar a la ciudad de Lima.	53

Figura 21. Determinación de acidez total en vinos	54
Figura 22. Titulando una muestra de vino	55
Figura 23. Lector de Elisa de microplacas empleado en la determinación de ocratoxina	56
Figura 24. Reactivos del kit para la determinación de ocratoxina A	57
Figura 25. Microplacas en reacción en la determinación de ocratoxina A.	58

## RESUMEN

La ocratoxina A (OTA) es una micotoxina catalogada como posible cancerígeno, producida por varias especies de hongos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, que pueden contaminar alimentos como cereales, granos de café, el vino, entre otros, provocando una respuesta tóxica cuando es ingerida a bajas concentraciones en seres humanos y animales. El objetivo de la presente investigación fue determinar la presencia y contenido de Ocratoxina A en los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica. La recolección de las muestras de vino se realizó en distintas zonas de la ciudad, tratando de representar a toda zona productora de la provincia. Se determinaron algunos parámetros fisicoquímicos de acuerdo a los métodos oficiales de la AOAC y el método empleado para la determinación de Ocratoxina A fue mediante la técnica de inmunoafinidad según el kit de RIDASCREEN Ochratoxin A® de R-Biopharm, Alemania; como resultado un 40% de las muestras no cumplen con el requisito de acidez según la NTP 212.014. 2011, y la prevalencia de Ocratoxina A fue de 66% del total de muestras analizadas, pero con valores inferiores a 2 ug/L, Concluyendo que si bien, algunas muestras no cumplen con los requisitos fisicoquímicos, en cuanto al contenido de ocratoxina A no superan los límites máximos permitidos, según la legislación de e la Unión Europea por el Reglamento (UE) 2022/1370.

**Palabras claves:** Vinos artesanales, micotoxinas, Ocratoxina A, parámetros fisicoquímicos.

## ABSTRACT

Ochratoxin A (OTA) is a mycotoxin classified as a possible carcinogen, produced by several species of fungi of the *Penicillium* and *Aspergillus* genera, which can contaminate foods such as cereals, coffee beans, wine, among others, causing a toxic response when it is ingested at low concentrations in humans and animals. The objective of this research was to determine the presence and content of Ochratoxin A in artisanal wines produced in the city of Ica. The collection of wine samples was carried out in different areas of the city, trying to represent all producing areas of the province. Some physicochemical parameters were determined according to the official AOAC methods and the method used for the determination of Ochratoxin A was through the immunoaffinity technique according to the RIDASCREEN Ochratoxin A® kit from R-Biopharm, Germany; As a result, 40% of the samples do not meet the acidity requirement according to NTP 212.014. 2011, and the prevalence of Ochratoxin A was 66% of the total samples analyzed, but with values lower than 2 ug/L, concluding that although some samples do not meet the physicochemical requirements, regarding the content of ochratoxin A they do not exceed the maximum permitted limits, according to the legislation of the European Union by Regulation (EU) 2022/1370.

**Keywords:** Artisanal wines, mycotoxins, Ochratoxin A, physicochemical parameters.

## I. INTRODUCCIÓN

La ciudad de Ica es la primera ciudad productora de *Vitis viníferas* en el país, siendo un gran porcentaje de esta producción destinada a la elaboración de bebidas alcohólicas como el vino.

El vino es una bebida alcohólica hecha de uva, mediante la fermentación de su mosto o zumo. La fermentación se efectúa a través de la acción metabólica de levaduras, que convierten los azúcares naturales en etanol y dióxido de carbono <sup>1</sup>. En los últimos años es cada vez más la exigencia de la seguridad alimentaria en la enología y viticultura, Los vinos artesanales no siguen ninguna normativa determinada, sino que la elaboración depende del productor que sigue sus propios procedimientos, aunque en general se basa en los mismos principios según Tornello y Hernández, 2022<sup>2</sup>; pero en estos vinos un aspecto importante es el riesgo que suponen para el consumidor la presencia de contaminantes tóxicos como las micotoxinas en especial la ocratoxina A.

La Ocratoxina A es una micotoxina fue descrita por primera vez en 1965 en África por el biólogo Van der Merwe y colaboradores al apreciar su presencia en algunas muestras de maíz. Como fue descubierta y descrita inicialmente como un metabolito de la especie de moho *Aspergillus ochraceus*, fue bautizada con el nombre de ocratoxina (Pavon y col 2007)<sup>3</sup>. Las ocratoxinas son resultados del metabolismo secundario de ciertos hongos filamentosos de las especies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* que comúnmente están presentes en el suelo y en las materias orgánicas desde donde se expanden y se despliegan en las uvas durante la fase de maduración de las bayas en las cuales encuentran el ambiente propicio para la producción de estas micotoxinas, de las cuales, la más tóxica resulta ser la A (Neopuceno y col 2016)<sup>4</sup>.

El Reglamento (UE) 2022/1370<sup>5</sup> establece que el consumo de vinos que contengan niveles mayores a 2,0 ug/L pueden causar una perturbación toxicológica o problemas de salud. En nuestro país existen pocos estudios enfocados en la detección de las micotoxinas, por lo cual, el presente estudio está enfocado en determinar la presencia y el contenido de Ocratoxina A en los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica, utilizando el método de inmunoafinidad según el kit de RIDASCREEN Ochratoxin A® de R-Biopharm<sup>6</sup>.

## 1.1 Descripción de la realidad problemática.

La Ocratoxina A (OTA) es un metabolito secundario de origen fúngico con propiedades tóxicas que es producido principalmente por las especies *Aspergillus* y *Penicillium*. Los hongos responsables de la presencia de OTA en vinos son fundamentalmente cepas de *Aspergillus* de la sección Nigri, que crecen sobre el terreno y la uva de vinificación. Por los años 90 se determinó la presencia de Ocratoxina A (OTA) productos derivados de la uva como: vinos, jugos de uva y pasas de uva. Los análisis realizados en Dinamarca y Finlandia y últimamente en otros países Europeos y los Estados Unidos han demostrado que los vinos, jugos de uva y especial los vinos dulces naturales pueden contener hasta 10 ug/L de OTA<sup>7</sup>. En nuestra región es la zona vitivinícola por excelencia del país y donde se producen vinos artesanales, siendo la mayor cantidad del tipo dulce, los cuales no tienen ningún tipo de control en este aspecto por la autoridad competente local ni nacional. Actualmente, la resolución CST 1/2002 de la Organización Internacional de la Vid y el Vino (OIV) fija en 2,0 ug/L el contenido máximo de OTA en los vinos<sup>8</sup>, lo que nos despierta el interés por conocer la realidad de los productos de nuestra región considerando que las condiciones agroclimáticas son propicia para el desarrollo de hongos ocratoxigenicos.

## 1.2 Antecedentes de la Investigación

### Internacionales.

- Garmendia G (2011). describió la presencia de *Aspergillus japonicus*, *Aspergillus aculeatus* y *A. uvarum* en la superficie de bayas de *Vitis vinifera*, de las cuales las dos primeras especies son capaces de producir OTA. Aisló, identifico y caracterizo 57 cepas de *Aspergillus* pertenecientes a la Sección Nigri. Las cepas se clasificaron por métodos fenotípicos y luego su identificación a nivel de especie a través de un método de biología molecular basado en el RFLP. 10 % como *A. uvarum*, 5 % como *A. tubingensis* -like y 5 % como *A. foetidus*. No se aislo *A. carbonarius* en las muestras estudiadas. Las cepas fueron diferenciadas respecto a sus propiedades de producir OTA en el medio de cultivo y en piel de uva Tannat y respecto a su sensibilidad al uso de fungicidas convencionales para el control de Botrytis<sup>9</sup>.
- Ravelo y col (2011) realizaron una revisión bibliográfica acerca de artículos y publicaciones relacionados con la toxicidad, los mecanismos de acción, análisis y legislación de la Ocratoxina A en alimentos publicados en las bases de datos de MEDLINE/PubMed, Science Direct, Scielo, Ebscohost. Observándose la presencia de OTA en diferentes grupos de alimentos. Los niveles determinados son inferiores

a los permitidos por la normativa vigente en ese momento. Sin embargo, se observó poco adecuadas las prácticas agro tecnológicas de producción y la incorrecta conservación de ciertos alimentos que siguen constituyendo puntos de control crítico para impedir los riesgos tóxicos como consecuencia de la exposición humana a esta toxina<sup>10</sup>.

- Bahamondes M (2012), desarrollo un método de cromatografía líquida de alto rendimiento para la identificación y cuantificación de ocratoxina A (OTA) y su evaluación de aplicabilidad en vinos tintos. Elaboró una fase móvil y varias curvas de calibración a partir de estándares puros y la fortificación de vinos. Se evaluó especificidad, recuperabilidad, la estabilidad, variabilidad y reproducibilidad del método. Las curvas de calibración presentaron un valor de  $R^2$  igual a 0,99, límite de cuantificación de 0,088 ng/mL y límite de detección de 0,043 ng/mL de OTA. Observó que no hubo interferencia en el tiempo de retención de OTA al tratar los vinos fortificados, obteniendo porcentaje de recuperabilidad de un 95%. Concluyendo que el método desarrollado es reproducible, confiable en la detección y cuantificación de OTA y fácil de aplicar en vinos tintos<sup>11</sup>.
- Munuera A (2018), realizó una revisión de la toxicidad de las micotoxinas, centrándose fundamentalmente en la ocratoxina A, micotoxina que suele encontrarse el café y en el vino. Describió las diversas técnicas utilizadas para la extracción y las técnicas de detección y la cuantificación de OTA. Siendo la técnica de extracción más utilizada las columnas de inmunoafinidad, debido a su sencillez y rapidez, y la técnica de determinación cuantitativa para el estudio de OTA en el café y el vino, la cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a un detector de fluorescencia. En conclusión, muestra los niveles de OTA hallados por diversos autores y su comparación con los límites máximos legales<sup>12</sup>.
- Elías y col (2021) determinaron la contaminación por Ocratoxina A (OTA) en vinos de producción artesanal. Para la identificación y cuantificación se empleó la Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento con detección por fluorescencia (HPLC-FL). Determinándose un límite de detección de 0,043 µg/L; así como, un límite de cuantificación de 0,088 µg/L. 15 muestras de vinos artesanales fueron analizadas, detectándose la presencia de OTA en todas las muestras del estudio, de estas dos muestras presentaron concentraciones por encima del límite máximo permisible señalado en la normatividad de la Unión Europea (2 µg/L)<sup>13</sup>.

## Nacionales

- Vargas A (2014). Determino la incidencia de hongos toxicogénicos en uvas destinadas a la producción de vinos, El objetivo consistió en aislar e identificar especies de hongos potencialmente toxicogénicos de uvas de la provincia de Río Negro, Argentina y asimismo determinar la capacidad toxicogénica. Analizo 10 muestras de uvas de variedad Malbec de los viñedos de las localidades de Mainqué y Villa Azul. aislándose 441 cepas de hongos, siendo el 40.8% perteneciente al género *Penicillium* y el 21.8% al género *Alternaria*. Se lograron 85 aislamientos del género *Alternaria*, de los cuales 5 correspondían al grupo-especie *A. alternata*, 5 al grupo-especie *A. arborescens* y 75 al grupo-especie *A. tenuissima*. También, se establecieron los perfiles de producción de los aislamientos, localizándose que todos produjeron al menos una toxina y el 66% produjeron tres toxinas<sup>14</sup>.
- Cadenillas L (2017) determino la micobiota que se encontraba en muestras de pprika cosechadas en los departamentos de Lima, Ica, Lambayeque y Arequipa; en la que caracterizó las especies de *Aspergillus* sección Nigri a través de la morfología clásica, el empleo de herramientas moleculares y determino la incidencia natural de OTA en dichas muestras. Los resultados mostraron que los géneros fúngicos más frecuentemente aislados fueron *Aspergillus sp* y *Penicillium sp*. Con respecto a *Aspergillus* sección Nigri, todas las especies aisladas pertenecían al agregado *A. niger* y se aislaron más en las localidades de Arequipa e Ica. En estas localidades se revelaron los valores más altos de OTA siendo estos de 33.2 ppb y 33.6 ppb, respectivamente <sup>15</sup>.

### 1.3 Justificación e Importancia.

La ciudad de Ica, es la primera ciudad productora de *Vitis viniferas* en el país, siendo un gran porcentaje de esta producción destinada a la elaboración de bebidas alcohólicas como el vino y el pisco. Los vinos de producción artesanales por lo general no siguen ninguna normativa determinada en su elaboración, sino que la elaboración se basa en los conocimientos y experiencias del productor, que sigue sus propios procedimientos adquiridos por tradición familiar, aunque fundamentalmente se basa en los principios conocidos desde siempre. Muchos de estos vinos producidos en pequenas bodegas, no tienen un estricto control de calidad que garantice el aspecto de la seguridad alimentaria, aspecto que suponen un riesgo para el consumidor, la posible presencia de contaminantes tóxicos como son las micotoxinas en especial la



ocratoxina A. Por lo tanto, la importancia de la presente investigación desde el aspecto de la seguridad alimentaria sería conocer el estado de contaminación de los vinos artesanales por estas micotoxinas y desde el punto de vista académico incursionar en el análisis a través de pruebas de inmunoafinidad en el análisis de alimentos en nuestra facultad.

#### **1.4 Objetivos de la Investigación.**

##### **General**

- Determinar la presencia de Ocratoxina A en los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica.

##### **Específicos**

- Establecer los parámetros fisicoquímicos básicos como pH, acidez total, grado alcohólico y extracto seco de los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica.
- Determinar el contenido de ocratoxina A en los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica

#### **1.5 Marco Teórico**

##### **1.5.1 Micotoxinas**

Las micotoxinas se definen como metabolitos secundarios originados principalmente por hongos filamentosos bajo ciertas condiciones de humedad y temperatura, cuya ingestión, inhalación o absorción a nivel cutáneo disminuye la actividad, produce enfermedad u origina la muerte de animales y personas <sup>9</sup>. Estas sustancias son producidas especialmente por hongos pertenecientes a los géneros como *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Alternaria*.

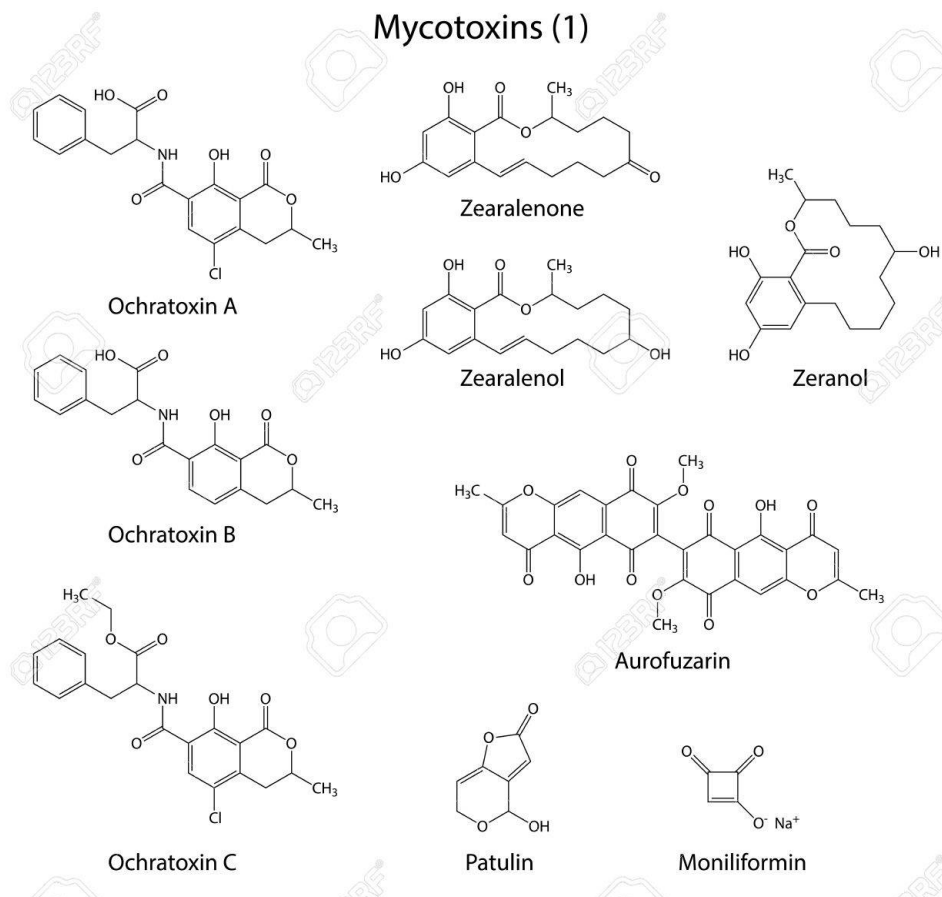


Figura 1. Formulas estructurales de diversas micotoxinas

Fuente: [https://es.123rf.com/photo\\_30181550\\_f%C3%B3rmulas-qu%C3%ADmicas-estructurales-de-micotoxinas-ocratoxina.html](https://es.123rf.com/photo_30181550_f%C3%B3rmulas-qu%C3%ADmicas-estructurales-de-micotoxinas-ocratoxina.html)

### 1.5.2 Ocratoxinas

Las ocratoxinas son un conjunto de micotoxinas originadas principalmente por especies fúngicas de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*. El conjunto de las ocratoxinas está constituido por ocratoxina A (OTA), ocratoxina B (OTB), ocratoxina C (OTC), ocratoxina  $\alpha$  (OT $\alpha$ ) y ocratoxina  $\beta$  (OT $\beta$ ), siendo la OTA la más tóxica para el ser humano (El Khoury y Atoui, 2010). Especialmente la OTA, tiene efectos carcinogénicos, nefrotóxicos, teratogénicos e inmunosupresivos (López de Cerain et al, 2000)<sup>16</sup>. Fue clasificada por la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC por sus siglas en inglés) como perteneciente al grupo 2B, lo cual revela que es un metabolito posiblemente cancerígeno para los humanos. En 1998, debido a los efectos tóxicos reportados para la OTA, la Unión Europea a través del Comité de Científicos sobre Alimentos de la Unión Europea, evaluó que la ingesta diaria tolerable debía estar por debajo de 5 ng/Kg de peso corporal<sup>7</sup>.

Químicamente, la ocratoxina A es un policétido procedente del enlace del aminoácido fenilalanina y de una di-hidroisocumarina a través de una unión amida. La OTB es el derivado no clorado de la OTA, mientras que el éster de la OTA es la OTC. La OT $\alpha$  y la OT $\beta$  son productos de la hidrólisis de la OTA y no presentan la molécula de fenilalanina (El Khoury y Atoui, 2010)<sup>17</sup>. En la figura 1 se puede observar la estructura química de cada metabolito.

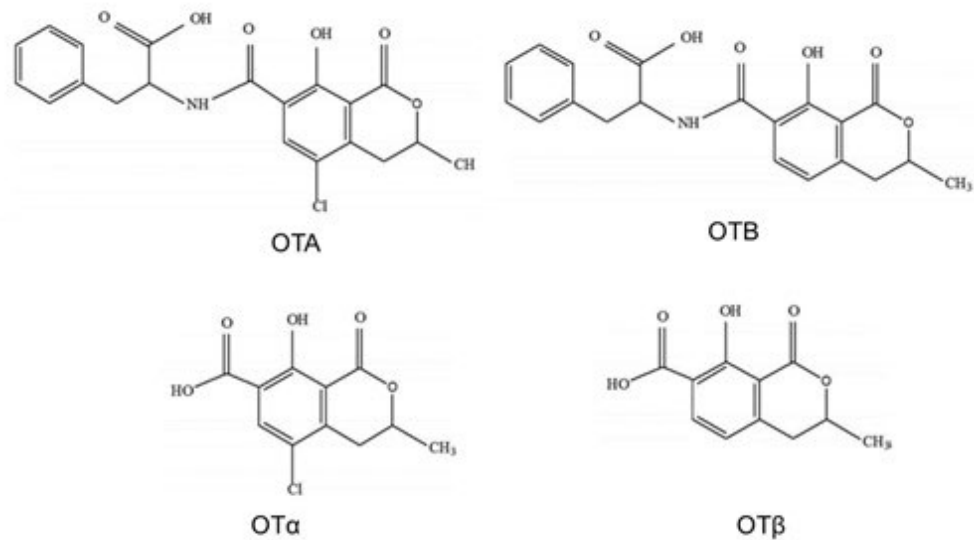


Figura 2. Estructuras de las diversas clases de ocratoxinas

La OTA producida principalmente por *Penicillium verrucosum* y *Aspergillus ochraceus* y, ocasionalmente, por algunas variedades de *Aspergillus niger* (Blesa y col 2007)<sup>18</sup>, ha sido detectada en diversos alimentos y bebidas como por ejemplo café, cereales y derivados, legumbres, cerveza y cocoa, (Serra y Bonhevi, 2004; Vatinno et al, 2008; Mateo et al, 2007; Juan et al 2008). Ha sido también encontrada en uvas y vinos producidos en muchos países europeos (Sage et al., 2004; Bellí et al., 2006; Pietri et al., 2001; Serra et al., 2006; Berente et al., 2005), oceánicos (Leong et al., 2006a; Leong et al., 2006b) y sudamericanos (Battilani et al., 2006; Chulze et al., 2006; Ponsone et al., 2007, Diaz et al., 2009, Chiotta et al., 2009).

Su principal mecanismo de acción es la inhibición de síntesis proteica. Rivaliza con la aminoácido fenilalanina en la unión con el ARN de transferencia, induciendo la carencia de determinadas enzimas. (López de Cerain et al., 2000)<sup>16</sup>. Dirheimer y Creppy (1991) expusieron que la OTA inhibe la síntesis proteica en bacterias, levaduras, células de mamífero in vitro y animales in vivo. Se piensa que dicha inhibición puede corresponder a una limitación de la elongación de péptidos debido

a la competencia con el aminoácido fenilalanina en la unión catalizada por la enzima tRNA- fenilalanina sintetasa. Esta hipótesis fue confirmada al revertirse la inhibición con el incorporado de fenilalanina al medio (Schilter et al., 2005).

### **Hongos productores de OTA**

La ocratoxina A aparece como contaminante en diferentes y variados cultivos, dando con ello lugar a la presencia de esta toxina en alimentos esenciales y de gran consumo, es producida por especies hongos del género *Aspergillus* y *Penicillium*. La OTA. Fue detectada por primera vez en cereales y su contaminación fue relacionada a la presencia de *A. ochraceus*. De allí el nombre ocratoxina. La OTA es producida principalmente por *Penicillium verrucosum*, *Aspergillus ochraceus* (Abarca et al., 2004)<sup>20</sup> y por especies biseriadas de *Aspergillus* pertenecientes a la Sección Nigri, dentro de las cuales se encuentran *Aspergillus carbonarius* y cepas del agregado *Aspergillus niger* (Ponsone et al., 2007)<sup>21</sup>. Estas especies del género *Aspergillus*, pertenecientes a la Sección Nigri, están asociadas a la presencia de OTA en uvas. A su vez, recientemente se han detectado cepas de *Aspergillus japonicus* y *Aspergillus aculeatus*, especies monoseriadas de la Sección Nigri, aisladas de uva, capaces de producir OTA<sup>21</sup>. Sin embargo, se puede afirmar que las cepas de la especie *A. carbonarius* son las principales causantes de la presencia de OTA en vinos debido a su capacidad de producir altas concentraciones de esta toxina en uva (Bau et al., 2004; Serra et al., 2006).



Figura 3. Racimo de uva con mohos

Fuente: <https://www.uncuyo.edu.ar/prensa/prueban-una-tecnica-de-vitivinicultura-ecologica>

### **Factores que influyen en la producción de OTA**

Existen diversos factores que determinan la producción de diversas micotoxinas. Algunos de ellos son congénitas al hongo, como su base genética, y otros tanto son extrínsecos, dentro de estos últimos, las condiciones ambientales, juegan un rol preponderante. Dentro de las condiciones ambientales, para el caso de la ocratoxina A, el sustrato, la actividad de agua, el pH y la temperatura han sido los factores estudiados (García et al., 2010; Tassou et al., 2007)<sup>24,25</sup>, estando muy influenciada por los valores de actividad del agua (aw) y por la temperatura principalmente; requiriendo un valor mínimo de entre 0,83 y 0,90 de aw, siendo el óptimo entre 0,95 y 0,99, y valores de entre 12 y 37 °C para *Aspergillus* spp. y de entre 4 y 31 °C para *Penicillium* spp, resultando en algunos casos en el desarrollo de modelos estadísticos predictivos de la producción en micotoxinas y particularmente de OTA (García et al., 2010)<sup>24</sup>.

### **Factores que influyen la presencia de OTA en uvas**

El vino es uno de estos alimentos donde se han constatado niveles elevados de OTA. La Unión Europea en su normativa sobre esta micotoxina en vino —Reglamento (CE) N° 1881/2006 de 19 de diciembre de 2006— ha fijado un límite máximo de residuos de 2 µg de OTA/L (Blesa y col 2007)<sup>18</sup>, La presencia de ocratoxina A en uvas es una dificultad que se produce en el viñedo. Las cepas de la Sección Nigri, viables productoras de OTA, se encuentran en el viñedo desde las fases tempranas del desarrollo de las bayas (Battilani et al., 2006)<sup>26</sup>. En estudios realizados, se han concluido que el suelo y los residuos de la viña, son los principales reservorios de propágulos de estas cepas. Se postula que las esporas presentes en el suelo son transportadas por el aire y depositadas en la superficie de las bayas (Leong et al., 2006)<sup>27</sup>. Es posible controlar la presencia de *A. carbonarius* en el suelo mediante técnicas de manejo de viñedo.

- La temperatura del suelo es un constituyente que puede controlar la incidencia de fúngica en el suelo. Varios trabajos han determinaron que la temperatura óptima de crecimiento es los 35°C, pero a temperatura mayores la velocidad de crecimiento descende, siendo cero a 40°C. Sin embargo, se ha determinado que aunque en las pieles (hollejos) de las bayas se hallen presentes cepas potenciales productoras de OTA, no habrá producción de OTA en uvas, si no hay daño físico; Por lo tanto, el primordial factor que establece la presencia de ocratoxina A en bayas de uvas es la presencia de daño físico en estas. (Leong et al., 2006)<sup>27</sup>. La presencia del daño en las bayas pueden ser producidas por insectos, pájaros, por

infección de otros hongos o por lluvia previo a la cosecha donde la diferencia de presión osmótica hace que ingresen grandiosas cantidades de agua a las bayas y rompa el hollejo.

- Microorganismos (hongos)

La variedad uva, el grado de maduración, daño físico y la presencia de otros hongos como son *Botrytis cinerea* o *Erysiphe necator* favorecen el crecimiento de hongos ocratoxigénicos. También se ha detectado la presencia de OTA en la propia tierra de cultivo, por lo que la relación tierra-agua-uva debería tenerse muy en cuenta como origen de hongos ocratoxigénicos contaminantes.

- Condiciones de almacenamiento

El tipo de cosecha y almacenamiento se corresponde con el daño físico que sufre la baya durante la cosecha, lo que favorece el desarrollo de ciertas especies ocratoxigénicas.

### **Presencia de OTA en vinos**

El proceso de obtención del vino puede variar de acuerdo al vino a obtener, así como se puede clasificar en: vinificación de tinto o vinificación de blanco. El proceso de vinificación de tinto implica una etapa de maceración del hollejo y posterior fermentación alcohólica, en la cual el azúcar de las uvas es metabolizada a alcohol por las levaduras. Posteriormente, a través del prensado se separa el hollejo del vino. En el caso vinos blancos, primero se retira el hollejo de la pulpa, y luego se lleva a cabo el proceso de la fermentación alcohólica <sup>9</sup>.

- Condiciones de fermentación

El desarrollo de los hongos ocratoxigénicos se inhibe por la producción del etanol y las condiciones de anaerobiosis resultantes en el proceso fermentativo, pero sin efecto alguno sobre las micotoxinas ya formadas. La OTA producida anteriormente a la fermentación alcohólica no se degrada ni disminuye durante el proceso de vinificación, ni almacenamiento posterior del vino<sup>18</sup>.

- Tipo de maceración

La incidencia y concentración de OTA asciende según el orden: vino blanco, vino rosado y vino tinto. El vino tinto es más predispuesto de mostrar contaminación por OTA por a las condiciones en que se procesa la uva, ya que, tras el prensado, la maceración incluye el mosto y los hollejos que permanecen por varios días, logrando principalmente la disolución y transferencia de sustancias naturales

presentes en los hollejos y que contribuyen con muchas de las características organolépticas propias en este tipo de vino. Estas condiciones ayudan el crecimiento de hongos ocratoxigénicos por el incremento de temperatura, las condiciones aerobias y la disolución de la toxina en el vino. Considerando que la presencia fúngica productora de OTA se halla a nivel de la cáscara, y en función del proceso de elaboración, los vinos blancos presentaran menores concentraciones de OTA.<sup>18</sup>.

Leong et al. (2006)<sup>27</sup> proponen dos motivos que explica esta diferencia. En primer lugar, la fermentación de los vinos blancos tiene una clarificación adicional en relación a los vinos tintos. En segundo lugar, según las características fisicoquímicas de la ocratoxina A, en las condiciones que se lleva a cabo la fermentación, es un ácido y un medio en la que la cantidad de alcohol va aumentando durante el proceso de fermentación, lo que favorece la extracción de la toxina del hollejo. Razón por que los vinos tintos presentan mayores niveles de ocratoxina A que los vinos blancos<sup>9,18</sup>.

Cabe resaltar que las etapas de clarificación en las que se utilizan adsorbentes para reducir niveles de componentes no deseados, pueden provocar una reducción de la OTA presente en el vino.

### **1.5.3 Vino**

El vino es la bebida resultado de la fermentación alcohólica de los mosto fresco de uvas completa o parcial estrujada. El nivel o grado alcohólico no puede ser inferior a 8,5% v/v. No obstante, considerando las condiciones climáticas, de terruño o la diversidad de componentes cualitativos particulares o de tradiciones propias de algunos viñedos, el grado alcohólico total mínimo podrá establecerse en 7%v/v (Cobos, 2017)<sup>28</sup>.

La Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV, 2012)<sup>8</sup> indica que el vino es el más complicado de los productos agrícolas. Ningún otro es calificado de expresar muchos matices sensorialmente palpables. Estos son resultado de varios causantes, principalmente del tipo de suelo, las condiciones climatológicas, la diversidad de uva o viña empleadas y las prácticas vinícolas aplicadas.

Los vinos tienen diversas clasificaciones, pero dentro del interés del presente estudio veremos la clasificación de los vinos como:

- Vinos de Mesa (Tranquilos).- como los vinos blancos, rosados y tintos
- Vinos Espumosos.- chermat, método tradicional e inyección directa de CO<sub>2</sub>

- Vinos Fortificados.- secos y dulces
- Otras Clasificaciones .- varietales y mezclas



Figura 4. Muestras de vinos adquiridas para el estudio

### **Proceso de elaboración**

El vino es una bebida alcohólica, obtenida mediante la fermentación alcohólica del mosto o jugo de la uva (especie *Vitis Vinífera*). La fermentación se origina por la acción metabólica de las levaduras naturales o añadidas que transforman los azúcares de la fruta en alcohol etílico y dióxido de carbono. El azúcar y los ácidos presentes en la fruta son suficientes para el desarrollo del proceso fermentativo. Sin embargo, la producción del vino involucra un conjunto de factores ambientales como: madurez de la fruta, clima, latitud, horas de luz, temperatura, etc. El proceso de elaboración constituye varias etapas como se detalla: El primer paso que hay que tener en cuenta en la elaboración de un vino, es el grado de madurez de la Uva. El proceso de maduración consta de varias fases desde que se cosecha el fruto anterior (enero – marzo) y la planta entra en reposo o letargo (durante el invierno) hasta que vuelve a salir los primeros brotes de la planta, luego aparece el fruto, madura para volver a cosechar. Cuando se ha llegado a la maduración ideal de la uva, es decir lograr la concentración de azúcar deseada (grados Brix), comienza la vendimia. Es importante recordar que el alcohol proviene de la transformación que se produce en el momento que las levaduras metabolizan el azúcar del fruto (proceso de fermentación).





Figura 5. Proceso de elaboración del vino

Fuente: <https://blog.matarromera.es/como-se-elabora-el-vino-tinto/>

### Propiedades del Vino

Al vino se le atribuyen propiedades que radican esencialmente en el contenido de resveratrol, principal antioxidante que se halla en la vid, que se le encuentra básicamente en toda la planta, incluso en las raíces y las semillas. Aunque se le encuentra en mayor cantidad en la piel del fruto y las semillas. El vino tinto lo posee en mayor porcentaje que el vino blanco, debido al proceso de maceración o vinificación puesto que el tinto además de la pulpa, se maceran también las semillas.

Entre las propiedades del vino tenemos:

- Reduce el nivel de triglicéridos y colesterol en la sangre.
- Posee propiedades antioxidantes y anticancerosas, especialmente por el contenido de antocianinas y resveratrol que reprimen la formación o inhibición del desarrollo de células cancerosas.
- También impiden el ataque de los radicales libres, especies muy oxidantes a las células de la retina.

## Requisitos del Vino

Según la legislación nacional está regida por la norma técnica NTP 212.014. 2011

**Tabla 1.** Requisitos fisicoquímicos de vinos según la NTP 212.014. 2011

Especificaciones fisicoquímicas de los vinos		
Especificaciones	Mínimo	Máximo
Grado alcohólico % V real a (20°C)	8,0	23,0
Acidez total (como ácido tartárico g/l)	4,0	14,0
Acidez volátil total corregida (como ácido acético g/l)	--	1,5
Cenizas g/l	1,4	--
Metanol mg/100 ml de alcohol 100 %	Trazas	0,5
Cloruros (Cloruros de sodio) g/l	--	1,0
Sulfatos (Sulfato de potasio) g/l	--	2,0
Glicerina g/100g	5,0	12,0
Anhidrido sulfuroso total g/l	--	0,35
Anhidrido sulfuroso libre g/l	--	0,10

Fuente: referencia NTP 212.014. 2011 (Bebidas Alcohólicas Vitivinícolas. Vinos. Requisitos)

## Vinos artesanales

En términos científicos es complicado establecer qué vino es artesanal y cuál no, porque no hay una definición oficial que demarque unos límites concretos a partir de cuando un vino deja de ser de producción artesanal. Pero sí hay determinados factores a tener en cuenta como:

- Uso de variedades autóctonas de uvas.
- Producción limitada.
- No usar técnicas automatizadas en la elaboración.
- No usar fertilizantes químicos etc.

## **II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA**

### **2.1 Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación.**

#### **2.1.1 Tipo de Investigación:**

Básica. - Tipo de investigación científica que busca obtener nuevos conocimientos sobre hechos o fenómenos observables, en la presente investigación se pretendió obtener conocimientos sobre la posible contaminación de los vinos artesanales con un tipo de micotoxinas específicas como es la ocratoxina A.

#### **2.1.2 Nivel de Investigación:**

Descriptivo – Explicativo. - El nivel de investigación descriptivo-explicativo tiene como propósito especificar las características principales de los fenómenos estudiados. Para calcular y examinar las variables emplea criterios sistemáticos que permiten esclarecer la organización o el proceder de los fenómenos en estudio. En la presente investigación se suministrar información sobre la contaminación fúngica de los vinos artesanales; así como, describir y explicar su origen y comparación con vinos de otras regiones.

#### **2.1.3 Diseño de Investigación:**

Analítico. - Investigación que trata de explicar por qué se debe confiar en una afirmación, que permite combinar el método científico con procesos formales, para averiguar cualquier tipo de fenómeno o hecho que ocurre en una organización o entidad. En la presente investigación se basó en la aplicación de procedimientos formales para la determinación de las características fisicoquímicas de los vinos y el contenido de ocratoxina A.

### **2.2 Lugar de Investigación:**

Laboratorio de análisis Instrumental. Departamento de Ciencias Químicas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga.

### **2.3 Materiales de Trabajo.**

#### **2.3.1 Materiales de Laboratorio:**

- Probetas 10 ml, 50 ml y 100 ml
- Matraces
- Balones

- Fiolas
- Buretas de 0,1 mL
- Agitadores de vidrio
- Gradilla
- Tubos de ensayos
- Espátulas de metal
- Vasos de precipitados
- Placa petri
- Embudos
- Pinzas metálicas
- Micropipetas de 100, 200  $\mu$ L
- Micropipetas automáticas de 1000  $\mu$ L
- Pipetas volumétricas de 1 mL, 5 mL y 20 mL.
- Propipetas
- vaguetas o varillas agitadoras
- Aro de soporte
- Soporte universal

### **2.3.2 Equipos de Laboratorio:**

- Balanza Analítica
- Potenciómetro
- Baño de ultrasonido
- agitador magnético
- Estufa
- Mufla
- Cocinilla
- Evaporador rotatorio
- Espectrofotómetro UV-Visible
- Lector de Elisa

### **2.3.3 Reactivos:**

- Agua destilada
- Etanol 70°
- Alcohol 96°

- Buffers 4,7,10
- Éter de petróleo
- Ácido Clorhídrico
- Acetato de sodio
- Hidróxido de sodio
- Ácido acético glacial
- Ácido nítrico
- Sulfato de potasio
- Sulfato de cobre
- Anaranjado de metilo
- Fenolftaleína
- Kit de Ocratoxina A
- Buffer de extracción

#### **2.3.4 Otros**

- Guantes
- Papel aluminio
- Mascarilla
- Papel filtro
- Papel toalla
- Papel tisú
- Viales
- Marcador
- Pinzas

## **2.4 Hipótesis y Variables.**

### **2.4.1 Hipótesis.**

#### **General**

- Los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica contienen presencia de Ocratoxina A.

#### **Específicas**

- Los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica poseen parámetros fisicoquímicos básicos dentro de los requisitos de las normas correspondientes.

- El contenido de ocratoxina A en los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica se encuentran en niveles por debajo de la normativa vigente.

#### 2.4.2 Variables.

Este tipo de estudio no manipula variables dependientes, ni independientes.

#### OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.

<b>Denominación</b>		
<b>Variable Uno</b>	<b>Indicador</b>	<b>Índice</b>
Parámetros físicoquímicos	Acides total Cenizas Extracto seco pH	g/100g g/100g g/100g ---
<b>Denominación</b>		
<b>Variable dos</b>	<b>Indicador</b>	<b>Índice</b>
Contenido de ocratoxina A	Método de inmunoafinidad	µg/L

### 2.5 Población y Muestra

#### 2.5.1 Población:

La población de estudio para la presente investigación estuvo constituida por las muestras de vinos artesanales producidas en las bodegas de la provincia de Ica durante el año 2023.

#### 2.5.2 Muestra:

Un número de 15 botellas de vinos artesanales producidas en diversas bodegas de la provincia Ica, tratando de cubrir las zonas más representativas.

## **2.6 Métodos, técnicas y procedimientos para la recolección de datos**

### **2.6.1 Recolección y clasificación de la muestra**

Los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica fueron tomados por un muestreo por conveniencia del bloques (considerando las zonas como bloques) y dentro de estos al azar tratando de representar a toda la provincia, por lo cual se adquirió 5 muestras de bodegas ubicadas en la zona norte presentadas por los distritos de Salas-Guadalupe, Subtanjalla; 5 muestras de bodegas ubicadas en la zona centro representadas por muestras de los distritos de San Juan y Los Aquijes y 5 muestras de la parte sur representadas por bodegas de los distritos de Pueblo Nuevo y Santiago.

### **2.6.2 Tratamiento de la muestra**

**Selección:** Las muestras de vinos artesanales fueron de las variedades: principalmente semi seco y dulce, ya que estos poseen las condiciones para un mejor desarrollo de los posibles mohos productores de ocratoxina.

**Conservación:** Las muestras se almacenaron en sus respectivos frascos (botellas) en condiciones de medio ambiente hasta la fecha de su respectivo estudio para los parámetros fisicoquímicos en donde fueron cubierta y codificadas para evitar conflictos de interés alguna, igualmente una porción de estas fueron trasladadas a la ciudad de Lima al laboratorio Certilab SAC para la respectiva determinación de Ocratoxina A.

### **2.6.3 Determinación de características fisicoquímicas**

**Extracto seco/ Humedad:** AOAC

**Determinación:** En una placa petri, previamente tratada a 130°C por una hora, se pesó con exactitud y luego se colocó 10 mL de la muestra homogenizada, se llevó a un baño maría hasta evaporar el líquido, y luego se llevó a la estufa a  $130 \pm 3^\circ\text{C}$  por una hora, transcurrido el tiempo se transfirió la placa a la campana desecadora y se pesó cuando alcanzó la temperatura ambiente. La pérdida de peso obtenida y se calculó como porcentaje de humedad<sup>30</sup>.

**Cenizas:** AOAC

**Determinación:** En una cápsula de porcelana limpia, previamente tratada y enfriada en desecador fue tarada, se pesó 5 mL aproximadamente de la muestra homogenizada, luego se llevó carbonizar en una cocinilla, para luego incinerar en el horno mufla a 550°C aproximadamente, hasta obtener cenizas ligeramente grises (tiempo promedio 5horas). Se llevó al desecador para enfriar y tan pronto alcanzó la

temperatura ambiente se pesó. El residuo se reportó como porcentaje de cenizas totales<sup>30</sup>.

pH: AOAC

En un vaso de precipitado de 50 mL, se tomó 20 mL de la muestra homogenizada, se introdujo el electrodo combinado vidrio, junto con el sensor de temperatura y se dejó que la lectura en el equipo se estabilice, para luego tomar la medición directamente; previamente se realizó la calibración del equipo con los buffers respectivos siguiendo las instrucciones del fabricante<sup>30</sup>.

#### **2.6.4 Método de Determinación de Ocratoxina A**

El nivel concentración de la micotoxina se determinó por el método de inmunoafinidad según el kit de RIDASCREEN Ochratoxin A® de R-Biopharm, Alemania, para alimentos líquidos, de acuerdo a las instrucciones que viene en el kit. Se tomó 50 µL de cada una de las muestras y los patrones respectivos por duplicado, en los pocillos los cuales deben ser previamente identificados, se adicionó 50 µL del reactivo de conjugado enzimático (tapa roja) a cada uno de los pocillos. Se mezcló y se dejaron incubar por un tiempo de 2 horas a la temperatura ambiente y protegido de la luz (cubiertos con papel aluminio). Se removió el líquido de los pocillos sacudiendo la rejilla sobre un papel absorbente. Se lavó con 250 µl de agua destilada, repitiendo este paso por tres veces. Se adicionó 50 µL de cromógeno (frasco tapa negra) en cada uno de los pocillos, se mezcló con movimientos rotatorios de la rejilla y se incubó por 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se agregó 100 µL del reactivo de detención de la reacción (tapa amarilla), se mezcló y se obtuvo las absorbancias a 450 nm contra blanco de aire en un equipo lector de Elisa<sup>6</sup>

### **2.7 Técnicas de procesamiento de la información**

#### ➤ Recolección de datos analíticos

De la adquisición de los datos analíticos fueron registrados en las hojas de trabajos respectivas donde se tabularon los resultados de las diferentes de las determinaciones analíticas empleadas en cada caso y en el caso de los datos de la determinación de aflatoxinas en el programa del mismo equipo específico para el caso



➤ **Procesamiento de datos**

Los datos adquiridos en las diversas determinaciones fueron procesados por el Programa Microsoft Excel 2013 y se formulan como promedios a partir de los cuales se obtuvieron los gráficos respectivos.

**2.8 Técnicas de Análisis e interpretación de la información**

Los datos derivados durante los procedimientos analíticos de la determinación de la caracterización de los vinos fueron sometidos a análisis estadísticos paramétricos como: determinación del promedio y la desviación estándar; para el caso de la determinación ocratoxinas previamente técnicas no paramétricas como el coeficiente de correlación para hallar la concentración respectiva de acuerdo con el método.

**2.9 Aspectos éticos**

En el presente estudio se ha tenido la precaución de cuidar los aspectos éticos que deben tutelar toda investigación como parte del conocimiento científico que permite a la sociedad avanzar en su progreso, sorteando todos aquellos factores que pudieran originar algún conflicto de interés personal o de particulares que adulteren los objetivos del presente estudio.

### III. RESULTADOS

Tabla 2. Clasificación de las muestras de vinos tintos estudiados.

Muestra	Tipo de vino	Tipo de uva	Procedencia
1	seco	N.I.	Los Aquijes
2	dulce	N.I.	Los Aquijes
3	dulce	N.I.	Sunanpe
4	dulce	Quebranta	Los Aquijes
5	dulce	Quebranta	Los Aquijes
6	dulce	Quebranta	Subtanjalla
7	Semi seco	Borgoña	Salas-Guadalupe
8	Dulce	N.I.	Subtanjalla
9	Semiseco	N.I.	Salas Guadalupe
10	Dulce	Quebranta	Tate
11	Dulce	N.I.	Ocucaje
12	Dulce	Quebranta	Los Aquijes
13	Semi seco	Torontel	Ocucaje
14	Dulce	N.I.	Pueblo Nuevo
15	Seco	N.I.	Tate

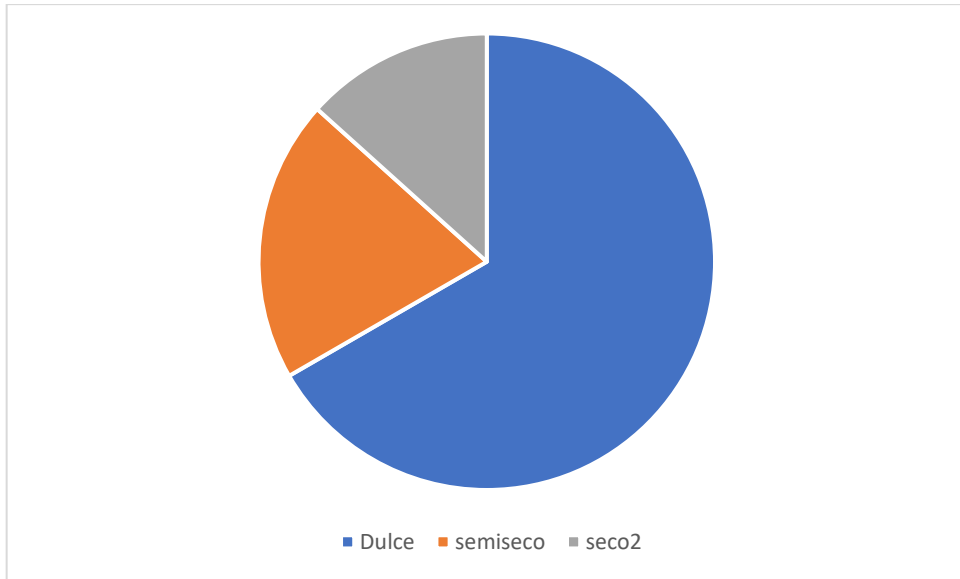


Figura 6. Distribucion de las muestras de vino según tipo de vino indicado en la etiqueta

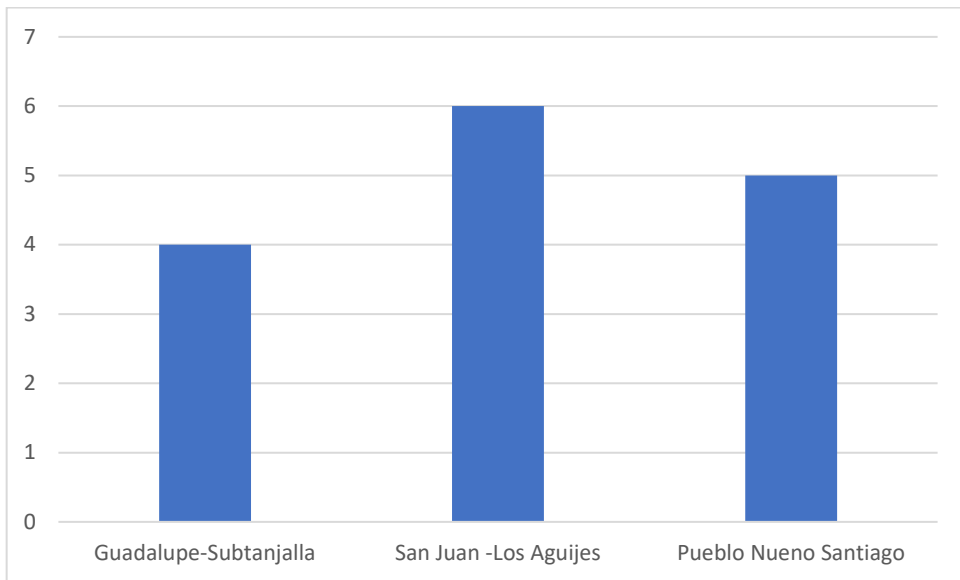


Figura 7. Distribución de muestras según procedencia

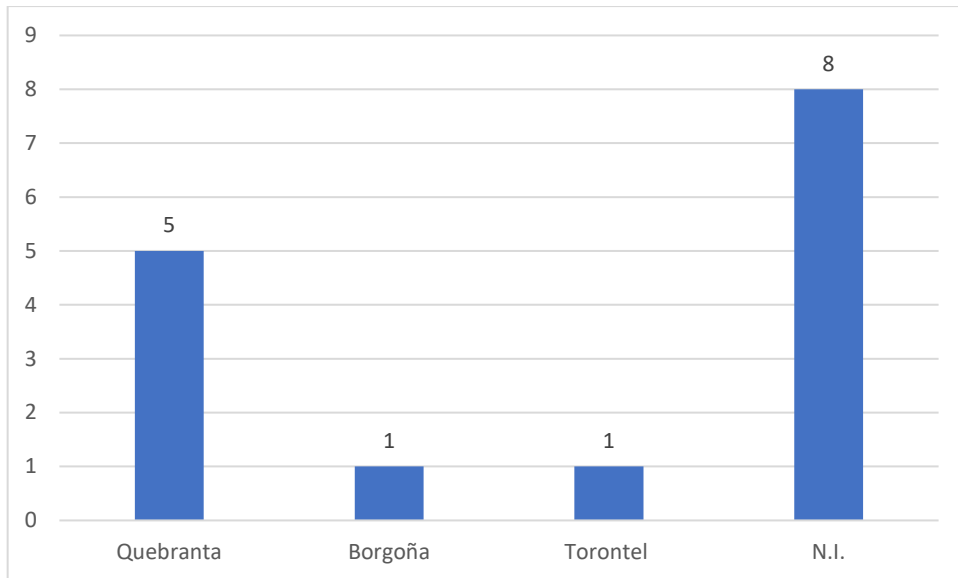


Figura 8. Distribución de muestras según tipo de uva declarado

Hay un incumplimiento con la norma que indica que los vinos en su etiqueta deben declarar el tipo de uva del cual proceden. Un 53,3 % estarían incumpliendo la legislación

Tabla 3. Determinación del extracto seco en las muestras de vinos

Muestra	Peso de placa vacía	Volumen de muestra	Peso de placa seca	Extracto Seco g/L	Promedio
1	37,4297	25	43,6272	24,79	24,85
	36,3392	25	42,5642	24,90	
2	42,9861	25	49,6011	26,46	26,48
	35,8885	25	42,5135	26,50	
3	42,1516	25	47,9966	23,38	23,35
	45,5534	25	51,3834	23,32	
4	29,5120	25	35,7670	25,02	25,04
	40,1432	25	46,4082	25,06	
5	40,3190	25	44,7065	17,55	17,68
	42,8261	25	47,2761	17,80	
6	34,8964	25	40,7789	23,53	23,69
	44,3972	25	50,3597	23,85	
7	47,2276	25	49,8501	10,49	10,35
	42,7010	25	45,2535	10,21	
8	40,5194	25	46,9919	25,89	26,00
	44,7026	25	51,2276	26,10	
9	38,3158	25	40,0683	7,01	6,93
	40,0646	25	41,7746	6,84	
10	35,7438	25	42,6788	27,74	27,77
	40,4315	25	47,3815	27,80	
11	33,8931	25	37,9381	16,18	16,22
	50,5455	25	54,6030	16,26	
12	34,3693	25	40,4243	24,22	23,98
	36,0773	25	42,0123	23,74	
13	32,3111	25	35,9361	14,50	14,45
	37,8248	25	41,4273	14,41	
14	41,5032	25	45,9882	17,94	17,83
	40,5919	25	45,0194	17,71	
15	39,3068	25	41,0803	7,09	7,01
	39,0562	25	40,7875	6,93	

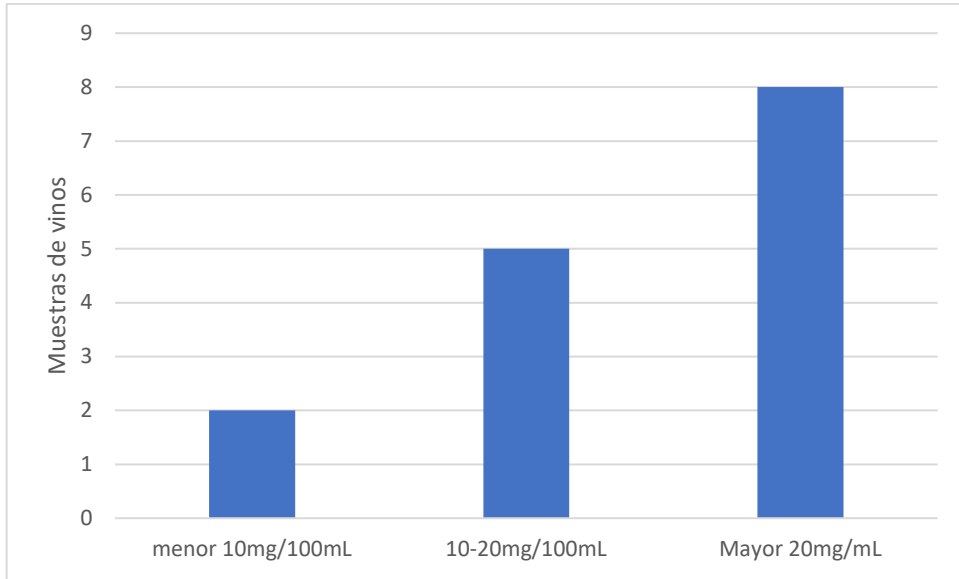


Figura 9. Distribución de los vinos analizados de acuerdo al contenido de extracto seco

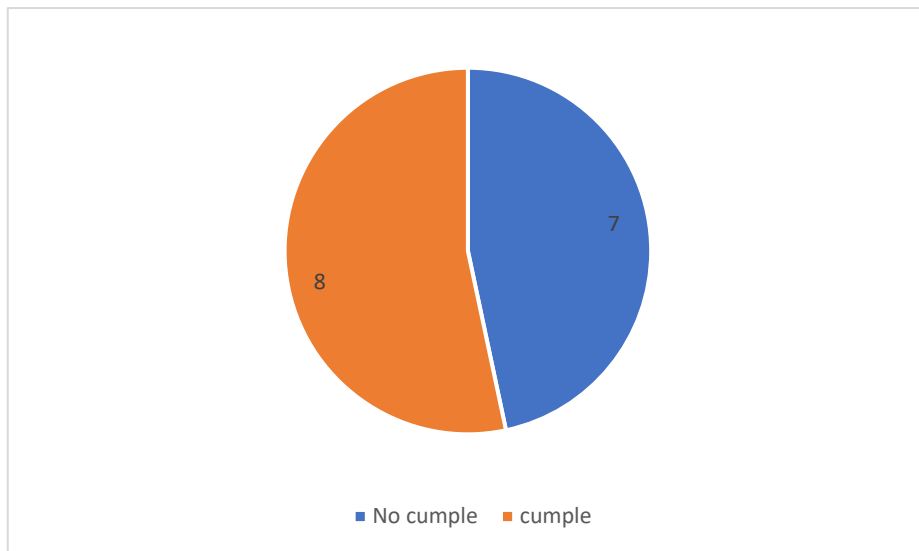


Figura 10. Cumplimiento con requisito de extracto seco según NTP 212.014

Tabla 4. Determinación de la acidez total de los vinos en estudios

Muestra	Volumen de muestra	Gasto de titulante	Normalidad	Acidez total g/L ac. tartárico	Promedio
1	10	6,3	0,100563	4,73	4,69
	10	6,2	0,100563	4,65	
2	10	3,8	0,100563	2,85	2,85
	10	3,8	0,100563	2,85	
3	10	4,1	0,100563	3,08	3,01
	10	3,9	0,100563	2,93	
4	10	6,1	0,100563	4,58	4,54
	10	6,0	0,100563	4,50	
5	10	4,1	0,100563	3,08	3,12
	10	4,2	0,100563	3,15	
6	10	6,3	0,100563	4,73	4,77
	10	6,4	0,100563	4,80	
7	10	6,6	0,100563	4,95	5,03
	10	6,8	0,100563	5,10	
8	10	5,8	0,100563	4,35	4,35
	10	5,8	0,100563	4,35	
9	10	3,9	0,100563	2,93	2,89
	10	3,8	0,100563	2,85	
10	10	3,7	0,100563	2,78	2,78
	10	3,7	0,100563	2,78	
11	10	5,7	0,100563	4,23	4,29
	10	5,8	0,100563	4,35	
12	10	6,1	0,100563	4,58	4,66
	10	6,3	0,100563	4,73	
13	10	4,3	0,100563	3,23	3,19
	10	4,2	0,100563	3,15	
14	10	5,8	0,100563	4,35	4,29
	10	5,7	0,100563	4,23	
15	10	5,4	0,100563	4,03	4,01
	10	5,2	0,100563	3,98	

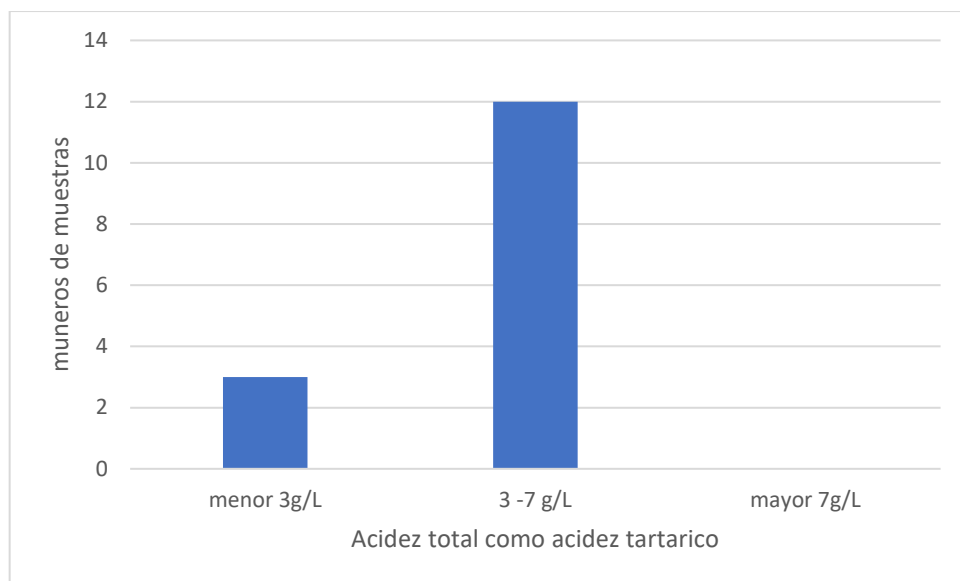


Figura 11. Representación del cumplimiento de acidez total según requisito de la norma técnica peruana 212.014 2016 Vinos Requisitos

NTP 212.014 considera como requisito mínimo de la acidez total 4 g/L y como máximo 14 g/L expresado como ácido tartárico, por lo tanto, el 40% no cumple



Tabla 5. Determinación de pH y grado alcohólico aparente en la muestra en estudios

Muestra	pH	Promedio	Grado alcohólico	Promedio
1	2,80	2,84	13,8	13,9
	2,87		14,0	
2	3,12	3,14	16	16
	3,15		16	
3	3,14	3,12	15	15
	3,09		14,9	
4	2,73	2,79	16	15,9
	2,84		15,8	
5	3,14	3,12	16	16
	3,09		15,9	
6	2,51	2,55	14	14
	2,58		14	
7	2,15	2,18	13,2	13
	2,20		12,8	
8	2,80	2,83	14	14
	2,85		14	
9	3,11	3,16	13,2	13,1
	3,21		13	
10	3,24	3,26	11,5	11,5
	3,27		11,5	
11	2,84	2,90	14	14
	2,96		14	
12	2,66	2,63	15	15
	2,59		15	
13	3,05	3,08	14	14
	3,11		13,9	
14	2,79	2,81	13	13
	2,82		13	
15	2,90	2,92	14,5	14,5
	2,94		14,5	

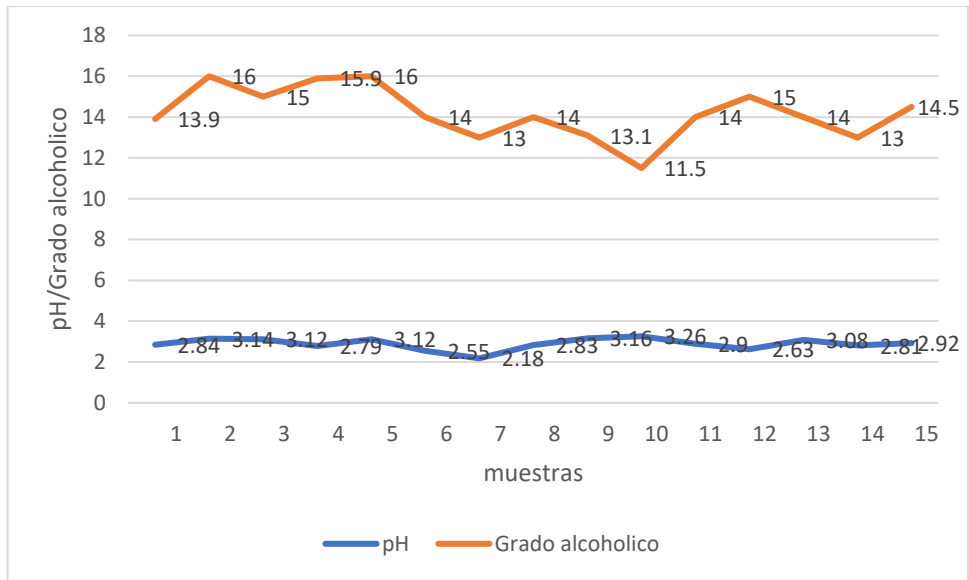


Figura 12. Representación de la medida de pH y grado alcohólico en las muestras

Todas las muestras cumplen con el requisito de grado alcohólico según la NTP 212.014, no hay requisitos para pH.

Tabla 6. Contenido de Ocratoxina A en vinos analizados expresados en ug/L

Muestra	Tipo de vino	Lectura 1	Lectura 2	Promedio
1	seco	N.D	N.D	N.D
2	dulce	0,15	0,17	0,16
3	dulce	1,67	1,58	1,63
4	dulce	0,35	0,35	0,35
5	dulce	N.D.	N.D.	N.D.
6	dulce	1,08	1,05	1,07
7	Semi seco	0,28	0,31	0,30
8	dulce	0,47	0,43	0,45
9	semiseco	N.D.	N.D.	N.D.
10	dulce	0,10	0,10	0,10
11	dulce	0,07	0,07	0,07
12	dulce	1,34	1,28	1,31
13	Semi seco	N.D.	N.D.	N.D.
14	dulce	0,14	0,17	0,16
15	Seco	N.D.	N.D	N.D

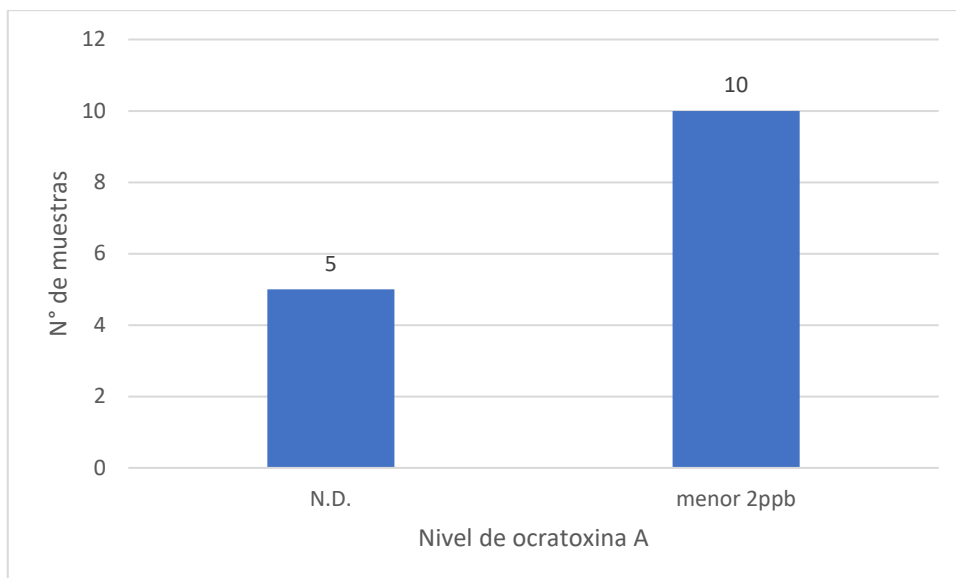


Figura 13. Distribución de muestras según la presencia o ausencia de ocratoxina

Existe una prevalencia ocratoxina en el 66% de las muestras

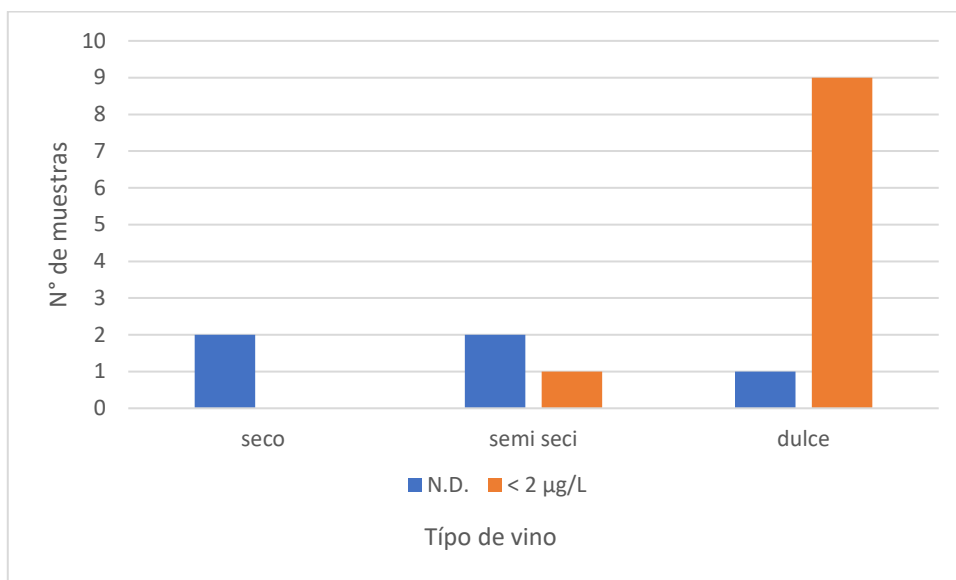


Figura 14. Distribución de presencia de ocratoxina según el tipo de vino

El 90% de las muestras de vino dulce presento ocratoxina A

#### IV. DISCUSIÓN.

Muchos alimentos y piensos están expuestos a la contaminación por mohos, ya que estos se encuentran tanto en el suelo, en los propios vegetales o en los ambientes de almacenamientos. Algunos mohos de acuerdo a las condiciones en que se desarrollan principalmente humedad y temperatura pueden dar origen a micotoxinas. Estas son metabolitos secundarios producidos por ciertas especies de mohos en pequeñas cantidades que son tóxicas para el hombre y animales.

En la uva tienden a desarrollarse varios mohos, muchos de ellos asociados a diversas enfermedades del viñedo como el *Botrytis cinérea*, causante de la podredumbre gris, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *penicillium*. Por los años 90 se detectó en vinos, jugos de uva y pasas de uva una micotoxina. La ocratoxina A(OTA), estudios actuales han permitido identificar que los principales mohos productores de ocratoxina A en las uvas son la especie *Aspergillus carbonarius* con el mayor poder de síntesis y el *Aspergillus niger* de actividad más débil; También se encuentra el *Aspergillus ochraceus* y *foetidus* (Rousseau 2004)<sup>31</sup>.

Los estudios elaborados de los efectos tóxicos de la OTA indican que esta micotoxina es nefrotóxica, genotóxica, carcinogénica, inmunotóxica, teratogénica y neurotóxica. Asimismo, se relaciona a una nefropatía endémica habitual en las zonas de los Balcanes debido a la elevada concentración de esta micotoxina en los alimentos consumidos en dicha región. En relación a la actividad carcinogénica, la Agencia Internacional de Investigación contra el Cáncer (IARC) la ha clasificado en la categoría 2B, es decir, como posible carcinógeno humano (Martínez, 2019).<sup>32</sup> La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), a petición de la Comisión, adoptó el 4 de abril de 2006, un dictamen científico sobre la ocratoxina A en los alimentos, y estableció una ingesta semanal tolerable de 120 ng/kg de peso corporal, lo que equivale a una ingesta diaria de 17,1 ng/kg de peso corporal (Elika, 2014)<sup>7</sup>.

La OTA de las uvas puede ser transferida al vino durante su producción. El vino representa, detrás de los cereales, la principal fuente de ingesta de OTA y en la Unión Europea supone el 13% de la ingesta total de OTA. En la generalidad de estudios revelan que los niveles de OTA son mayores en los vinos tintos que en los rosados y los blancos, debido al proceso de maceración del mosto, lo cual favorecería la extracción de OTA. La legislación internacional ha establecido límites para los niveles máximos de OTA en el vino<sup>7</sup>. El Reglamento (CE) 1881/2006 de la Comisión, de 19 de diciembre de 2006, establece un límite de 2,0 µg/kg de ocratoxina A en vino. Asimismo, el 14 de abril de 2017, la Comisión Nacional de Salud y Planificación Familiar de China publicó la norma GB 2761-2017, que

reglamenta los niveles máximos de micotoxinas en los alimentos y se aplica desde el 17 de septiembre de 2017, donde el nivel máximo autorizado de OTA en vino nacional o importado es de 2,0 µg/kg, el mismo nivel establecido en la Unión Europea. Por tanto, ya es una exigencia en los vinos para exportación a China la determinación de OTA<sup>7,31</sup>.

La industria vitivinícola es uno de los grandes pilares de la economía de la región de Ica, por lo tanto, además cuidar las características físico-químicas y organolépticas de los vinos producidos es importante garantizar la ausencia de sustancias contaminantes que supongan riesgo para la salud del consumidor, por eso el objetivo principal del presente estudio fue determinar el nivel de ocratoxina A en vinos de producción artesanal, los cuales no tienen ningún tipo de control. En ese sentido podemos observar en la tabla 1, que inicialmente se realizó una clasificación de las muestras colectadas según la variedad de vino, siendo la variedad dulce la mayoritariamente recolectada (figura 3) constituyendo un 64 por ciento del total de las muestras; en cuanto a la distribución por distritos de la provincia en Ica, predomina notoriamente la zona media que involucra a los distritos de San Juan y Los Aquijes como la zona de mayor presencia de bodegas (Figura 4); asimismo podemos ver que un alto porcentaje (63%) de las muestras no indican la uva de procedencia (figura 5), incumpliendo lo especificados en la norma técnica nacional de requisitos de vinos y la legislación internacional sobre etiquetado de vinos. En la tabla 3, se visualiza los resultados de la determinación del contenido de extracto seco de las muestras de vino, siendo un mayor porcentaje con contenido superior a los 20 g/L (figura 5), cumpliendo el amplio rango establecido por la norma técnica nacional de requisitos y coincidiendo con el porcentaje de vino dulce que son los que presentan mayor extracto seco debido a su composición. En la Tabla 4, donde se plasma los valores de acidez total determinada como ácido tartárico encontramos que 6 muestra no cumplirían con la norma nacional que establece como requisitos un mínimo de 4 g/L; sin embargo si nos referimos a los requisitos de una norma internacional como lo establecido por Organización internacional del vino (OIV), tres de las muestras estuvieron fuera de rango ya que esta establece un rango 3 - 7 g/L para los distintas variedades de vino. En la tabla 5 se aprecia los valores de pH y grado alcohólico, si bien el valor de pH no es requisito en ninguna norma se puede correlacionar con la acidez que presenta las muestras de vino en donde en termino general los que presenta mayor acidez tiene un menor pH; para el caso del grado alcohólico todas las muestras cumplen la normatividad nacional la cual estipula un amplio rango en el grado alcohólico (8 -20 v/v).

En lo referente a la cuantificación de ocratoxina A, objetivo principal de la presente investigación podemos indicar que la prevalencia de la micotoxina fue alta en las muestras analizadas con un 66,6%; con la salvedad que ninguna de las muestras que presento la presencia de la micotoxina supero los niveles de 2 µg/L establecido como requisito máximo

en la normatividad internacional, aquí debemos resaltar que un estudio en los años 90 en Dinamarca y Finlandia en total de las muestra exhibieron presencia de la ocratoxina A con un gran porcentaje con valores por encima de la legislación (Elika 2014)<sup>7</sup>, de igual manera según manifiesta Martines 2019<sup>32</sup>, en España la prevalencia de ocratoxina en los vinos rodea el 14%. En lo referente a la presencia de la toxina por tipo de vino, las muestras de la variedad de vino seco no presentaron presencia de la micotoxina, las muestras de la variedad semiseco, de las tres analizadas una presento la toxina; mientras que las muestras en la variedad dulce, el 90% de las muestras analizadas presentaron la presencia de esta micotoxina. En el caso de los vinos dulces, las prácticas enológicas utilizadas varían mucho en comparación con los vinos semisecos y secos, por lo que podrían ser uno de los factores de las diferentes concentraciones de OTA, que son generalmente mayores.

## V. CONCLUSIONES

- En lo referente a los parámetros fisicoquímicos básicos los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica, como pH, acidez total, grado alcohólico y extracto seco, algunas muestras no cumplen con los requisitos establecidos en cuanto a la acidez total.
- En cuanto al contenido de ocratoxina A en los vinos artesanales producidos en la ciudad de Ica, un gran porcentaje mostro presencia de la micotoxina, aunque en rangos inferiores a la legislación internacional.



## **VI. RECOMENDACIONES**

- Ante los resultados obtenidos en este estudio se recomienda ampliar el espectro de muestras, que nos permita tener una visión global de la prevalencia de esta micotoxina en la región; así como, otras micotoxinas de importancia que podrían ser contaminantes de la uva y por ende del vino que se produce en la región
- A la autoridad competente realizar un monitoreo constante y por cosecha que nos permita garantizar que los niveles de la toxina por consumo del vino no superen los niveles de ingesta diaria recomendados y realización de difusión de prácticas enológicas adecuadas a los productores que permita evitar o reducir los niveles de ocratoxina A.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Robinson, A., Taylor, J. F., Wang, J.-S., Phillips, T. D. Characterization and safety of uniform particle size NovaSil clay as a potential aflatoxin enterosorbent, *Applied Clay Science*, 2011, 54, pp. 248-257.
2. Tornello, Simón, & Hernández, Juan Jesús. (2022). Caracterización de los elaboradores de vino artesanal: nuevos actores en San Juan. *RIVAR (Santiago)*, 9(25), 135-152. <https://dx.doi.org/10.35588/rivar.v9i25.5420>
3. Pavón Moreno M , Blanco Rojo R , González Alonso I. Detección de Ocratoxina A en higos secos utilizando el anticuerpo map1 y una técnica de Elisa competitivo. *RCCV Vol. 1 (2)*. 2007
4. Nepomuceno Sánchez A, Martínez Sánchez PM, Mota Martínez M, Parreño Escudero I, González Gascón y Marín A. *Rev. salud ambient.* 2016; 16(2):138-144.
5. Reglamento (UE) 2022/1370 de la Comisión de 5 de agosto de 2022 por el que se modifica el Reglamento (CE) n° 1881/2006 en lo que respecta al contenido máximo de ocratoxina A en determinados productos alimenticios.
6. R-biopharm kit de RIDASCREEN Ochratoxin A® de R-Biopharm<sup>6</sup>.
7. Elika. Ochratoxina en vino. Fundacion Vasca para la Seguridad Alimentaria. Abril 2014. Disponible en: [eguridadalimentaria.elika.eus/wp-content/uploads/2018/06/Ochratoxina-A-en-vino-FINAL.pdf](http://seguridadalimentaria.elika.eus/wp-content/uploads/2018/06/Ochratoxina-A-en-vino-FINAL.pdf)
8. OIV. Novena Asamblea General de la OIV en Oporto, Portugal Nuevas regulaciones para una producción de vino más segura y sostenible 2011.
9. Garmendía G. “Estudio de la presencia de ocratoxina A en vinos uruguayos. Universidad de la República. Facultad de Química doctorado en química. 2011.
10. Ravelo Abreu A., Rubio Armendáriz C., Gutiérrez Fernández A. J., Hardisson de la Torre A.. La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2011 Dic [citado 2023 Mar 13] ; 26( 6 ): 1215-1226. Disponible en: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112011000600004&lng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112011000600004&lng=es).
11. Bahamondes Álvarez, M. New method of quantifying ochratoxin a and its applicability in wine carmenere and cabernet sauvignon. (2012). Disponible en <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/113>
12. Munuera A. Estado actual de la problemática y métodos de análisis para la determinación de ocratoxina A en alimentos. Universidad de Jaén Facultad de Ciencias Experimentales 2018

13. Elías Silupu , J. W., García Rivas Plata , C. E., Pérez Salcedo , R., & Yauris Silvera, C. R. Identificación de Ocratoxina A en vinos artesanales : Identification of Ochratoxin A in artisanal wines . *SENDAS*, (2021). 2(3), 1 - 13. <https://doi.org/10.47192/rcs.v2i3.65>
14. Vargas A. “Estudio de la incidencia de hongos toxicogénicos en uvas destinadas a la producción de vinos”. Facultad de Farmacia y bioquímica. Universidad Mayor de San Marcos. Lima - Perú. 2014
15. Cadenillas L. Diversidad de las especies *Aspergillus* Sección *Nigri*, contaminantes de paprika (*Capsicum annum*) y presencia de Ocratoxina A. Tesis Facultad de Ciencias y Filosofía. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima 2017.
16. López de Cerain A, Soriano JM. Ocratoxina A. En: Soriano del Castillo J., editor. *Micotoxinas en Alimentos*. Madrid: Ediciones Díaz Santos. 2007; 201-22.
17. Khoury, A., & Atoui, A. Ochratoxin A: general overview and actual molecular status. *Toxins*, (2010). 2(4), 462-466.
18. Blesa J, Soriano J.M, Moltó J.C. y Mañes J. Factores determinantes de ocratoxina A en vino. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Ciencias de la Alimentación, Toxicología y Medicina Legal. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia, España. 2007. <https://www.acenologia.com/ciencia80/> Disponible en: <https://www.acenologia.com/ciencia80>
19. Schilter, B.; Marin-Kuan, M.; Delatour, T.; Nestler, S.; Mantle, P.; Cavin, C. Ochratoxin A: Potential epigenetic mechanisms of toxicity and carcinogenicity. *Food Additives and Contaminants*. 2005. 1: 88–93
20. Abarca ML, Bragulat MR, Castellá G, Cabañes FJ. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl Environ Microbiol* 2004; 60: 2650-2.
21. Ponsone, M.L.; Combina, M.; DAlcero, A.; Chulze, S. Ochratoxin A and ochratoxigenic *Aspergillus* species in Argentinean wine grapes cultivated under organic and non organic systems. *International Journal of Food Microbiology*. 2007. 114: 131-135
22. Bau, M.; Bragulat, M.R.; Abarca, M.L.; Minguez, S.; Cabañes, F.J. . Ochratoxigenic species from Spanish wine grapes. *International Journal of Food Microbiology*. 2004, 98(2):125-130
23. Serra, R.; Menconça, C.; Venâncio, A. . Ochratoxin A occurrence and formation in Portuguese wine grapes at various stages of maturation. *International Journal of Food Microbiology*. 2006,111: S35-S39
24. García, D.; Ramos, A.J.; Sanchis, V.; Marín, S. Modelling mould growth under suboptimal environmental conditions and inoculum size. *Food Microbiology* 2010. 27 : 909 – 917.
25. Tassou, C.C.; Panagou, E.Z.; Natskoulis, P.; Magan, N. Modelling the effect of temperature and water activity on the growth of two ochratoxigenic strains of *Aspergillus*

- carbonarius from Greek wine grapes. *Journal of Applied Microbiology*.2007. 103 (6) : 2267-76.
26. Battilani, P.; Magan, N.; Logrieco, A. . European research on ochratoxin A in grapes and wine. 2006, 111(1): S2-S4
  27. Leong, S.L.; Hocking, A.D.; Pitt, J.I.; Kazi, B.A.; Emmett, R.W.; Scott, E.S. b. Black *Aspergillus* spp. in Australian vineyards: from soil to ochratoxin in wine. In Hocking, A.A.; Pitt, J.I.; Samson, R.A.; Thrane , U. (Eds.), *Advances in Food Mycology*. Springer, New York. 2006, 153171.
  28. Cobos, D ¿Es posible determinar azúcares reductores en vinos por el método Fehling Causse Bonnans, sin utilizar acetato neutro de plomo? *Rev. FCA Uncuyo..* (2017). 49(1): 197-204
  29. Comisión de Normalización y de Fiscalización de Barreras Comerciales No Arancelarias – INDECOPI (2011). Norma Técnica Peruana NTP 212.014:2011. *Bebidas Alcohólicas Vitivinícolas*, Lima : INDECOPI.
  30. AOAC 2019. *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 21<sup>a</sup> ed. Ed. Helrich, K.; Arlington, VA. New York, USA.
  31. Rousseau J. Ocratoxina A en los vinos. Estado de los conocimientos. *Vinidea.net wine Internet technical Journal* 2004
  32. Martínez M<sup>o</sup>.E. La ocratoxina A en vinos. *Rica (Red de Intercambio de Conocimiento agroalimentaria)* Jun 2019. Disponible en: <https://rica.chil.me/post/la-ocratoxina-a-en-vino-mc2aa-eugenia-martinez-255093>

## VIII. ANEXOS.



Figuras 15. Muestras de vinos adquiridas para el estudio.



Figura 16. Codificación de muestras para el análisis.

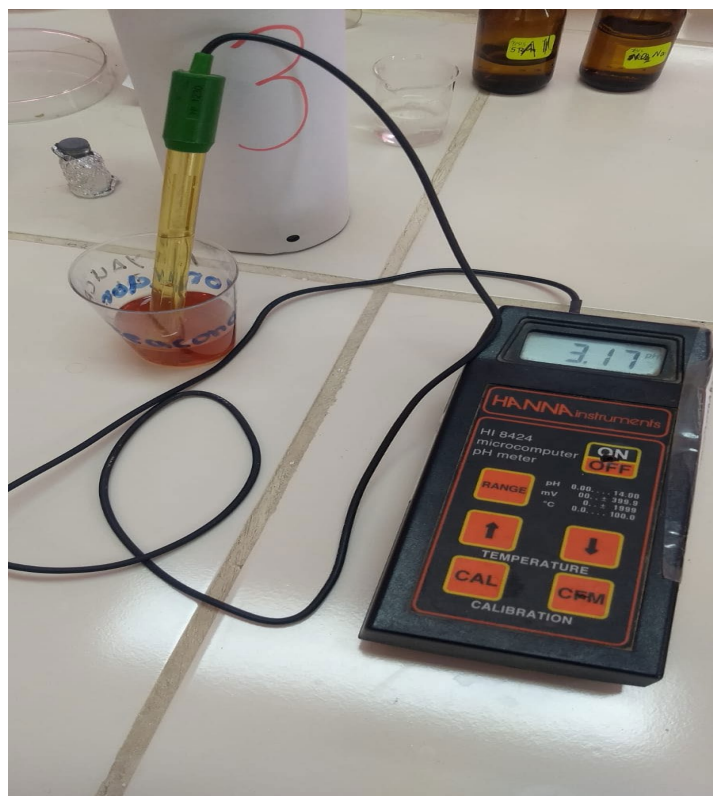


Figura 17. Determinación de pH en muestras de vinos.

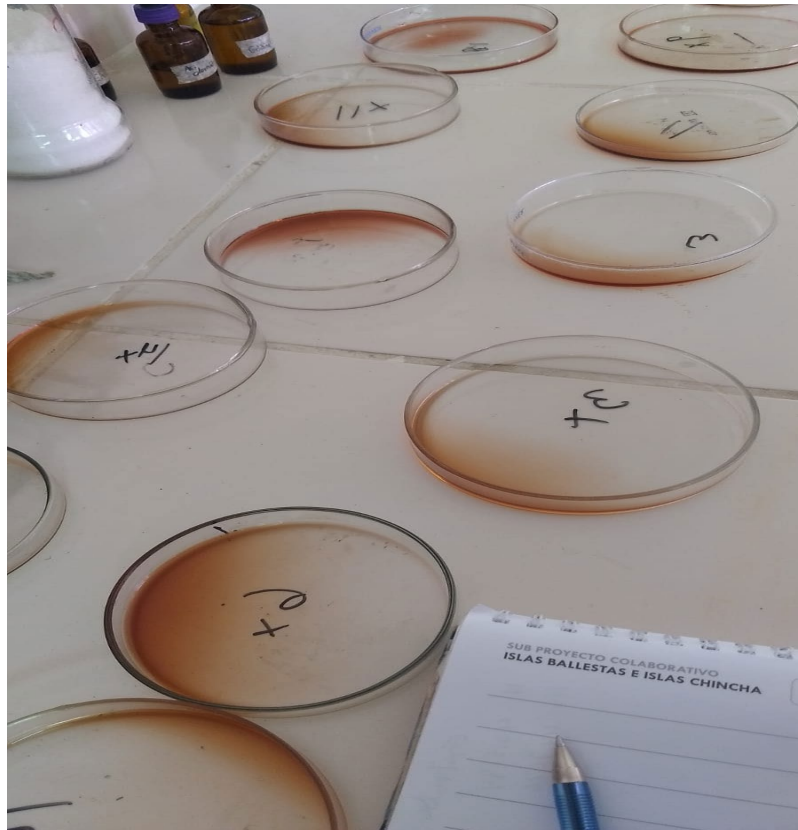


Figura 18. Toma de muestra para la determinación de extracto seco.

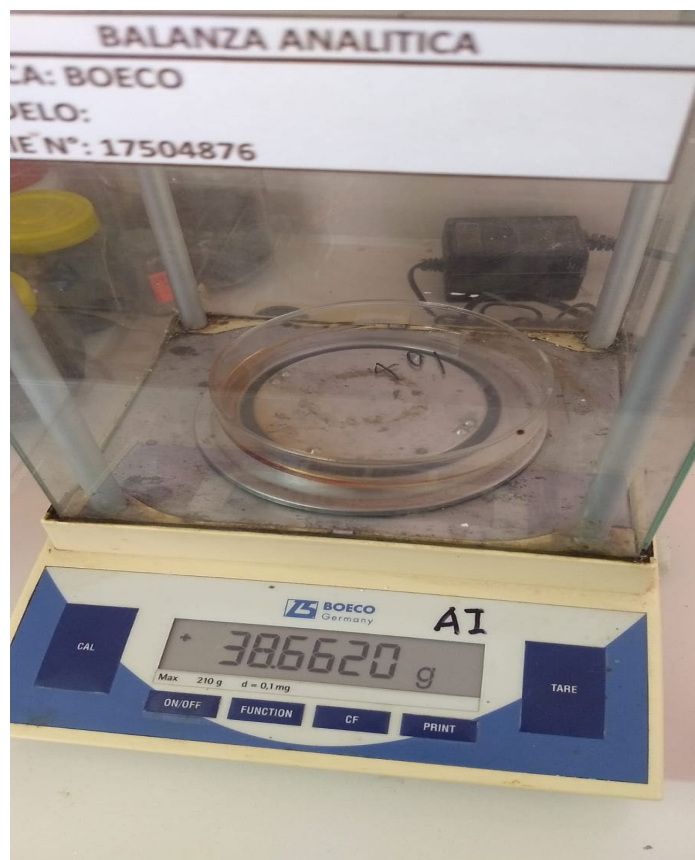


Figura 19. Peso de la placa para la determinación del extracto seco.





Figura 20. Toma de las porciones de vino para enviar a la ciudad de Lima.





Figura 21. Determinación de acidez total en vinos



Figura 22. Titulando una muestra de vino



Figura 23. Lector de Elisa de microplacas empleado en la determinación de ocratoxina

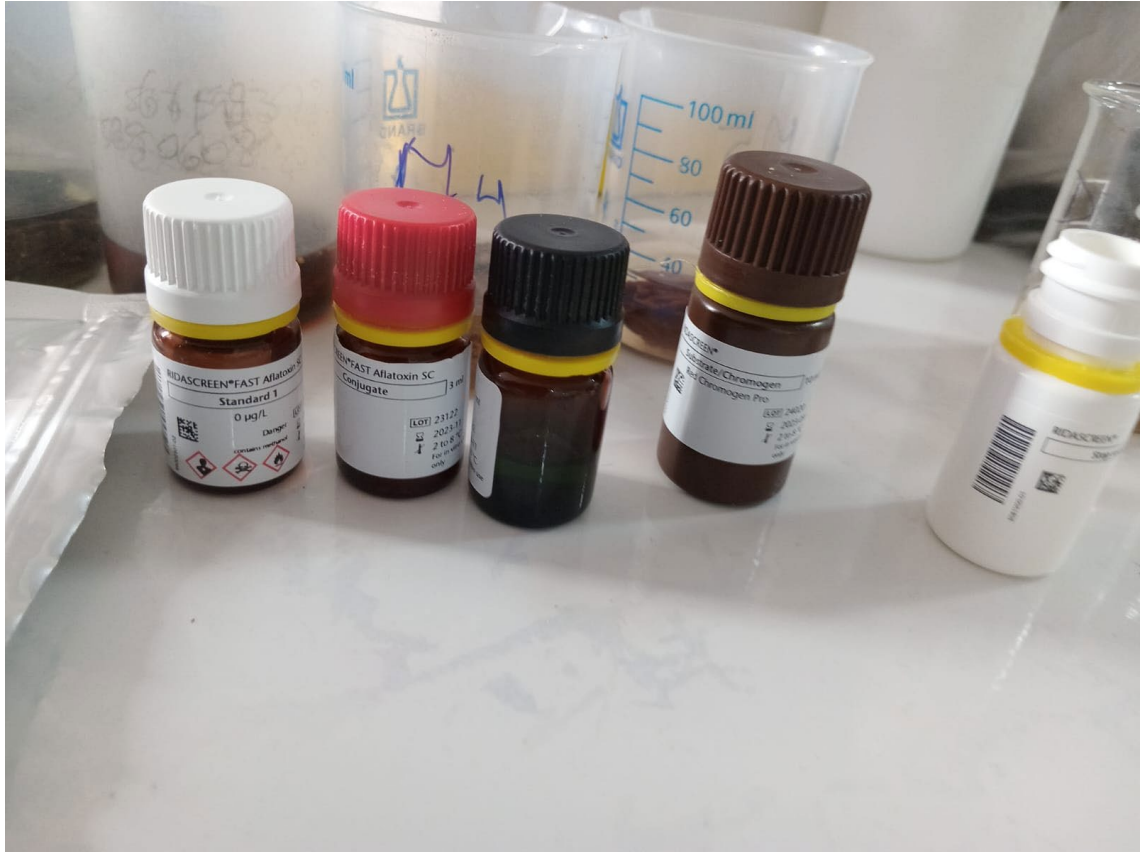


Figura 24. Reactivos del kit para la determinación de ocratoxina A



Figura 25. Microplacas en reacción en la determinación de ocratoxina A.