



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA  
AGRICULTURA**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA  
TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL  
TÍTULO DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TEMA: “ESTUDIO DE AFLATOXINAS EN DOS VARIEDADES DE  
MANÍ (*Arachis hypogaea* L.) INIAP-381 ROSITA E INIAP-382  
CAMELO MEDIANTE ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS EN LA  
CADENA AGROALIMENTARIA”.**

**AUTORAS:**

**MORÁN ESTRELLA, MARY CARMEN**

**NOGALES DELGADO, MADELEINE JOSENKHA**

**DIRECTOR: PhD. NEIRA MOSQUERA, JUAN ALEJANDRO**

**SANTO DOMINGO**

**2019**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA CARRERA  
DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

**CERTIFICACIÓN.**

Certifico que el trabajo de titulación, **“ESTUDIO DE AFLATOXINAS EN DOS VARIETADES DE MANÍ (*Arachis hypogaea* L.) INIAP-381 ROSITA E INIAP-382 CAMELO MEDIANTE ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS EN LA CADENA AGROALIMENTARIA”** fue realizado por las señoritas Morán Estrella, Mary Carmen y Nogales Delgado, Madeleine Josenkha el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo, 05 de septiembre del 2019

Atentamente,

Juan Alejandro Neira Mosquera Ph.D.

**Director de Proyecto de Investigación**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA CARRERA  
DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

**AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD**

Nosotros, **MORÁN ESTRELLA ,MARY CARMEN** con cedula de identidad N° 092289858-0 y **NOGALES DELGADO, MADELEINE JOSENKHA** con cedula de identidad N° 120681245-3 declaramos que este trabajo de “**ESTUDIO DE AFLATOXINAS EN DOS VARIETADES DE MANÍ (*Arachis hypogaea* L.) INIAP-381 ROSITA E INIAP-382 CAMELO MEDIANTE ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS EN LA CADENA AGROALIMENTARIA**”, ha sido desarrollado considerando los métodos de investigación existente, así como también se ha respetado los derechos intelectuales de terceros considerándose en las citas bibliográficas.

Consecuentemente declaramos que este trabajo es de nuestra autoría, en virtud de ello nos declaramos responsables del contenido, veracidad y alcance de la investigación mencionada.

**Santo Domingo, 05 de septiembre del 2019**

---

**MARY CARMEN MORÁN ESTRELLA**

**C.I. 092289858-0**

---

**MADELEINE JOSENKHA NOGALES DELGADO**

**C.I. 120681245-3**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA CARRERA  
DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

**AUTORIZACIÓN**

Nosotros, **MORÁN ESTRELLA, MARY CARMEN** y **NOGALES DELGADO, MADELEINE JOSENKHA** autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar en la Biblioteca virtual de la Institución el presente trabajo de titulación “**ESTUDIO DE AFLATOXINAS EN DOS VARIEDADES DE MANÍ (*Arachis hypogaea* L.) INIAP-381 ROSITA E INIAP-382 CAMELO MEDIANTE ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS EN LA CADENA AGROALIMENTARIA**”, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra autoría y responsabilidad.

**Santo Domingo, 05 de septiembre del 2018**

---

**MARY CARMEN MORÁN ESTRELLA**

**C.I. 092289858-0**

---

**MADELEINE JOSENKHA NOGALES DELGADO**

**C.I. 120681245-3**

## DEDICATORIA

A Dios, por ser el inspirador y darme la fuerza para poder continuar en este proceso de obtener uno de mis sueños y anhelos más deseados, por la vida de mis padres, por bendecirme con la oportunidad de estar y disfrutar junto a las personas que amo.

A mis padres Fidel y Miriam quienes, con su amor, paciencia y su esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más, gracias por inculcar en mí el ejemplo del esfuerzo la perseverancia

A mis Abuelitos, Hugo y Carmen por su apoyo y cariño incondicional a lo largo de mi vida, por ser quienes me enseñaron que el mejor conocimiento que se puede tener es el que se aprende por sí mismo.

A mis hermanas Susy y Allisson por su cariño y apoyo su confianza incondicionalmente, durante todo el proceso de mis estudios y a lo largo de mi vida

A mis tíos Hugo y Sandra, y a mis primos Eric y Sofía porque con sus oraciones, consejos y palabras de aliento que han hecho de mí una mejor persona.

Mary Carmen

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios por bendecirme con el regalo de la vida y guiarme con su luz a lo largo de mi existencia.

A mis padres Shirley y Richard quienes han sido mi apoyo incondicional y fortaleza durante todo mi proceso de formación académica y quienes me han inculcado de buenos valores para ser una profesional de éxito.

A mi bella hija Eliette que me inspira a ser y a dar lo mejor de mi cada día.

A mi querido esposo Omar por estar siempre a mi lado, dándome ánimos y apoyo para lograr mis más anhelados sueños.

A mis hermanos Pierina, Hillary y Gabriel, por ser mis compañeros de toda la vida y mis grandes amigos.

Y por supuesto a mi querida Universidad y a todas las autoridades, por permitirme concluir con una etapa de mi vida.

Madeleine.

## AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por bendecirnos la vida, por guiarnos a lo largo de nuestra existencia, por ser el apoyo y la fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Gracias a nuestros padres Fidel, Miriam; Richard y Shirley por ser los principales promotores de nuestros sueños, por confiar y creer en nuestras expectativas, por los consejos, valores y principios que nos han inculcado.

Agradecemos a nuestro Director de tesis PhD. Juan Neira quien ha guiado con su paciencia y rectitud como docente, sin dejar a un lado el tiempo invertido y aporte de conocimientos desde los inicios hasta la culminación del trabajo investigativo junto a la PhD. Sungey Sánchez, por compartir sus conocimientos a lo largo de la preparación de nuestra carrera, con excelencia y disposición en cada fase de nuestra tesis. A la Ing. Katty por su ayuda, tiempo y paciencia que nos brindó durante la fase del laboratorio de nuestra tesis.

Al Ing. Freddy Enriquez, por aceptar ser nuestro revisor por su dedicación, apoyo incondicional y amistad. Nuestro profundo agradecimiento a los laboratorios de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ing. Lourdes, por abrirnos las puertas y permitirnos realizar el proceso investigativo en sus instalaciones y por sus conocimientos impartidos.

Asimismo, agradecemos a Jordán y a Omar por su cariño y apoyo en cada momento. Finalmente agradecemos a nuestras amigas, con las que compartimos dentro y fuera de las aulas, que se convierten en amigas de vida, gracias por todo su apoyo.

Made y Mary.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN.....	ii
AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD.....	iii
AUTORIZACIÓN.....	iv
DEDICATORIA.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
RESUMEN.....	xvii
SUMMARY .....	xviii
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA .....	7
2.1. EL MANÍ.....	7
2.1.1. Taxonomía del cultivo de maní.....	7
2.1.1.1. Composición química del fruto de maní.....	8
2.2. VARIEDADES DE MANÍ.....	8
2.2.1. INIAP-381 Rosita .....	8
2.2.2. INIAP-382 Caramelo .....	11
2.3. MICOTOXINAS.....	13
2.3.1. Generalidades.....	13
2.3.2. Clasificación de las micotoxinas.....	13
2.4. LAS AFLATOXINAS .....	16
2.4.1. Origen .....	17
2.4.2. Biotransformación de las aflatoxinas.....	17

2.4.3.	Clasificación de las aflatoxinas.....	18
2.4.4.	Composición química .....	18
2.4.5.	Características morfológicas y bioquímicas .....	19
2.4.6.	EFFECTOS TÓXICOS.....	20
2.4.7.	NIVELES PERMITIDOS.....	21
2.4.8.	PRESENCIA DE AFLATOXINAS EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS .....	21
2.4.9.	LAS AFLATOXINAS Y EL MANÍ.....	22
2.5.	MÉTODO PARA MEDIR AFLATOXINAS .....	24
2.5.1.	Kit VERATOX ® para aflatoxinas.....	24
<u>2.5.2.</u>	Características y beneficios.....	24
<u>2.5.3.</u>	Especificaciones del producto.....	25
<u>2.5.4.</u>	Fundamentos de la prueba.....	25
2.5.5.	Requisito de almacenamiento .....	26
2.6.	ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS.....	26
2.6.1.1.	Materia seca .....	27
2.6.2.	Humedad.....	27
2.6.3.	pH.....	28
2.6.4.	Ceniza .....	28
2.6.5.	Fibra cruda .....	29
2.6.6.	Grasa .....	30
2.6.7.	Proteína .....	30
2.6.8.	Acidez de la materia grasa .....	31
2.6.9.	Índice de dispersión proteica .....	31
CAPITULO III .....		32

3.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	32
3.1.	Ubicación del área de investigación .....	32
3.1.1.	Ubicación Política.....	32
3.1.2.	Ubicación Ecológica .....	32
3.1.3.	Ubicación Geográfica .....	33
3.2.	MATERIALES .....	34
3.2.2.	Determinación de pH.....	34
3.2.3.	Determinación de acidez. ....	35
3.2.4.	Determinación de ceniza. ....	35
3.2.5.	Determinación de fibra. ....	36
3.2.6.	Determinación de grasa. ....	37
3.2.7.	Determinación de proteína.....	38
3.2.8.	Determinación de aflatoxinas totales.....	39
3.3.	MÉTODOS .....	39
3.3.1.	Obtención de la materia prima.....	39
3.3.2.	Diseño Experimental .....	42
3.3.2.1.	Factores y niveles del experimento .....	42
3.3.2.2.	Tratamientos a comparar .....	43
3.3.2.3.	Tipo de diseño .....	44
3.3.2.4.	Repeticiones.....	44
3.3.2.5.	Características de la unidad experimental .....	44
3.3.3.	Análisis estadístico .....	45
3.3.3.1.	Esquema de análisis de varianza .....	45
3.3.3.2.	Análisis funcional.....	46

3.3.4. Variables a medir.....	46
3.3.4.1. Determinación de materia seca .....	46
3.3.4.2. Determinación de humedad.....	47
3.3.4.3. Determinación de pH.....	47
3.3.4.4. Determinación de acidez titulable.....	48
3.3.4.4. Determinación de ceniza.....	49
3.3.4.5. Determinación de Fibra.....	50
6.4.3.5. Determinación de Grasa .....	51
6.4.3.5. Determinación de Proteína .....	53
6.4.3.6. Determinación de Aflatoxinas.....	55
A. Preparación de muestras y extracción.....	55
6.4.3.6. Determinación de la acidez de la materia grasa .....	57
CAPITULO IV .....	59
4. RESULTADOS.....	59
4.1. Análisis de varianza para las variables de estudio.....	59
4.1.1 Análisis de varianza para la variable Humedad.....	59
4.1.2. Análisis de varianza para la variable Materia seca .....	60
4.1.3. Análisis de varianza para la variable pH.....	61
4.1.4. Análisis de varianza para la variable Acidez .....	62
4.1.5. Análisis de varianza para la variable Ceniza .....	63
4.1.6. Análisis de varianza para la variable Fibra cruda .....	64
4.1.7. Análisis de varianza para la variable Grasa .....	65
4.1.8. Análisis de varianza para la variable Proteína .....	66
4.1.9. Análisis de varianza para la variable Aflatoxinas totales .....	67

4.2.	Prueba de significancia de Tukey $p < 0.05$ para los factores en estudio .....	68
4.2.1.	Prueba de significancia de Tukey del Factor A .....	68
4.2.2.	Prueba de significancia de Tukey del Factor B .....	71
4.2.3.	Prueba de significancia de Tukey del Factor C .....	74
4.2.4.	Prueba de significancia de Tukey de la interacción A*B*C.....	78

## Índice de tablas

Tabla 1.	Composición química del fruto de maní.....	8
Tabla 2.	Características agronómicas de la variedad INIAP 381- Rosita.....	9
Tabla 3.	Características morfológicas de la variedad INIAP 381- Rosita.....	10
Tabla 4.	Reacción de enfermedades de la variedad INIAP 381- Rosita.....	10
Tabla 5.	Características agronómicas de la variedad INIAP 382- Caramelo.....	11
Tabla 6.	Características morfológicas de la variedad INIAP 382- Caramelo.....	12
Tabla 7.	Reacción de enfermedades de la variedad INIAP 382- Caramelo.....	12
Tabla 8.	Recursos necesarios para la determinación de materia seca y humedad en semillas de maní.	34
Tabla 9.	Recursos necesarios para la determinación de pH en semillas de maní.....	34
Tabla 10.	Recursos necesarios para la determinación de acidez en semillas de maní.....	35
Tabla 11.	Recursos necesarios para la determinación de Cenizas en semillas de maní.....	35
Tabla 12.	Recursos necesarios para la determinación de fibra en semillas de maní.....	36
Tabla 13.	Recursos necesarios para la determinación de grasa en semillas de maní.....	37
Tabla 14.	Recursos necesarios para la determinación de proteína en semillas de maní.....	38
Tabla 15.	Recursos necesarios para la determinación de Aflatoxinas totales en semillas de maní.	39
Tabla 16.	Factores y niveles a probar en el estudio bromatológico de dos variedades de maní ( <i>Arachis hypogaea</i> L.).....	42
Tabla 17.	Tratamientos a comparar en el estudio bromatológico dos variedades de maní ( <i>Arachis hypogaea</i> L.).....	43
Tabla 18.	Esquema del análisis de varianza para el estudio bromatológico de dos variedades de maní ( <i>Arachis hypogaea</i> L.).....	45
Tabla 19.	Análisis de varianza para la variable Humedad.....	59
Tabla 20.	Análisis de varianza para la variable Materia seca.....	60
Tabla 21.	Análisis de varianza para la variable pH.....	61
Tabla 22.	Análisis de varianza para la variable Acidez.....	62
Tabla 23.	Análisis de varianza para la variable ceniza.....	63
Tabla 24.	Análisis de varianza para la variable Fibra cruda.....	64

Tabla 25.	Análisis de varianza para la variable Grasa. ....	65
Tabla 26.	Análisis de varianza para la variable proteína.....	66
Tabla 27.	Análisis de varianza para la variable Aflatoxinas totales.....	67
Tabla 28.	Prueba de significancia de Tukey del Factor A (VARIEDAD).....	68
Tabla 29.	Prueba de significancia de Tukey del Factor B (ESTADO DE LA MUESTRA) .	71
Tabla 30.	Prueba de significancia de Tukey del Factor C (SISTEMA DE ALMACENAMIENTO) .....	74
Tabla 31.	Prueba de significancia de la interacción A*B*C.....	78
Tabla 32.	Matriz de correlación de componentes principales .....	102
Tabla 33.	Matriz de componente.....	103
Tabla 34.	Tabla de comunalidades.....	104

## Índice de figuras

Figura 1. Morfología microscópica de <i>Aspergillus</i> spp. ....	19
Figura 2. Ubicación geográfica donde se desarrollará la investigación. ....	33
Figura 3. Resultado de medias marginales en la interacción B*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable humedad. ....	79
Figura 4. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable humedad. ....	80
Figura 5. Resultado de medias marginales en la interacción B*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable materia seca. ....	81
Figura 6. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable materia seca. ....	82
Figura 7. Resultado de medias marginales en la interacción A*B (Variedad vs. Estado de la muestra) para la variable pH. ....	83
Figura 8. Resultado de medias marginales en la interacción A*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable pH. ....	84
Figura 9. Resultado de medias marginales en la interacción B*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable pH. ....	85
Figura 10. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable pH. ....	86
Figura 11. Resultado de medias marginales en la interacción A*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable acidez. ....	87
Figura 12. Resultado de medias marginales en la interacción B*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable acidez. ....	88
Figura 13. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable acidez. ....	89
Figura 14. Resultado de medias marginales en la interacción A*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable ceniza. ....	90
Figura 15. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable ceniza. ....	91

Figura 16. Resultado de medias marginales en la interacción A*B (Variedad vs. Estado de la muestra) para la variable fibra.....	92
Figura 17. Resultado de medias marginales en la interacción B*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable grasa.....	93
Figura 18. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable grasa.....	94
Figura 19. Resultado de medias marginales en la interacción B*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable proteína.....	95
Figura 20. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable proteína.....	96
Figura 21. Resultado de medias marginales en la interacción A*B (Variedad vs. Estado de la muestra) para la variable aflatoxinas totales.....	97
Figura 22. Resultado de medias marginales en la interacción A*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable aflatoxinas totales.....	98
Figura 23. Resultado de medias marginales en la interacción B*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable aflatoxinas totales.....	99
Figura 24. Resultado de medias marginales en la interacción A*B*C (Variedad Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable aflatoxinas totales.....	100
Figura 25. Dendograma para los factores en estudio.....	101
Figura 26. Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales.....	103
Figura 27. Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales.....	104

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación, fue estudiar la presencia de aflatoxinas totales en dos variedades de maní, mediante análisis bromatológicos y su relación con las características físico químicas de este producto, tomando en consideración las condiciones de almacenamiento, y conservación, para definir su posible incidencia en la salud Humana. La presente investigación se realizó en la parroquia Luz de América en los laboratorios de Bromatología y Bioceánicas de la Universidad de Las Fuerzas Armadas-ESPE Sede Santo Domingo de los Tsáchilas. La experimentación se desarrolló mediante ANOVA, trifactorial (Variedades: Iniap-381 Rosita e Iniap-382 Caramelo; Estado de la muestra: Seco y Fresco; Sistemas de almacenamiento: En vaina, al granel y al vacío) bajo un esquema D.B.C.A con 12 tratamientos con 3 repeticiones, para la separación de medias se aplicó la prueba de Tukey ( $P > 0,05$ ). Como resultado se determinó que el maní almacenado al vacío presentó el nivel más bajo de aflatoxinas con 1,11 ppb mientras que el maní almacenado en vaina con presento 6,97 ppb, lo que nos permitió concluir que, todas las muestras estudiadas se encuentran dentro de los los límites permitidos según la FDA que es de 20 ppb.

### **PALABRAS CLAVE:**

- **AFLATOXINAS**
- **MANÍ**
- **VARIEDADES**
- **VACÍO**
- **SISTEMAS DE ALMACENAMIENTO**

## SUMMARY

The objective of this research was to study the presence of total aflatoxins in two peanut varieties, using bromatological analyzes and their relationship with the physical chemical characteristics of this product, taking into account the storage conditions, and conservation, to define its possible incidence in human health. This research was carried out in the Luz de América parish in the Bromatology and Bioceanic laboratories of the University of the Armed Forces-ESPE, Santo Domingo de los Tsáchilas Headquarters. The experimentation was carried out by ANOVA, three-factor (Varieties: Iniap-381 Rosita and Iniap-382 Caramel; Sample status: Dry and Fresh; Storage systems: In pod, in bulk and in vacuum) under a DBCA scheme with 12 treatments With 3 repetitions, the Tukey test ( $P > 0.05$ ) was applied for the separation of means. As a result, it was determined that the vacuum-stored peanut had the lowest level of aflatoxins with 1.11 ppb while the peanut stored in a pod with 6.97 ppb present, which allowed us to conclude that all the samples studied are within of the limits allowed according to the FDA which is 20 ppb.

### KEYWORDS:

- **AFLATOXINES**
- **PEANUT**
- **VARIETIES**
- **EMPTY**
- **STORAGE SYSTEMS**

## CAPITULO I

### 1. INTRODUCCIÓN

Las Aflatoxinas son un tipo de toxinas originadas por hongos del género *Aspergillus*, principalmente *A. flavus* y *A. parasiticus* que se encuentran en los cultivos agrícolas como el maíz, maní, semillas de algodón y en la cáscara de las nueces, los estudios toxicológicos realizados hasta el momento han demostrado su actividad cancerígena, hepatotóxica e inmunopresora (Urrego, 2006).

El maní representa uno de los alimentos con las más altas posibilidades de contaminación por aflatoxinas. En nuestro país actualmente se siembran anualmente entre 12,000 y 15,000 hectáreas de maní en las provincias de Manabí, Loja, El Oro y un pequeño porcentaje en Guayas, esta actividad es realizada en más del 80% durante la época lluviosa (Zambrano , 2011).

Los altos niveles de humedad y temperaturas sobre los 25°C en zonas de producción de este cultivo, presentan las condiciones ideales para su proliferación, además el almacenamiento y la pilación aumentan la probabilidad de que el producto contaminado genere mayores concentraciones de aflatoxinas B1 y B2 producidas por *Aspergillus flavus* y aflatoxinas G<sub>1</sub> y G<sub>2</sub> producidas por *Aspergillus parasiticus* (Aguilar, 2012).

Dentro de la industria ecuatoriana especialmente confitera, se presentan problemas con productos y subproductos a base de maní que se encuentran contaminados por aflatoxinas siendo una desventaja en su fabricación y comercialización, debido a un mal manejo pos cosecha (Ledezma & Bogantes, 2004).

Por otro lado los agricultores y trabajadores agrícolas están constantemente expuestos a las aflatoxinas al inhalar el polvo generado durante el manejo y el procesamiento de cultivos y alimentos contaminados (Quispe, 2011).

Debido a su alta peligrosidad y a los riesgos anteriormente mencionados, los países han establecido regulaciones de las aflatoxinas, con implementación de los Límites Máximos Permitidos (LMP) para mantener un margen de seguridad, sin embargo, en nuestro país, no hay este tipo de información y la seguridad alimentaria se encuentra en juego (Perusia & Rodríguez , 2001).

En el Ecuador no existe reglamentos, ni información seria y confiable sobre la calidad del maní almacenado ni mucho menos que tipos y niveles de aflatoxinas se encuentran relacionados con el maní de nuestro país, poniendo en serio riesgo a la seguridad alimentaria y la economía de los productores que se abastecen de este rubro (Vásquez & Barzla , 2016).

Con la implantación de este proyecto de investigación pretendemos, identificar la cantidad de aflatoxinas totales presentes en el maní en diferentes tipos de almacenamiento y cómo influyen en los componentes nutricionales de las variedades de maní y así contribuir no solo a la comunidad científica, sino, informar a la sociedad ecuatoriana ya que es un tema poco conocido.

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo General**

Estudiar la presencia de aflatoxinas en las variedades de maní (*Arachis hypogaea* L.): Iniap-381 Rosita e Iniap-382 Caramelo mediante análisis bromatológicos en la cadena agroalimentaria.

### **Objetivos específicos**

- Determinar la presencia de aflatoxinas en dos variedades de maní para consumo humano en Ecuador, mediante el estudio de su relación con las características físico-químicas (Humedad, materia seca, pH, acidez, ceniza, fibra, grasa, proteína, humedad y aflatoxinas totales).
- Estudiar el comportamiento de las aflatoxinas en distintos estados de comercialización del maní (fresco y seco).
- Conocer la incidencia de aflatoxinas en maní considerando distintos sistemas de almacenamiento (en vaina, al granel y al vacío).
- Establecer peligros toxicológicos, considerando los límites permitidos de aflatoxinas en maní según la FDA.

## **1.2. Hipótesis para el factor A (Variedades)**

**Ha:** Las variedades de maní para consumo humano en Ecuador influyen en la presencia de aflatoxinas y su relación con las características físico-químicas (Humedad, materia seca, pH, acidez, ceniza, fibra, grasa, proteína, humedad).

**Ho:** Las variedades de maní para consumo humano en Ecuador no influyen en la presencia de aflatoxinas y su relación con las características físico-químicas (Humedad, materia seca, pH, acidez, ceniza, fibra, grasa, proteína, humedad).

## **1.3. Hipótesis para el factor B (Estado de la muestra)**

**Ha:** El estado de las muestras de maní afectan el comportamiento de las aflatoxinas y su relación con las características físico-químicas (Humedad, materia seca, pH, acidez, ceniza, fibra, grasa, proteína, humedad).

**Ho:** El estado de las muestras de maní no afectan el comportamiento de las aflatoxinas y su relación con las características físico-químicas (Humedad, materia seca, pH, acidez, ceniza, fibra, grasa, proteína, humedad).

#### **1.4.Hipótesis para el factor C (Sistemas de almacenamiento)**

**Ha:** Los sistemas de almacenamiento del maní influyen en la presencia de aflatoxinas y su relación con las características físico-químicas (Humedad, materia seca, pH, acidez, ceniza, fibra, grasa, proteína, humedad).

**Ho:** Los sistemas de almacenamiento del maní no influyen en la presencia de aflatoxinas y su relación con las características físico-químicas (Humedad, materia seca, pH, acidez, ceniza, fibra, grasa, proteína, humedad).

## CAPITULO II

### 2. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1.EL MANÍ

##### 2.1.1. Taxonomía del cultivo de maní

La clasificación sistemática del maní, según Soberanis (2002), es la siguiente:

<b>Reino:</b>	Plantae
<b>División:</b>	Magnoliophyta
<b>Clase:</b>	Magnoliopsida
<b>Orden:</b>	Fabales
<b>Familia:</b>	Fabaceae
<b>Subfamilia:</b>	Faboideae
<b>Tribu:</b>	Aeschynomeneae
<b>Género:</b>	<i>Arachis</i>
<b>Especie:</b>	<i>Arachis hypogaea L.</i>

**Fuente:** (Angulo, 2007).

### 2.1.1.1. Composición química del fruto de maní

Tabla 1. Composición química del fruto de maní.

Sustancia	Contenido (%)
Humedad	5,0
Proteínas	28,5
Lípidos	46,3
Fibra cruda	2,8
Extracto libre de nitrógeno	13,3
Cenizas	2,9
Azúcares reducidos	0,2
Azúcares disacáridos	4,5
Almidón	4,0
Pentosas	2,5

**Fuente:** (Ullaury & Guamán, 2004).

## 2.2. VARIEDADES DE MANÍ

### 2.2.1. INIAP-381 Rosita

En el año 2000 y 2003, el INIAP desarrolla la nueva variedad 381- Rosita bajo el programa IR-CV-032, esta variedad pertenece al grupo botánico valencia, su crecimiento es semi-erecto, con floración secuencial y hojas compuestas (Ullaury & Guamán, 2004).

Alejando (2017) detalla que el INIAP 381 – Rosita es una variedad tolerante a *cercospora arachidicola* y roya (*Puccinia arachidis*), además resiste a la sequía, su semilla tiene un alto contenido de aceites y proteínas, se adapta hasta una altura de 1250 msnm y soporta temperaturas entre 25 a 30°C.

La variedad INIAP – 381 debido a su precocidad, debe sembrarse en época de lluvia para cosechar en tiempo seco así se evitará la germinación de los granos maduros (Herrera, 2017). A continuación, en el cuadro 3 y 4, se detallan las características agronómicas y morfológicas.

Tabla 2. Características agronómicas de la variedad INIAP 381- Rosita.

Crecimiento	Semi-erecto
Porcentaje de germinación	85%
Días de floración	25 a 30
Ciclo vegetativo	90 a 100 días
Altura de planta	40 a 50 cm
El número de vainas/plantas	15 a 20
Numero de semillas/vainas	3 a 4 semillas/vaina
Peso de 100 semillas	35 a 50 g
Contenido de aceite y proteína	45% y 34 % proteína
Rendimiento	Superior a 2600 kg / ha

**Fuente:** (Ullaury & Guamán, 2004).

Tabla 3. Características morfológicas de la variedad INIAP 381- Rosita

Crecimiento	Rastrero
Color de hipocótilo	Púrpura
Color de flor	Amarillo
Color de hoja	Verde Claro
Forma de foliolo	Elíptico – angosto
Color de grano	Rosado rojizo
Estrangulamiento de la vaina	Ligero
Las vainas	Lisas
Forma de grano	Esférica – redonda

**Fuente:** (Ullaury & Guamán, 2004).

En el siguiente cuadro se detalla la reacción de enfermedades de la variedad INIAP 381- Rosita.

Tabla 4. Reacción de enfermedades de la variedad INIAP 381- Rosita.

<i>Stegasta bosquella</i> Ch.	Tolerante
<i>Cercospora arachidicola</i>	Tolerante
<i>Puccinia arachidis</i> sp.	Tolerante

**Fuente:** (Ullaury & Guamán, 2004).

### 2.2.2. INIAP-382 Caramelo

La variedad 382- Caramelo, se obtuvo mediante financiamiento del SENACYT PIC-2006 se denominó “Caramelo Loja” su grano es tipo Runner se llegó a conocer luego de 14 ensayos realizados en diferentes localidades de las provincias de Loja, Manabí y Guayas (Caiza , 2015). A continuación, en el cuadro 6 y 7, se detallan las características agronómicas y morfológicas.

Tabla 5. Características agronómicas de la variedad INIAP 382- Caramelo.

Crecimiento	Rastrero
Días de floración	33 a 36
Días a cosecha	130 a 140
Ciclo vegetativo	130 a 140 días
Altura de planta	23 a 34 cm
El número de vainas/plantas	14 a 28
Numero de semillas/vainas	2 semillas/vaina
Peso de 100 semillas	35 a 50 g
Contenido de aceite	48%
Rendimiento	Superior a 3341 kg / ha

**Fuente:** (Caiza , 2015).

Tabla 6. Características morfológicas de la variedad INIAP 382- Caramelo

Crecimiento	Rastrero
Color de hipocótilo	Púrpura
Color de flor	Amarillo
Color de hoja	Verde Claro
Forma de foliolo	Elíptico – angosto
Color de grano	Rosado rojizo
Estrangulamiento de la vaina	Ligero
Las vainas	Lisas
Forma de grano	Esférica – redonda

**Fuente:** (Jiménez & Andrade , 2010).

En el siguiente cuadro se detalla la reacción de enfermedades de la variedad INIAP 382- Caramelo.

Tabla 7. Reacción de enfermedades de la variedad INIAP 382- Caramelo.

<i>Stegasta bosquella Ch.</i>	Tolerante
<i>Cercospora arachidicola</i>	Tolerante
<i>Puccinia arachidis sp.</i>	Tolerante
Virosis	Tolerante

**Fuente:** (Jiménez & Andrade , 2010)

## **2.3. MICOTOXINAS**

### **2.3.1. Generalidades**

Las micotoxinas son sustancias químicas producidas por hongos los cuales son mayoritariamente organismos aerobios los cuales consumen materia orgánica y se reproducen por esporas. Estos organismos pueden causar enfermedades y muerte, tanto al ser humano como a los animales. Son capaces de contaminar toda la cadena alimentaria una vez que los productos agrícolas han sido infestados (Urrego & Díaz, 2006).

### **2.3.2. Clasificación de las micotoxinas**

Las micotoxinas se clasifican en: Aflatoxinas, Ocratoxinas, Citrinina, Alcaloides ergóticos, patulina y toxinas emitidas por Fusarium. La esporulación del hongo, se encuentra estrechamente relacionado con las condiciones ambientales y la concentración de los nutrientes en el medio (Delgado, 2007).

### **2.3.3. Hongos productores de aflatoxinas**

Los hongos que producen aflatoxinas pertenecen a la división Ascomycota, la cual contiene más de 30 000 especies, pero son pocos los que se encuentran relacionados con intoxicaciones por alimentos o balanceados contaminados.

A continuación, se muestran los principales géneros de hongos que producen micotoxinas y el valor de especies micotoxígenas que poseen (Fierro , 2012):

- ✓ Penicillium: 32
- ✓ Aspergillus: 15
- ✓ Fusarium: 12
- ✓ Byssochlamys: 2
- ✓ Stachybotrys: 2
- ✓ Trichoderma: 2
- ✓ Alternaria: 1
- ✓ Chaetomium: 1
- ✓ Paecilomyces :1
- ✓ Rhizopus: 1 (Fierro , 2012)

### **2.3.4. Factores físicos que influyen en el desarrollo de hongos.**

- ✓ **Humedad:** Hay hongos capaces de soportar bajos niveles de humedad como Aspergillus; sin embargo, un porcentaje de humedad menor al 65% detiene el desarrollo de esta clase de hongos.

- ✓ **Temperatura:** Es un factor estrechamente relacionado con la humedad, gracias a varios estudios se ha comprobado que las bajas temperaturas pueden controlar el crecimiento de hongos mico-tóxicos.
  
- ✓ **Tiempo de almacenamiento:** Es un factor que está relacionado con la humedad relativa del grano, mientras la humedad y temperatura sean menores, el grano puede permanecer almacenado durante meses sin mostrar deterioro por microorganismos.
  
- ✓ **Material extraño:** La presencia de insectos, hojas, malas hierbas, etc; proporciona un medio adecuado para el crecimiento de hongos de almacenamiento dado que estos interfieren la aireación y el desarrollo de una mayor temperatura poseen (Fierro , 2012).

#### **2.3.5. Principales efectos que produce la presencia de hongos en el maní**

- ✓ Disminuye el poder germinativo
- ✓ Ennegrece semillas y granos
- ✓ Calienta y provoca olor putrefacto
- ✓ Cambios bioquímicos
- ✓ Produce toxinas
- ✓ Menor peso

El ataque de los hongos en almacenamiento depende de las condiciones ambientales y factores físicos (humedad), los hongos que penetran a los granos de maní antes de ser cosechados son: *Diplodia*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Cladosporium* y *Fusarium*; sin embargo, cuando los granos son secados y almacenados muchos de estos hongos desaparecen y es cuando se empieza a manifestar la presencia de especies de *Aspergillus* y *Penicillium* (Fierro , 2012).

#### **2.4. LAS AFLATOXINAS**

Las aflatoxinas pertenecen a la familia de las micotoxinas, que son sustancias químicas producidas por cepas toxigénicas de hongos, principalmente *A. flavus* y *A. parasiticus*. Estas sustancias pueden causar enfermedad y muerte, tanto en animales como en seres humanos (Rodríguez, 2010).

La palabra aflatoxina se deriva del hongo productor (*Aspergillus flavus*) y del sufijo toxina, son un grupo de metabolitos heterocíclicos, sintetizados por las cepas *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*. Se encuentran en granos contaminados de cereales como el maíz y oleaginosas como el maní. La concentración máxima de aflatoxinas establecida por la FAO y la OMS es de 15 µg/kg (Rodríguez, 2010).

### 2.4.1. Origen

Existen diversos granos y cereales que son propensos a la contaminación por aflatoxinas y su formación depende en gran parte de las condiciones en que se encuentran almacenados dichos granos. Antes de la cosecha el riesgo para el desarrollo de aflatoxinas es mayor en los periodos de sequía, cuando la temperatura es alta y la humedad presenta porcentajes bajos dando lugar a que el número de esporas en el aire de *Aspergillus* se incrementa. Estas esporas contaminan las cosechas a través de insectos y una vez contaminada una planta, se propaga la producción de aflatoxinas (Urrego & Díaz, 2006).

### 2.4.2. Biotransformación de las aflatoxinas

Chalco (2014) menciona que el modo de acción de las aflatoxinas en el organismo tiene el siguiente orden:

1. Penetra a las células y sus núcleos.
2. Se combina con el ADN.
3. Disminución de la síntesis de ARN, especialmente el m-ARN
4. Bloqueo de la proteosíntesis y a causa de la inhibición del m-ARN también se inhibe la mitosis.
5. Inhibición de la mitosis, seguida de la apoptosis.

### 2.4.3. Clasificación de las aflatoxinas

Se han registrado 18 tipos de aflatoxinas, existen cuatro tipos principales de aflatoxinas, las cuales se consideran más importantes porque se las halla muy frecuentemente en los alimentos, entre ellas se encuentran: B1, B2, G1 y G2 (Vargas & Velásquez, 2013).

*A. flavus* produce sólo las B, mientras que *A. parasiticus*, las B y G. Además se encuentran las aflatoxinas M1 y M2 las cuales son contaminantes directos significativos de alimentos y forrajes (Vargas & Velásquez, 2013).

### 2.4.4. Composición química

Las aflatoxinas son incoloras, inodoras, e insípidas, son químicamente estables en los alimentos y resisten procedimientos de cocción. Es difícil erradicarlas una vez que se han producido. Corresponden a la familia de las Difurano-cumarinas y se clasifican de acuerdo a su estructura química en:

- Serie 1 Difuro-cumaro-ciclo-pentanonas: AFB1, AFB2, AFB2A, AFM1, AFM2, AFM2A y aflatoxicol.
- Serie 2 Difuro-cumaro-lactonas: AFG1, AFG2, AFG2A, AFGM1, AFGM2, AFGM2A y AFB3 (Angulo, 2007).

Novoa & Díaz (2006), mencionan que las especies principales de Aflatoxinas son *A. flavus* que produce aflatoxinas B1 y B2 y *A. parasiticus*, que puede producir aflatoxinas B y G, siendo las más importantes B1, B2, G1 y G2. Por otro lado, las aflatoxinas M1 y M2 son productos hidroxilados de metabolismo oxidativo de B1 y B2 los cuales pueden ser excretados en la leche de humanos y animales

#### 2.4.5. Características morfológicas y bioquímicas

Posee 4 tipos de formas globosa, radiada, columnar o claviforme su morfología puede ser de 2 formas macro y microscópica; donde en la macroscópica puede ser apreciada verde – amarillento y verde azulado en el caso de *A. fumigatus* (Bogantes, 2004).

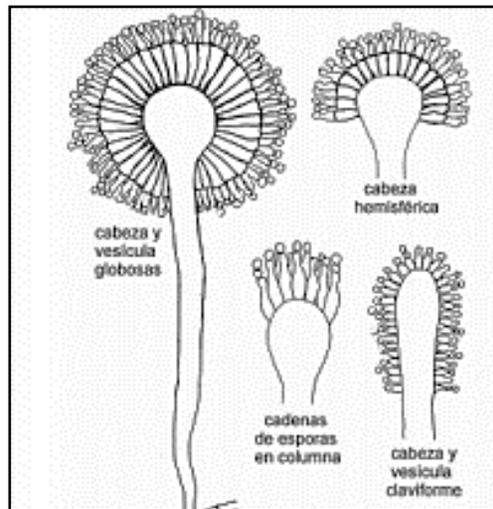


Figura 1. Morfología microscópica de *Aspergillus* spp.

Según Farias & Velásquez (2013) las aflatoxinas se sintetizan mediante la ruta metabólica de policétidos y las reacciones involucradas incluyen condensación, oxidación, reducción, alquilación y halogenación, formando una molécula que consiste en un anillo cumarin unido a bisdihidrofurano y una ciclopentanona, los metabolitos se forman por la condensación del acetyl – coenzima A, la cual actúa como molécula iniciadora de la AFB1.

#### **2.4.6. EFECTOS TÓXICOS**

Entre las principales manifestaciones asociadas a la exposición de aflatoxinas se encuentran:

- Daño hepático y renal.
- Mutagénesis (Por la mutación en el codón 249 de hepatocélulas humanas).
- Teratogénesis (Logran atravesar la placenta y producen malformaciones fetales).
- Inmunosupresión (Altera la función del sistema inmune).
- Genotoxicidad (Forma aductos con el ADN y con la albúmina que estimula a la alteración de genes y cromosomas) (Lodoño & Martínez, 2017).

#### **2.4.7. NIVELES PERMITIDOS**

FDA (2002) menciona que los niveles de acción vigentes en la actualidad para aflatoxinas totales, establecidos por la FDA para el maíz y maní, son los siguientes:

- Hasta 20 ppb de aflatoxinas en maíz y maní para consumo de humanos, animales jóvenes, vacas lecheras y cuando su uso es desconocido.
- Hasta 100 ppb en maíz y maní para consumo de pie de cría en bovinos, pie de cría de porcinos y para aves.
- Hasta 200 ppb en maíz y maní destinado para el acabado de cerdos de engorde (cerdos de más de 45kg).
- Hasta 300 ppb en maíz y maní para consumo de bovinos de engorde.

#### **2.4.8. PRESENCIA DE AFLATOXNAS EN PRODUCTOS ALIMENTICIOS**

Frecuentemente se contaminan los cultivos de: maíz, sorgo, cebada, trigo, arroz, maní, nueces y semillas de algodón. La contaminación con micotoxinas en los granos generalmente es un proceso aditivo; puede iniciarse en el campo, aumentar durante la cosecha y operaciones de secado y continuar acumulándose durante el almacenamiento (Urrego & Díaz, 2006).

De las principales aflatoxinas (B1, B2, G1 y G2), la que se observa frecuentemente en mayores concentraciones es la B1, y es la que se encuentra biológicamente más activa, se halla en piensos y balanceados de animales así como también en maní, algodón y maíz (Contreras, 2009).

Todas las aflatoxinas pueden estar o no presentes de manera simultánea en un producto, no obstante, su presencia y concentración pueden variar según el tipo de hongo y el sustrato (Aguilar, 2012).

Estudios han manifestado que los nutrientes, el tipo de sustrato, los altos contenidos de carbohidratos y un bajo nivel de proteínas son primordiales para la propagación de aflatoxinas y, por este motivo se considera al maní como un excelente sustrato ya que cumple con las características ya mencionadas (Contreras, 2009).

#### **2.4.9. LAS AFLATOXINAS Y EL MANÍ**

Entre los factores físicos que influyen en la producción de las aflatoxinas en el cultivo de maní son: Humedad, temperatura, luz, pH, aireación y concentración de los gases atmosféricos, siendo la humedad el factor de mayor relevancia (FAO, 2010).

Las aflatoxinas son producidas a temperaturas entre 12 y 45 °C siendo las óptimas entre 25 y 35°C su multiplicación está favorecida por los altos niveles de humedad. Angulo (2007) menciona que el porcentaje máximo de humedad en los granos de maní es de 25 a 30% y una humedad relativa mínima de 83 a 88% para favorecer la producción de aflatoxinas.

Atmósferas con oxígeno menor del 20% disminuyen su producción y en atmósferas de 1% de oxígeno no se forman aflatoxinas (Angulo, 2007).

Los hongos invaden a la semilla de maní, a través de las conexiones vasculares en planta madre. En el caso de *Aspergillus* spp. el inóculo llega a la superficie de la semilla proveniente de partes de la planta que se encuentran en estado de senescencia o muertas, además durante la etapa de desarrollo del cultivo los patógenos pueden infectar las vainas que se encuentran están en contacto directo con el suelo (Ullaury & Guamán, 2004).

Cavallo & Novo (1995) mencionan que las aflatoxinas que afectan comúnmente al maní son *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus*; los cuales causan lesiones necróticas en los cotiledones y el embrión, sobre las cuales se presentan masas de esporas con una coloración verde amarillenta.

## **2.5.MÉTODO PARA MEDIR AFLAOTOXINAS**

### **2.5.1. Kit VERATOX® para aflatoxinas**

El ensayo Veratox® para aflatoxina es un ELISA directo competitivo que proporciona un análisis cuantitativo de aflatoxina en productos como maíz, harina de maíz, harina de gluten de maíz, mezcla de maíz/soya, trigo, arroz, arroz blanqueado, milo, soya, semilla entera de algodón, harina de semilla de algodón, maní crudo, mantequilla de maní y piensos mixtos (NEOGEN, 2017).

### **2.5.2. Características y beneficios**

- Estándar de oro en pruebas de micotoxinas.
- Formato de micropocillos rentable.
- Ideal para pruebas por lotes.
- Rápido, preciso y fácil de usar.
- Amplia gama de productos validados y aprobados (Montesel, 2017).

### 2.5.3. Especificaciones del producto

- Límite inferior de detección: 2 ppb.
- Rango de cuantificación: 5-50 ppb.
- Controles proporcionados: 0, 5, 15 y 50 ppb.
- Tiempo de prueba: 5 minutos.
- Reactividad cruzada de anticuerpos: Total de aflatoxinas (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>).
- Pruebas por kit: hasta 40.
- Aprobaciones:
  - USDA/GIPSA 2015-070 y AOAC-RI 050901 (Montesel, 2017)

### 2.5.4. Fundamentos de la prueba

El kit VERATOX para aflatoxinas HS, determina cuantitativamente aflatoxinas (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>) a través de la lectura por el método por inmuno absorción ligado a enzimas (ELISA). El inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA) es una de las técnicas más aplicadas para la detección de antígenos y anticuerpos. El principio básico es el uso de anticuerpos o antígenos conjugados con una enzima que al reaccionar con el sustrato específico producen una reacción de color que se puede cuantificar con un espectrofotómetro a una longitud de onda apropiada.

Este kit cuenta con 38 pocillos, una solución sustrato, una solución de conjugado y una solución “stop” para detener la reacción, además de 4 controles de aflatoxinas 0 ppb, 5 ppb, 15 ppb y 50 ppb (NEOGEN, 2017).

El Kit está diseñado para ser utilizado por personal de control de calidad y otras personas familiarizadas con materias primas y productos alimenticios posiblemente contaminados por aflatoxinas (NEOGEN, 2017).

#### **2.5.5. Requisito de almacenamiento**

El Kit puede utilizarse hasta la fecha de caducidad establecida, si se lo almacena en un refrigerador a una temperatura entre 2 y 8° C (Montesel, 2017).

## **2.6. ANÁLISIS BROMATOLÓGICOS**

Los análisis bromatológicos son la evaluación química de la materia que compone a los nutrientes. Así, con el conocimiento de esta área se pueden evitar deficiencias o excesos de algún nutriente o sustancia (Quispe, 2017).

La Bromatología en sí, es la ciencia que estudia los alimentos, sus características, valor nutricional y adulteraciones (Quispe, 2017).

### **2.6.1.1. Materia seca**

La materia seca o extracto seco es la parte que resta de un material tras extraer toda el agua posible a través de un calentamiento hecho en condiciones de laboratorio (UNAM, 2008).

El porcentaje de materia seca se refiere a la cantidad de alimento menos el agua contenida en dicho alimento, en otras palabras, si una muestra de alimento "X" se somete a un calor moderado (típicamente 65°C por 48 horas) de tal modo que toda el agua se evapore, lo que queda es la porción de materia seca de ese alimento (UNAM, 2008).

### **2.6.2. Humedad**

La determinación de humedad es una de las determinaciones analíticas más importantes y utilizada en gran medida durante el procesamiento y control de productos alimenticios (UNAM, 2008).

El contenido de humedad frecuentemente es un índice de calidad y estabilidad así como también es una medida de la importancia y cantidad de sólidos totales. Es por ello que en

base al contenido de agua se establecen las condiciones de manejo, transporte, almacenamiento y procesamiento de un alimento (UNAM, 2008).

### **2.6.3. pH**

(Meza, 2011) dice que, el potencial de hidrógeno sirve para medir la actividad de los iones hidrógeno presentes en una determinada sustancia. Se pueden tomar medidas de acidez o basicidad, va de 0 a 14 en disolución acuosa, siendo ácidas las disoluciones con pH menores a 7, y básicas las que tienen pH mayores a 7. El pH igual a 7 indica neutralidad de la disolución (siendo la disolvente agua).

### **2.6.4. Ceniza**

Las cenizas representan el contenido de minerales en un alimento, además, las cenizas suponen menos del 5% de la materia seca de los alimentos. Las cenizas se determinan como el residuo que queda al quemar en un horno ó mufla los componentes orgánicos a 550 ° C durante 5 horas, en ocasiones es interesante determinar las cenizas insolubles en ácido clorhídrico, que pretenden representar el contenido del alimento en minerales indigestibles (Márquez, 2014).

Las cenizas contienen los elementos inorgánicos, mucho de los cuales son de interés nutricional como es el caso del calcio, fósforo, entre otros (Márquez, 2014).

#### **2.6.5. Fibra cruda**

La fibra representa la porción no digerible de los alimentos y, por consiguiente, mientras mayor sea su concentración en un producto dado, menor será su valor alimenticio, aunque es importante recomendarlo para el buen funcionamiento del intestino, por otro lado, la "Fibra cruda" es el residuo orgánico combustible e insoluble que queda después de que la muestra se ha tratado en condiciones determinadas (Escudero, 2006).

Su determinación se basa en la simulación de la digestión en el organismo por tratamientos ácidos y alcalinos, separando los constituyentes solubles de los insolubles que constituyen los desperdicios orgánicos a través de las heces (Escudero, 2006).

Para determinar la fibra cruda en muestras de maní se utilizará el método de Weende el mismo que consiste en someter la muestra seca y desengrasada a una primera digestión ácida y posteriormente a una segunda alcalina (Ramírez & Arrubla, s.f.).

La materia orgánica del residuo obtenido se considera la fibra cruda, los resultados obtenidos por este método son menores que los reales ya que en la digestión ácida se disuelve parte de la hemicelulosa y en la alcalina parte de la lignina (Ramírez & Arrubla, s.f.).

#### **2.6.6. Grasa**

Las grasas se definen como un grupo heterogéneo de compuestos que son insolubles en agua, pero solubles en disolventes orgánicos tales como éter, cloroformo, benceno o acetona. Todas las grasas contienen carbono, hidrógeno y oxígeno, y algunos también contienen fósforo y nitrógeno (Jiménez , 2014).

El contenido total de grasas se determina comúnmente por métodos de extracción con disolventes orgánicos (Soxhlet, Goldfish, Mojonnier), sin embargo también pueden cuantificarse por métodos de extracción que no incluyen disolventes (Babcock, Gerber) y por métodos instrumentales que se basan en propiedades físicas o químicas de las grasas (infrarrojo, densidad, absorción de rayos X) (Romero , 2012).

#### **2.6.7. Proteína**

La determinación de proteínas en un alimento es una medida de su calidad y su valor nutricional, dependiendo del alimento estas pueden ser solubles o insolubles y su

determinación se realiza empleando el método Kjeldahl el cual se basa en la cantidad de nitrógeno contenida en la proteína específica del producto (Puerto, 2013).

#### **2.6.8. Acidez de la materia grasa**

Se utiliza para determinar el porcentaje de ácidos grasos libres presentes en la materia grasa, a mayor deterioro del aceite mayor la acidez. Este análisis consiste en titular con solución de hidróxido de sodio el aceite extraído en el ensayo anterior, previa disolución del mismo en una solución de alcohol-tolueno. Para la titulación se utiliza una micro-bureta de vidrio o similar de 3 ml de capacidad, graduada 1/100 (Landaeta, 2002).

#### **2.6.9. Índice de dispersión proteica**

El índice de dispersión proteica se basa en la solubilidad de las proteínas de soja en agua. El tratamiento térmico severo destruye aminoácidos tales como lisina y cisteína, ocasionando una disminución en la digestibilidad de la harina de soja. Siendo este ensayo más sensible que el de la actividad ureásica para predecir el daño ocasionado por el secado (Landaeta, 2002).

## CAPITULO III

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación del área de investigación

##### 3.1.1. Ubicación Política

País	Ecuador
Provincia	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón	Santo Domingo de los Colorados
Parroquia	Luz de América
Predio	Laboratorios de la Hcda. “San Antonio”
Dirección	km 35 Vía Santo Domingo - Quevedo

##### 3.1.2. Ubicación Ecológica

Zona de vida:	Bosque Húmedo Tropical
Altitud:	224 msnm
Temperatura media:	24,6 ° C
Precipitación:	2860 mm año
Humedad relativa:	85%
Heliofanía:	680 horas luz año
Suelos:	Francos Arenoso

**Fuente:** Estación Agro meteorológica “Puerto Ila” Vía Quevedo km 34.

### 3.1.3. Ubicación Geográfica

Este estudio se realizó en las provincias de Santo Domingo de los Tsáchilas y Los Ríos donde se obtuvieron las variedades a ser analizadas. Las pruebas bioquímicas y bromatológicas, se realizaron en los laboratorios de la universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Extensión Santo Domingo en el km 35 Vía Santo Domingo – Quevedo en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas cantón Santo Domingo y en los laboratorios de Bromatología de La Universidad Técnica Estatal de Quevedo UTEQ.

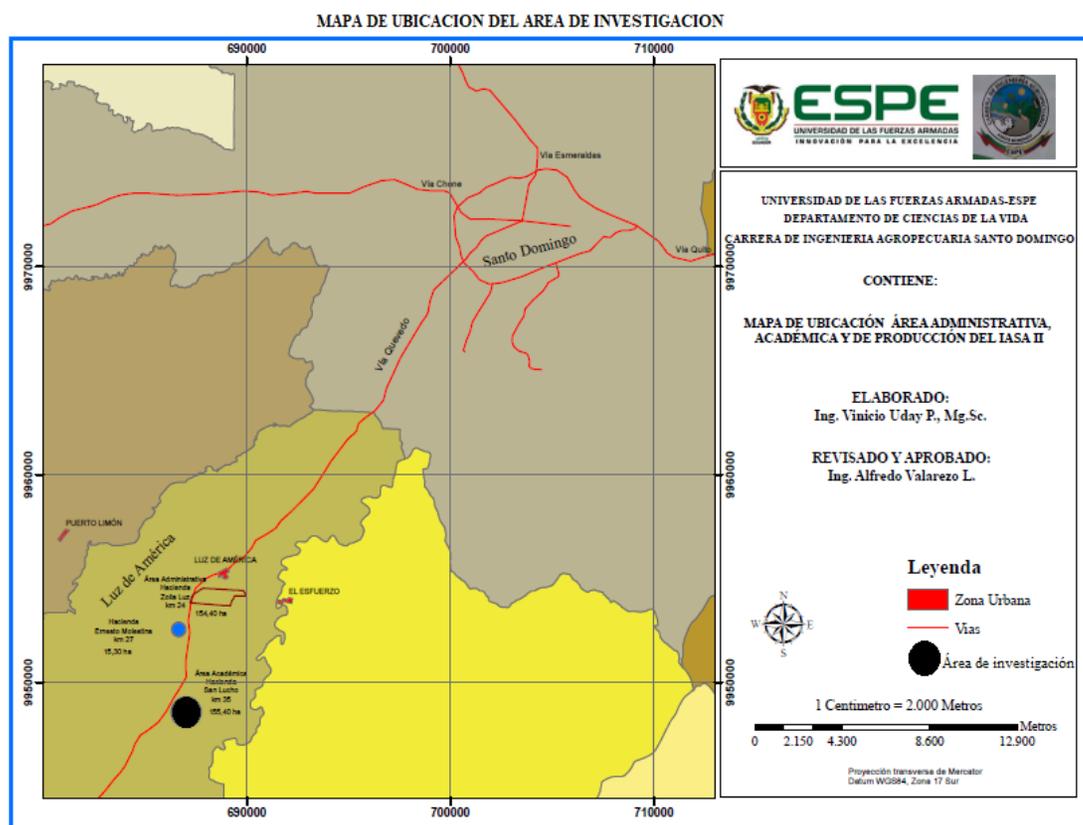


Figura 2. Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación.

- Latitud: 00° 24' 36"
- Longitud: 79° 18' 43"
- Altitud: 270 msnm

## 3.2.MATERIALES

### 3.2.1. Determinación de materia seca y humedad.

Tabla 8. Recursos necesarios para la determinación de materia seca y humedad en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Mufla	Crises.	Agua destilada	Semillas de maní
Estufa	Desecador.		

### 3.2.2. Determinación de pH.

Tabla 9. Recursos necesarios para la determinación de pH en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Potenciómetro	Vaso de precipitación de 200 ml.	Semillas de maní

### 3.2.3. Determinación de acidez.

Tabla 10. Recursos necesarios para la determinación de acidez en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Vaso de precipitación	NaOH 0,1N	Semillas de maní
Agitador	de 200 ml.	Agua destilada	
Plancha térmica			
magnética			
Equipo de titulación			

### 3.2.4. Determinación de ceniza.

Tabla 11. Recursos necesarios para la determinación de Cenizas en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Mufla	Crisoles.	Agua destilada	Semillas de maní
	Desecador.		

### 3.2.5. Determinación de fibra.

Tabla 12. Recursos necesarios para la determinación de fibra en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Equipo Dosi-Fisher	Fibra de vidrio	Ácido sulfúrico	Semillas de maní
Balanza analítica	Guantes	Hidróxido de potasio	
Bomba de vacío	Mascarillas	Antiespumante (Octanol)	
Estufa	Matraz quitasato	Acetona	
Mufla	Crisoles porosos		
Desecador			

### 3.2.6. Determinación de grasa.

Tabla 13. Recursos necesarios para la determinación de grasa en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza.	Mortero.	Éter di etílico	Semillas de maní
Estufa.	Probeta de 100 ml.		
Vasos Beacker para grasa.	Pisetas.		
Aparato Golfish.	Pipetas.		
Vasos de recuperación del solvente.	Papel Filtro.		
	Espátula.		
Desecador.	Pinza Universal.		
Dedales de Extracción.	Algodón liofilizado.		
Portadedales.			

### 3.2.7. Determinación de proteína.

Tabla 14. Recursos necesarios para la determinación de proteína en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica sensible al 0.1mg.	Tubos de destilación	Ácido sulfúrico concentrado 96%(d=1,84).	Semillas de maní
Unidad digestora.	Matraz Erlenmeyer de 250 ml.	Solución de Hidróxido de Sodio al 35%.	
Sorbora o colector/extractor de humos (unidad scrubber y bomba de vacío de circulación de agua).	Gotero.	Solución de Ácido Bórico al 2%.	
Unidad de destilación FISHER DESTILLING.	Mortero.	Solución de Ácido Clorhídrico 0,1 N (HCL)	
Plancha de calentamiento con agitador magnético.		debidamente Estandarizada. Tabletas Catalizadoras. Indicador Kjeldahl.	

### 3.2.8. Determinación de aflatoxinas totales.

Tabla 15. Recursos necesarios para la determinación de Aflatoxinas totales en semillas de maní.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Kit de Aflatoxinas (VERATOX)	Papel filtro Whatman #1	Alcohol metílico al 70%	Semillas de maní
Equipo Elisa	Pipetas		

## 3.3. MÉTODOS

### 3.3.1. Obtención de la materia prima

- **Maní almacenado en vaina**

La cosecha del maní en vaina de las variedades Rosita-INIAP-381 y Caramelo-INIAP-382 se realizó en la provincia de Los Ríos, cantón Buena Fe, parroquia San Jacinto de Buena fe, en el sector Bella Aurora.

Coordenadas:

- ✓ Latitud: 0°53'35" S
- ✓ Longitud: 79°29'27" O

✓ 17 M = 0684171

✓ UTM = 9945274

Es una zona con un clima tropical húmedo con una temperatura de 27 °C promedio anual y una precipitación media anual de 1 130 mm/año.

La cosecha se realizó de forma manual, a los 110 días cuando las plantas de maní presentaron los siguientes síntomas de madurez fenológica:

- Coloración amarillenta en las hojas
- Las semillas llenaron todo el espacio de la cáscara
- Las cápsulas mostraron manchas oscuras en el interior de la pared
- El tegumento mostró la coloración típica de cada variedad

Luego se procedió a arrancar para exponerlas al sol con la finalidad de que se seque su follaje y vaina y así disminuir el contenido de humedad, se seleccionaron las legumbres uniformes en apariencia y madurez, posteriormente se recolectó la cantidad necesaria para completar 1 kg por cada tratamiento, finalmente las vainas fueron almacenadas en sacos de yute durante aproximadamente 15 días.

- **Maní almacenado al granel**

En este caso se consiguió las muestras del mercado Municipal de Santo Domingo de los Colorados, ubicado en la provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas, los proveedores principales son de la provincia de Manabí – El Carmen, se compró un total 6 kg. de maní al granel por cada variedad, posteriormente dichas semillas fueron almacenadas en fundas Zip Lock, y etiquetadas según el tratamiento y repetición correspondientes.

Las semillas fueron almacenadas durante 15 días antes de realizar los respectivos análisis bromatológicos.

- **Maní almacenado al vacío**

Para esto se utilizó la materia prima cosechada en el sector Bella Aurora del cantón Buena Fe, escogiendo las mejores legumbres para posteriormente realizar la operación de trilla o desgrane, separando los granos de las vainas de manera manual, una vez obtenida la cantidad de 6 kg. por variedad, en los laboratorios de Agroindustria de la Universidad de las Fuerzas Armadas “ESPE”, ubicada en la finca Ernesto Molestina en el km 27 de la vía Quevedo-Santo Domingo, con ayuda de la máquina de embalaje al vacío ZD-DZ-400 fabricada en acero inoxidable (540 x 490 x 560 mm), con una doble barra selladora de 400 x 13 mm y funcionamiento eléctrico de 220 v/60 h/ 2f, una bomba de 20 m<sup>3</sup>/h, potencia de

2,900 watts y un motor de 0,750 kw y 7,6 amperios, se realizó el envasado al vacío. Procedimiento que consiste en extraer el aire en su totalidad del interior del envoltorio, de tal manera que los granos de maní no se degradan del mismo modo que lo harían en contacto con el oxígeno. Las muestras fueron almacenadas durante 30 días antes de realizar los respectivos análisis bromatológicos.

### 3.3.2. Diseño Experimental

#### 3.3.2.1. Factores y niveles del experimento

Tabla 16. Factores y niveles a probar en el estudio bromatológico de dos variedades de maní (*Arachis hypogaea* L.).

Factores	Niveles
Variedades de Maní (V)	V1= INIAP – 381 Rosita
	V2= INIAP – 382 Caramelo
Estado de la Muestra (E)	E1= Estado fresco
	E2= Estado Seco
Sistemas de almacenamiento (S)	S1= En vaina
	S2= Al granel
	S3= Al vacío

### 3.3.2.2. Tratamientos a comparar

Tabla 17. Tratamientos a comparar en el estudio bromatológico dos variedades de maní (*Arachis hypogaea* L.).

Tratamiento	Factores	Descripción
T1	V1E1S1	INIAP – 381 Rosita + Estado Fresco + Empaque plástico
T2	V1E1S2	INIAP – 381 Rosita + Estado Fresco + Al granel
T3	V1E1S3	INIAP – 381 Rosita + Estado Seco + Al vacío
T4	V1E2S1	INIAP – 381 Rosita + Estado Seco + Empaque plástico
T5	V1E2S2	INIAP – 381 Rosita + Estado Seco + Al granel
T6	V1E2S3	INIAP – 381 Rosita + Estado Seco + Al vacío
T7	V2E1S1	INIAP – 382 Caramelo + Estado Fresco + Empaque plástico
T8	V2E1S2	INIAP – 382 Caramelo + Estado Fresco + Al granel
T9	V2E1S3	INIAP – 382 Caramelo + Estado Fresco + Al vacío
T10	V2E2S1	INIAP – 382 Caramelo + Estado Seco + Empaque plástico
T11	V2E2S2	INIAP – 382 Caramelo + Estado Seco + Al granel
T12	V2E2S3	INIAP – 382 Caramelo + Estado Seco + Al vacío

### **3.3.2.3. Tipo de diseño**

Se empleó un esquema trifactorial (2X2X3) conducido en un DBCA

### **3.3.2.4. Repeticiones**

El experimento se conformó de tres repeticiones por tratamiento, con un total de 36 unidades experimentales.

### **3.3.2.5. Características de la unidad experimental**

La unidad experimental se conformó por 1 kilogramo de semilla de maní para cada repetición.

### 3.3.3. Análisis estadístico

#### 3.3.3.1. Esquema de análisis de varianza

Tabla 18. Esquema del análisis de varianza para el estudio bromatológico de dos variedades de maní (*Arachis hypogaea* L.).

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Bloque	R-1	2
Variedad	V-1	1
Acondicionamiento de la muestra	A-1	1
Sistemas de almacenamiento	S-1	2
Variedad x Acondicionamiento de la muestra	(V-1)(A-1)	1
Variedad x Sistemas de almacenamiento	(V-1)(S-1)	2
Acondicionamiento x Sistemas de almacenamiento	(A-1)(S-1)	2
Variedad x Acondicionamiento de la muestra x Sistemas de almacenamiento	(V-1)(A-1)(S-1)	2
Error Experimental		22
Total	(n-1)	35

### 3.3.3.2. Análisis funcional

Se realizó la prueba de significancia de Tukey al 5 %.

### 3.3.4. Variables a medir

#### 3.3.4.1. Determinación de materia seca

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 382 (2013):

Se pesó 100g de la muestra, luego se dejó en la estufa a 60° C durante 48 horas, obteniendo los datos del peso en seco para proceder hacer los cálculos del porcentaje de materia seca, como se muestra a continuación:

$$\frac{(\text{Peso seco (g)})}{(\text{Peso fresco (g)})} * 100$$

#### **3.3.4.2. Determinación de humedad**

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 49 (2015):

Obtenido la materia seca, se restó el peso fresco con el peso seco y se obtuvo la cantidad de humedad de las muestras.

#### **3.3.4.3. Determinación de pH**

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 389:

En primer lugar, se verifico el correcto funcionamiento del potenciómetro. Se midió 10 gr de muestra y se colocó en un vaso de precipitación, luego se añadió 100 cm<sup>3</sup> de agua destilada, posteriormente se licuó la mezcla hasta que las partículas quedaron uniformemente suspendidas. Finalmente se determinó el pH por lectura directa, introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que estos no toquen las paredes del recipiente.

#### 3.3.4.4. Determinación de acidez titulable

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 2152 (2013):

Se colocó 25 cm<sup>3</sup> de la muestra en un matraz volumétrico de 250 cm<sup>3</sup> y se diluyó a volumen con agua destilada previamente hervida y enfriada, mezclando perfectamente la solución y sumergir los electrodos en la muestra.

Rápidamente se añadió de 10 a 50 cm<sup>3</sup> de la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, agitando hasta alcanzar pH 6, determinado con el potenciómetro.

Se continuó añadiendo lentamente solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta obtener pH 7; luego, adicionando la solución 0,1 N de hidróxido de sodio en cuatro gotas por vez, registrando el volumen de la misma y el pH obtenido después de cada adición, hasta alcanzar pH 8,3 aproximadamente.

Por interpolación se estableció el volumen exacto de solución 0,1 N de hidróxido de sodio añadido, correspondiente al pH 8,1 y se procedió a realizar los cálculos siguientes para obtener el resultado:

$$A = \frac{(V_1 N_1 M) * 10}{V_2}$$

Siendo:

A = g de ácido en 1 000 cm<sup>3</sup> de producto.

V1 = cm<sup>3</sup> de NaOH usados para la titulación de la alícuota.

N1 = normalidad de la solución de NaOH.

M = peso molecular del ácido considerado como referencia.

V2 = volumen de la alícuota tomada para el análisis.

#### **3.3.4.4. Determinación de ceniza**

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 401:

Se tomó 2 g/ crisol de cada tratamiento y se colocó en la estufa a 100°C por 24 horas, dejando enfriar durante 10 minutos, se pesó cada crisol, luego se colocó en la mufla a 600°C durante 4 horas, y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{c3 - c1}{c2 - c1} \times 100$$

Siendo:

C1= Masa del crisol vacío (gr)

C2=Masa del crisol con la muestra (gr)

C3=Masa del crisol con las cenizas (gr)

#### **3.3.4.5. Determinación de Fibra**

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 534:

Se tomó 2g/crisol de cada tratamiento, y se colocó los crisoles en la máquina de fibra, luego se aplicó 100ml de ácido sulfúrico y 10 gotas de octanol, se dejó hervir durante 30 minutos, luego se evacuó el líquido lavando con agua destilada 200 ml en cada uno.

Posterior a esto se aplicó 100 ml de óxido de sodio, 10 gotas de octanol, se dejó hervir nuevamente durante 30 minutos, luego se evacuó nuevamente el líquido lavando con agua destilada 30 ml en cada uno.

Finalmente, se retiró los crisoles y se colocó 10 ml de acetona en cada crisol, dejando 10 minutos en reposo, para luego llevar a la bomba de vacío.

Se colocó los crisoles en la estufa a 100°C durante 24 horas, al enfriarse se registró el peso y se colocó en la mufla a 500°C durante 3 horas, al enfriarse se tomó el peso final. Para los cálculos se utilizó la siguiente fórmula:

$$\%Fibra\ bruta = \frac{W_1 - W_2}{W_0} \times 100$$

Siendo:

$W_0$  = Peso de la muestra

$W_1$  = Peso del crisol + muestra seca

$W_2$  = Peso del crisol + muestra calcinada

#### **6.4.3.5. Determinación de Grasa**

Para la determinación de este parámetro se puede emplear la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 0277:

Se procedió a secar los vasos beakers en la estufa a 100°C por 1 hora. Luego se transfirieron al desecador y se pesó los vasos con una aproximación de 0,1 mg, por consiguiente, se pesó 2g de muestra sobre el papel filtro los cuales fueron colocados en el interior del dedal, se taponó con suficiente algodón.

Se colocó el dedal en el vaso beaker, y se llevó a los ganchos metálicos del aparato de golfish. Se adicionó en el vaso beaker 50 ml de solvente, al mismo tiempo abrir el reflujo de agua.

Se colocó el anillo en el vaso y se llevó a la hornilla del aparato de golfish, ajustando el tubo refrigerante del extractor. Se levantó las hornillas y se reguló la temperatura a 55 °C.

Terminada la extracción, se bajó con cuidado los calentadores, y se retiró momentáneamente el vaso con el anillo, se levantó los calentadores, y se dejó hervir hasta que el solvente este casi todo en el vaso de recuperación, sin quemar la muestra, se bajó los calentadores, se retiró los beaker con el residuo de grasa y el solvente se transfirió al frasco original.

El vaso con la grasa se llevó a la estufa a 105°C hasta completa evaporación del solvente por 30 minutos. Se colocó los vasos beaker que contenían la grasa, durante 30 min en la

estufa calentando a 100°C, finalmente se los dejó enfriar hasta temperatura ambiente en el desecador. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$G = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

Siendo:

G = Porcentaje de grasa

W<sub>0</sub> = Peso de la muestra

W<sub>1</sub> = Peso del vaso beaker vacío

W<sub>2</sub> = Peso del vaso más la grasa.

#### **6.4.3.5. Determinación de Proteína**

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 0016:

Se molió aproximadamente 100 gramos de muestra, en un micro molino con un tamiz de abertura de 1mm y que atravesase un 95% del producto. El proceso consta de 3 fases como se muestra a continuación:

##### **A. Digestión**

- Se pesó 0,3 gramos de muestra y colocar en el micro- tubo – digestor.
- Se añadió al micro-tubo una tableta catalizadora y 5ml de ácido sulfúrico concentrado.

- Se colocó los tubos digestores con las muestras en el block-digest con el colector de humo funcionando.
- Se realizó la digestión a temperatura de 350° a 400°C Tiempo de 1 a 2 Horas. Al finalizar el líquido se tornó de un color verde o azul, se dejó enfriar la muestra a temperatura ambiente evitando agitar.

### **B. Destilación**

- En cada micro- tubo se adicionó 15 ml de agua destilada.
- Se colocó el micro-tubo y el matraz de recepción con 10 g /1,2 litros de agua. Se encendió el sistema y adicionar 30 ml de hidróxido de sodio al 40%.
- Se recogió aproximadamente 200 ml de destilado retirando el sistema de accesorios y apagando el equipo.

### **C. Titulación**

- De lo destilado se aumentó 3 gotas de Kjeldahl, se tituló con ácido clorhídrico 0,1 N utilizando un agitador mecánico y finalmente se registró el volumen de ácido consumido.

El cálculo del porcentaje de proteína se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%PB = \frac{(VHCL - Vb) * 1,401 * NHCL * F}{g\ muestra}$$

Donde:

1,401 = Peso atómico del nitrógeno

NHCL = Normalidad de Ácido clorhídrico 0,1 N

F = Factor de conversión (6,25)

VHCL = Volumen del ácido clorhídrico consumido en la titulación

Vb = Volumen del blanco (0,3)

#### **6.4.3.6. Determinación de Aflatoxinas**

Se utilizó la prueba cuantitativa para aflatoxinas VERATOX.

##### **A. Preparación de muestras y extracción**

- Se preparó alcohol metílico al 70% mezclando 7 partes de metanol grado ACS con tres partes de agua destilada para cada muestra.
- Se obtuvo una muestra representativa. Se molió toda la muestra para que por lo menos el 75% del material molido pase por el tamiz #20.
- Se mezcló 25 g de la muestra molida con 125 ml de una solución metanol-agua al 70% en una mezcladora de alta velocidad durante 2 minutos.

- Se filtró el extracto vertiendo al menos 5-15 ml a través de un filtro Whatman #1 y se recolectó el filtrado como muestra.

## **B. Procedimiento o prueba**

- Antes de usar, se dejaron los reactivos a temperatura ambiente entre 18 y 30° C. En primer lugar, se tomó 1 pozo de marcado en rojo por cada muestra que se probó, más 4 pozos marcados en rojo para los controles los cuales se colocaron en los porta-pozos.
- Se tomó igual número de pozos cubiertos de anticuerpos. Se mezcló cada reactivo antes de usarlo, moviendo los recipientes suavemente en forma circular.
- Se colocó 10 ml de conjugado del frasco con etiqueta azul en cada pozo de mezcla marcado con rojo.
- Se utilizó una nueva punta cada vez, se transfirió 100 µl de los controles y las muestras a los pozos de mezclado marcados con rojo. Utilizando una pipeta de 12 canales se mezcló los pozos pipeteando el líquido de arriba hacia abajo 3 veces. Se transfirieron 100 µl a los pozos de anticuerpo. Se mezcló moviendo el porta micropozo en ambos sentidos sobre una superficie plana durante 10 a 20 segundos sin salpicar los reactivos de los pozos.
- Se incubó por dos minutos a temperatura ambiente entre 18 y 30 °C. Se descartó los pozos mezclados con rojo. Bajo un chorro de agua se llenó cada pozo de anticuerpo con agua destilada, luego se los vació, este paso se repitió 5 veces.

- Luego se le dió vuelta a los pozos sobre una toalla de papel y se los golpeó hasta verter el agua restante. Se pipeteó el volumen necesario del substrato (Frasco de etiqueta verde).
- En la cubeta de reactivos de etiqueta verde y con puntas nuevas se pipeteó 100 ml de substrato en los pozos y se hizo mezcla moviendo en ambos sentidos en una superficie plana durante 10 a 20 segundos. Se incubó por 3 minutos, y se descartó el substrato restante enjuagando la cubeta de reactivo con agua.
- Se pipeteó la solución detenedora roja en la cubeta de reactivos de etiqueta roja. Usando las mismas puntas de pipetas que se usó para dispensar el substrato, se agregará 100 ml de reactivo detenedor rojo a cada pozo y se hará la mezcla moviéndose en ambos sentidos sobre una superficie plana.
- Finalmente se limpió el fondo de los micro-pozos con un paño seo o toalla y se hizo la lectura en un lector de micro-pozo empleando un filtro de 650 nm. Los resultados se obtuvieron con ayuda del equipo Elisa.

#### **6.4.3.6. Determinación de la acidez de la materia grasa**

Para la determinación de este parámetro se puede emplear la siguiente metodología establecida en la NTE INEN 0038:

Se preparó la solución disolvente: Se disolvió volúmenes iguales de etanol 96 ° y de tolueno. Al alcohol se agregó 1 gramo de fenolftaleína por cada 200 ml, antes de mezclarlo con el tolueno.

La solución alcohol-tolueno se neutralizó agregándole solución de NaOH 0,1253 N hasta que tome al rosa pálido, con la finalidad de la mezcla acidifique al aceite.

Se agregó 50 ml de esta solución al matraz para disolver el aceite, finalmente se tituló con solución de NaOH 0,1253 N gota a gota, agitando hasta aparición de color rosa pálido. Se anotó los ml gastados y se multiplicó por 2 para obtener el % de acidez.

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS

#### 4.1. Análisis de varianza para las variables de estudio.

##### 4.1.1 Análisis de varianza para la variable Humedad

Tabla 19. Análisis de varianza para la variable Humedad

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	2,19534	1	2,19534	24,35	0,0001*
B: Estado de la muestra	387,106	1	387,106	4293,56	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	31,3021	2	15,6511	173,59	0,0000*
D: Repetición	0,132289	2	0,0661444	0,73	0,4915
AB	0,354025	1	0,354025	3,93	0,0602
AC	0,203739	2	0,101869	1,13	0,3411
BC	11,6084	2	5,80418	64,38	0,0000*
ABC	0,80745	2	0,403725	4,48	0,0234*
Error	1,98351	22	0,0901596		
Total	435,692	35			
Coefficiente de variación	5,29				

En la tabla 19 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en: Factor A (Variedad), Factor B (Estado de la muestra), Factor C (Acondicionamiento de la muestra), interacción B\*C e interacción A\*B\*C. Mientras que en: Repetición, interacción A\*B e interacción A\*C no se encontró diferencia significativa.

#### 4.1.2. Análisis de varianza para la variable Materia seca

Tabla 20. Análisis de varianza para la variable Materia seca

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	2,13939	1	2,13939	23,71	0,0001*
B: Estado de la muestra	378,747	1	378,747	4197,57	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	29,2711	2	14,6355	162,2	0,0000*
D: Repetición	0,125748	2	0,0628741	0,7	0,5088
AB	0,350216	1	0,350216	3,88	0,0615
AC	0,210044	2	0,105022	1,16	0,3308
BC	10,6902	2	5,34512	59,24	0,0000*
ABC	0,777062	2	0,388531	4,31	0,0264*
Error	1,98506	22	0,09023		
Total	435,692	35			
Coeficiente de variación	0,32				

En la tabla 20 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en: Factor A (Variedad), Factor B (Estado de la muestra), Factor C (Acondicionamiento de la muestra), interacción B\*C e interacción A\*B\*C. Mientras que en: Repetición, interacción A\*B e interacción A\*C no se encontró diferencia significativa.

### 4.1.3. Análisis de varianza para la variable pH

Tabla 21. Análisis de varianza para la variable pH.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	0,358003	1	0,358003	358	0,0000*
B: Estado de la muestra	0,140625	1	0,140625	140,63	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	1,1762	2	0,5881	588,1	0,0000*
D: Repetición	0,00126667	2	0,000633333	0,63	0,5402
AB	0,0793361	1	0,0793361	79,34	0,0000*
AC	1,20916	2	0,604578	604,58	0,0000*
BC	0,0722667	2	0,0361333	36,13	0,0000*
ABC	0,237622	2	0,118811	118,81	0,0000*
Error	0,022	22	0,001		
Total	3,29647	35			
Coeficiente de variación	0,50				

En la tabla 21 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en todos los factores e interacciones a excepción de la Repetición.

#### 4.1.4. Análisis de varianza para la variable Acidez

Tabla 22. Análisis de varianza para la variable Acidez

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	0,0000017778	1	0,0000017778	0,6	0,4459
B: Estado de la muestra	0,0000751111	1	0,0000751111	25,46	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	0,000767389	2	0,000383694	130,06	0,0000*
D: Repetición	0,0000427489	2	0,0000213744	7,25	0,0038*
AB	0,00000289	1	0,00000289	0,98	0,3331
AC	0,000318562	2	0,000159281	53,99	0,0000*
BC	0,000322936	2	0,000161468	54,73	0,0000*
ABC	0,00004706	2	0,00002353	7,98	0,0025*
Error	0,0000649044	22	0,0000029502		
Total	0,00164338	35			
Coeficiente de variación	6,79				

En la tabla 22 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en: Factor B (Estado de la muestra), Factor C (Acondicionamiento de la muestra), Repetición, interacción A\*C, B\*C e interacción A\*B\*C. Mientras que en: Factor A (Variedad) y en la interacción A\*B no se encontró diferencia significativa.

#### 4.1.5. Análisis de varianza para la variable Ceniza

Tabla 23. Análisis de varianza para la variable ceniza.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	0,0476694	1	0,0476694	6,03	0,0225*
B: Estado de la muestra	0,407469	1	0,407469	51,51	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	1,00514	2	0,502569	63,53	0,0000*
D: Repetición	0,0814889	2	0,0407444	5,15	0,0146*
AB	0,000802778	1	0,000802778	0,1	0,7531
AC	0,674839	2	0,337419	42,65	0,0000*
BC	0,0203389	2	0,0101694	1,29	0,2965
ABC	0,0864389	2	0,0432194	5,46	0,0118*
Error	0,174044	22	0,00791111		
Total	2,49823	35			
Coefficiente de variación	3,58				

En la tabla 23 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en: Factor A (Variedad), Factor B (Estado de la muestra), Factor C (Acondicionamiento de la muestra), Repetición, interacción A\*C e interacción A\*B\*C. Mientras que en: Interacción A\*B y en la interacción B\*C no se encontró diferencia significativa.

#### 4.1.6. Análisis de varianza para la variable Fibra cruda

Tabla 24. Análisis de varianza para la variable Fibra cruda.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	0,0324	1	0,0324	0,14	0,7089
B: Estado de la muestra	9,94351	1	9,94351	43,89	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	2,68522	2	1,34261	5,93	0,0087*
D: Repetición	2,91872	2	1,45936	6,44	0,0063*
AB	1,33018	1	1,33018	5,87	0,0241*
AC	0,520217	2	0,260108	1,15	0,3355
BC	0,196606	2	0,0983028	0,43	0,6534
ABC	0,724939	2	0,362469	1,6	0,2245
Error	4,98422	22	0,226555		
Total	23,336	35			
Coefficiente de variación	5,58				

En la tabla 24 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en: Factor B (Estado de la muestra), Factor C (Acondicionamiento de la muestra), Repetición y en la interacción A\*B. Mientras que en: Factor A (Variedad), interacciones A\*C, B\*C y A\*B\*C no se encontró diferencia significativa.

#### 4.1.7. Análisis de varianza para la variable Grasa

Tabla 25. Análisis de varianza para la variable Grasa.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	39,0625	1	39,0625	6,46	0,0186*
B: Estado de la muestra	1190,25	1	1190,25	196,95	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	74,3437	2	37,1719	6,15	0,0076*
D: Repetición	12,0417	2	6,02083	1	0,3853
AB	3,0625	1	3,0625	0,51	0,4840
AC	27,7812	2	13,8906	2,3	0,1240
BC	299,344	2	149,672	24,77	0,0000*
ABC	70,9062	2	35,4531	5,87	0,0091*
Error	132,958	22	6,04356		
Total	1849,75	35			
Coefficiente de variación	7,68				

En la tabla 25 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en: Factor A (Variedad), Factor B (Estado de la muestra), Factor C (Acondicionamiento de la muestra), interacción B\*C e interacción A\*B\*C. Mientras que en: Interacciones A\*B, A\*C y en la Repetición no se encontró diferencia significativa.

#### 4.1.8. Análisis de varianza para la variable Proteína

Tabla 26. Análisis de varianza para la variable proteína

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	41,2592	1	41,2592	14,35	0,0010*
B: Estado de la muestra	204,585	1	204,585	71,16	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	88,9547	2	44,4774	15,47	0,0001*
D: Repetición	0,929339	2	0,464669	0,16	0,8518
AB	2,1316	1	2,1316	0,74	0,3985
AC	14,724	2	7,362	2,56	0,1001
BC	36,1586	2	18,0793	6,29	0,0069*
ABC	23,2494	2	11,6247	4,04	0,0320*
Error	63,2529	22	2,87513		
Total	475,245	35			
Coefficiente de variación	6,50				

En la tabla 26 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en: Factor A (Variedad), Factor B (Estado de la muestra), Factor C (Acondicionamiento de la muestra), Repetición, interacción B\*C e interacción A\*B\*C. Mientras que en: Repetición, interacción A\*B e interacción A\*C no se encontró diferencia significativa.

#### 4.1.9. Análisis de varianza para la variable Aflatoxinas totales

Tabla 27. Análisis de varianza para la variable Aflatoxinas totales

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	176,447	1	176,447	1132,28	0,0000*
B: Estado de la muestra	33,8336	1	33,8336	217,11	0,0000*
C: Sistema de almacenamiento	206,072	2	103,036	661,19	0,0000*
D: Repetición	0,111667	2	0,0558333	0,36	0,7029
AB	70,8403	1	70,8403	454,59	0,0000*
AC	55,9906	2	27,9953	179,65	0,0000*
BC	45,6206	2	22,8103	146,38	0,0000*
ABC	59,7439	2	29,8719	191,69	0,0000*
Error	3,42833	22	0,155833		
Total	652,088	35			
Coefficiente de variación	9,65				

En la tabla 27 de análisis de varianza, se puede apreciar diferencia significativa en todos los factores e interacciones a excepción de la Repetición.

## 4.2. Prueba de significancia de Tukey $p < 0.05$ para los factores en estudio

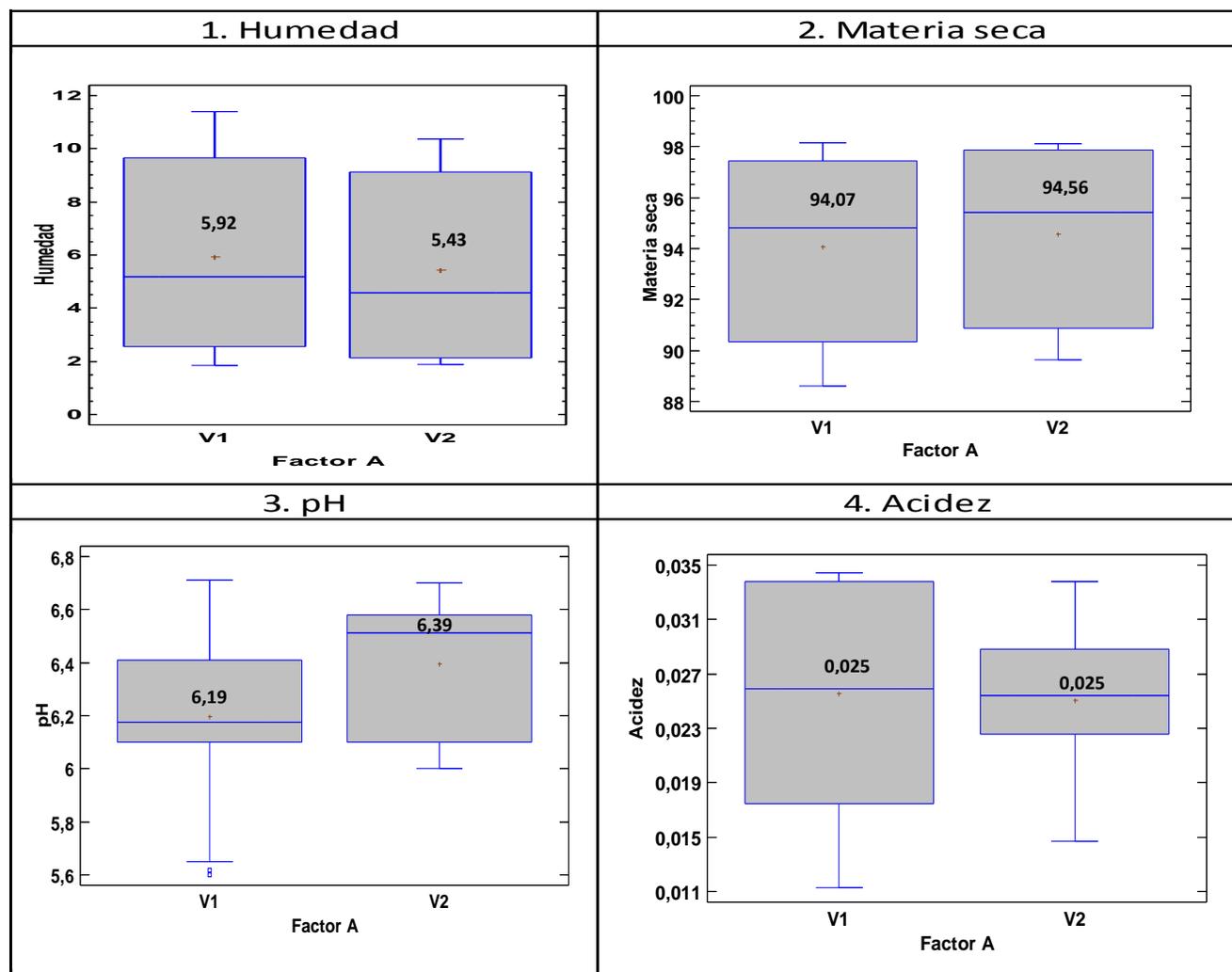
### 4.2.1. Prueba de significancia de Tukey del Factor A

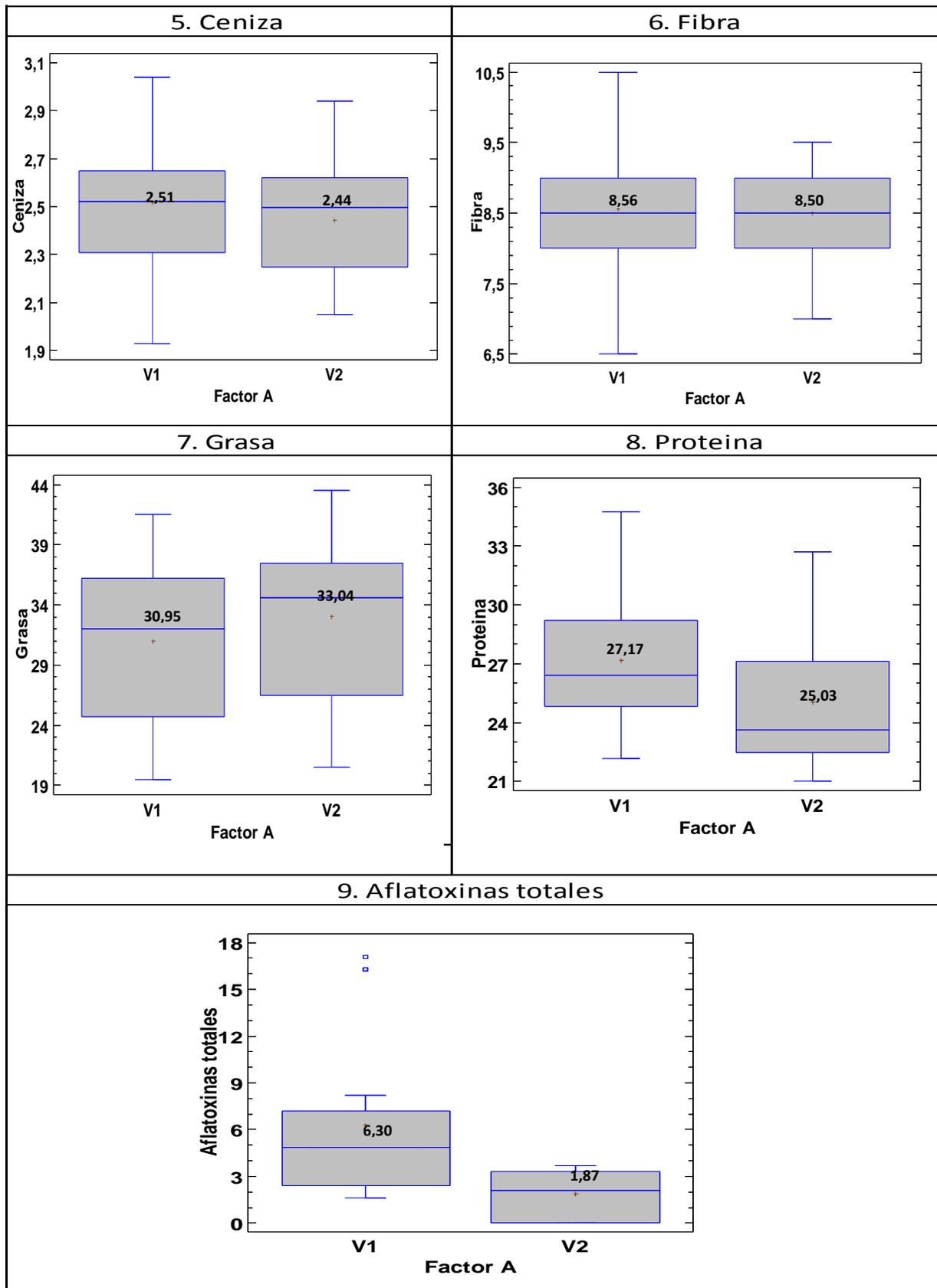
Tabla 28. de Tukey del Factor A (VARIEDAD)

Factor A (Variedad)	Humedad	Materia seca	pH	Acidez	Ceniza	Fibra	Grasa	Proteína	Aflatoxinas totales
V1	5,92 a	94,07 b	6,19 b	0,025 a	2,51 a	8,56 a	30,95 b	27,17 a	6,30 a
V2	5,43 b	94,56 a	6,39 a	0,025 a	2,44 b	8,50 a	33,04 a	25,03 b	1,87 b

V1 = Rosita-Iniap 381

V2 = Caramelo-Iniap 382





Respecto a la tabla N° 28 la variedad: Rosita-Iniap 381 (5,92%) presentó mayor humedad que Caramelo-Iniap 382 (5,43%); para materia seca, se observó que Caramelo-Iniap 382 (94,56%) presentó un mayor valor en comparación con Rosita-Iniap 381 (94,07%); en cuanto a pH la variedad Caramelo-Iniap 382 (6,39) presentó mayor valor que Rosita-Iniap 381 (6,19); para ceniza y fibra , Rosita-Iniap 381 (2,51% - 8,56%) presentó mayores valores que Caramelo-Iniap 382 (2,44% - 8,50%) respectivamente; para grasa Caramelo-Iniap 382 (30,95%) presentó mayor porcentaje que Rosita-Iniap 381 (33,04%); respecto a proteína y aflatoxinas totales se observó que Rosita-Iniap 381 (27,17 - 6,30 ppb) presentó mayores que Caramelo-Iniap 382 (2,44% - 8,50%).

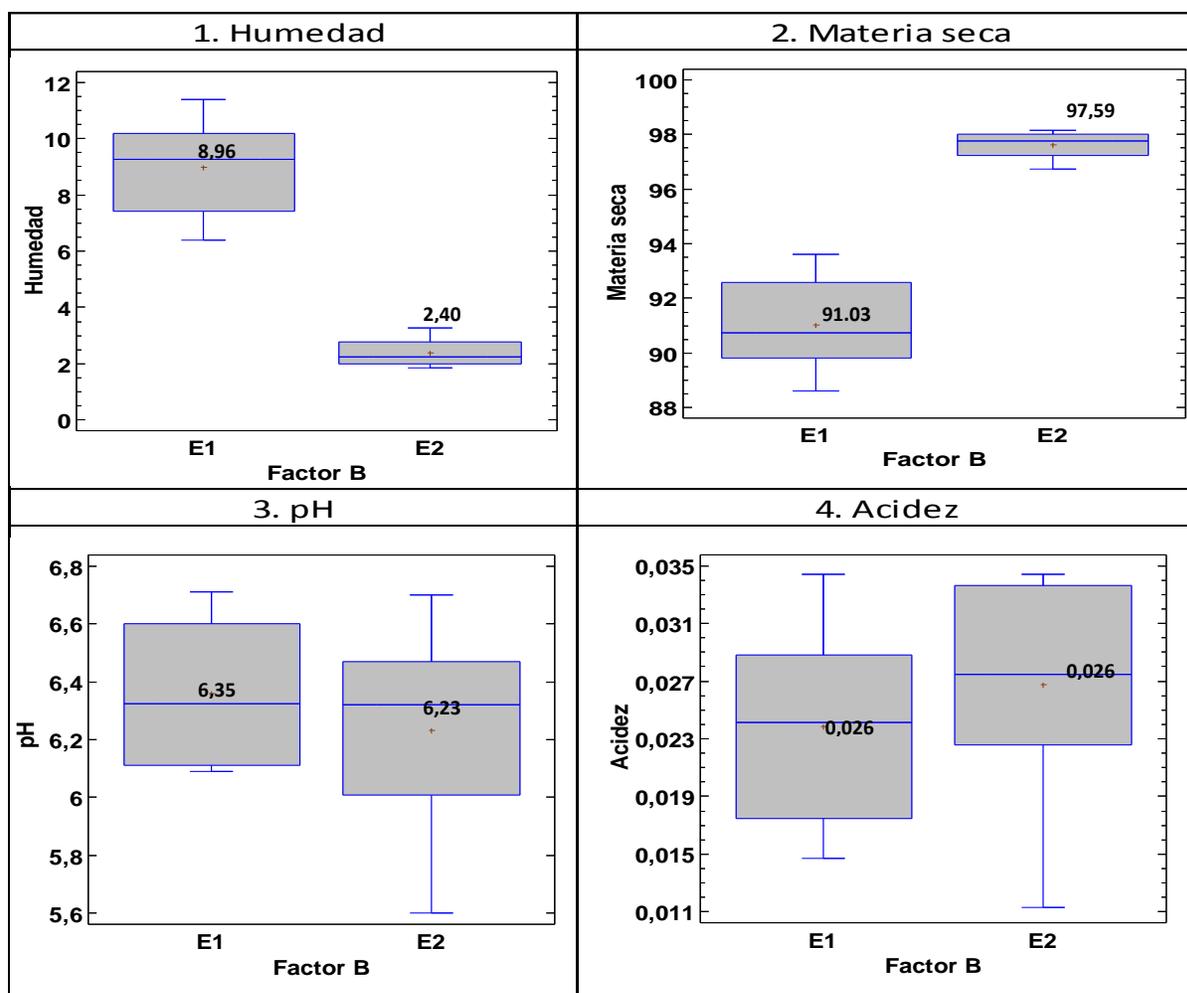
#### 4.2.2. Prueba de significancia de Tukey del Factor B

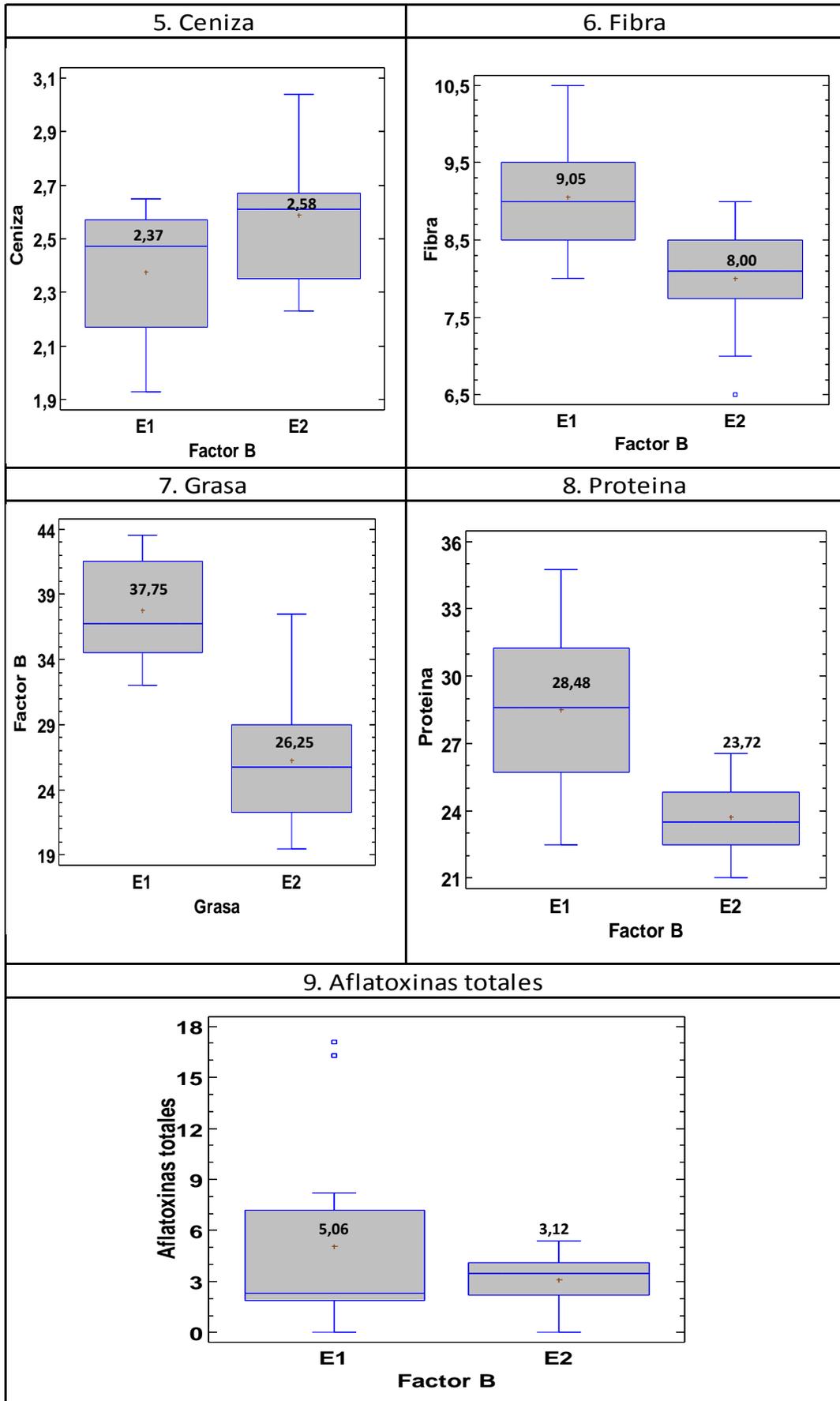
Tabla 29. Prueba de significancia de Tukey del Factor B (*ESTADO DE LA MUESTRA*).

Factor B (Estado de la muestra)	Humedad	Materia seca	pH	Acidez	Ceniza	Fibra	Grasa	Proteína	Aflatoxinas totales
E1	8,96 a	91,03 b	6,35 a	0,026 b	2,37 b	9,05 a	37,75 a	28,48 a	5,06 a
E2	2,40 b	97,59 a	6,23 b	0,023 a	2,58 a	8,00 b	26,25 b	23,72 b	3,12 b

E1 = Fresco

E2 = Seco





En cuanto a tabla N°29, las muestras frescas (8,96%) presentaron mayor humedad que las muestras secas (2,40%); para materia seca, las muestras en estado seco (97,59%) presentaron un mayor valor en comparación con Rosita-Iniap 381 (91,03%); respecto a pH y acidez se observó que las muestras frescas (6,35 – 0,026%) presentaron valores más altos que Caramelo-Iniap 382 (6,23 – 0,023%) respectivamente; respecto a ceniza se observó que las muestras secas (2,58) presentaron mayor porcentaje que las muestras frescas (2,37); las muestras en estado fresco presentaron valores más alto de fibra (9,05%) en comparación a las muestras en estado seco (8,00%); finalmente para grasa, proteína y aflatoxinas: las muestras en estado fresco presentaron mayores valores (37,75% - 28,48% y 5,06 ppb) en comparación la muestras en estado seco (26,56% - 23,72% y 3,12ppb).

### 4.2.3. Prueba de significancia de Tukey del Factor C

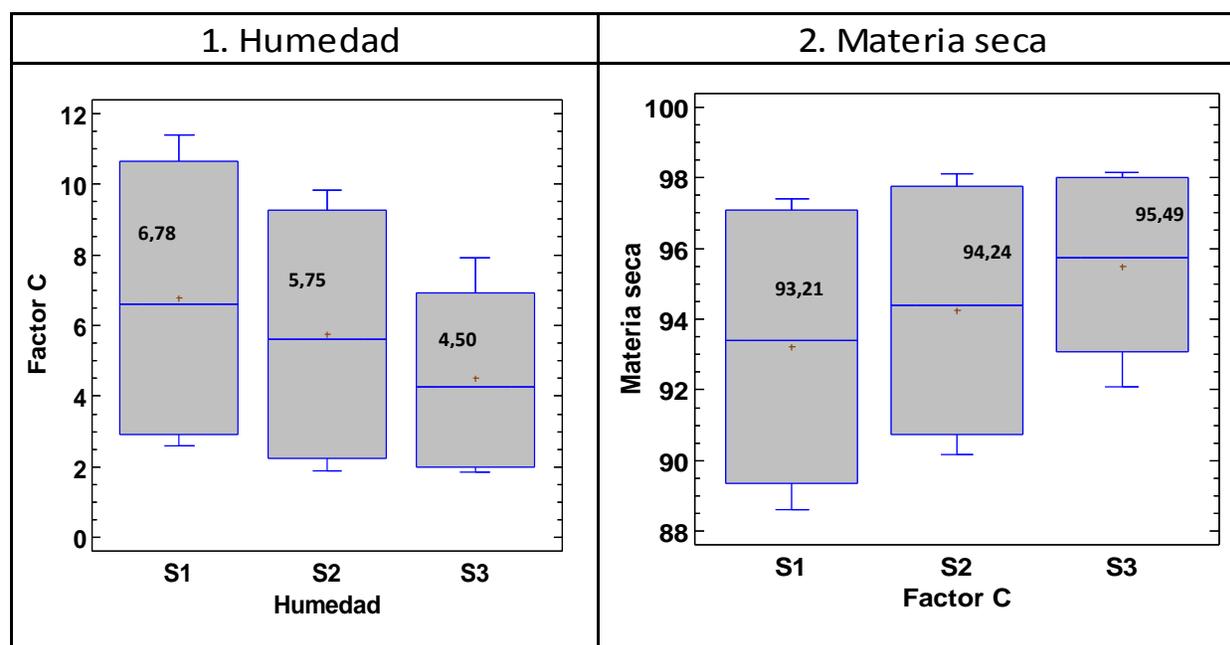
Tabla 30. Prueba de significancia de Tukey del Factor C (*SISTEMA DE ALMACENAMIENTO*)

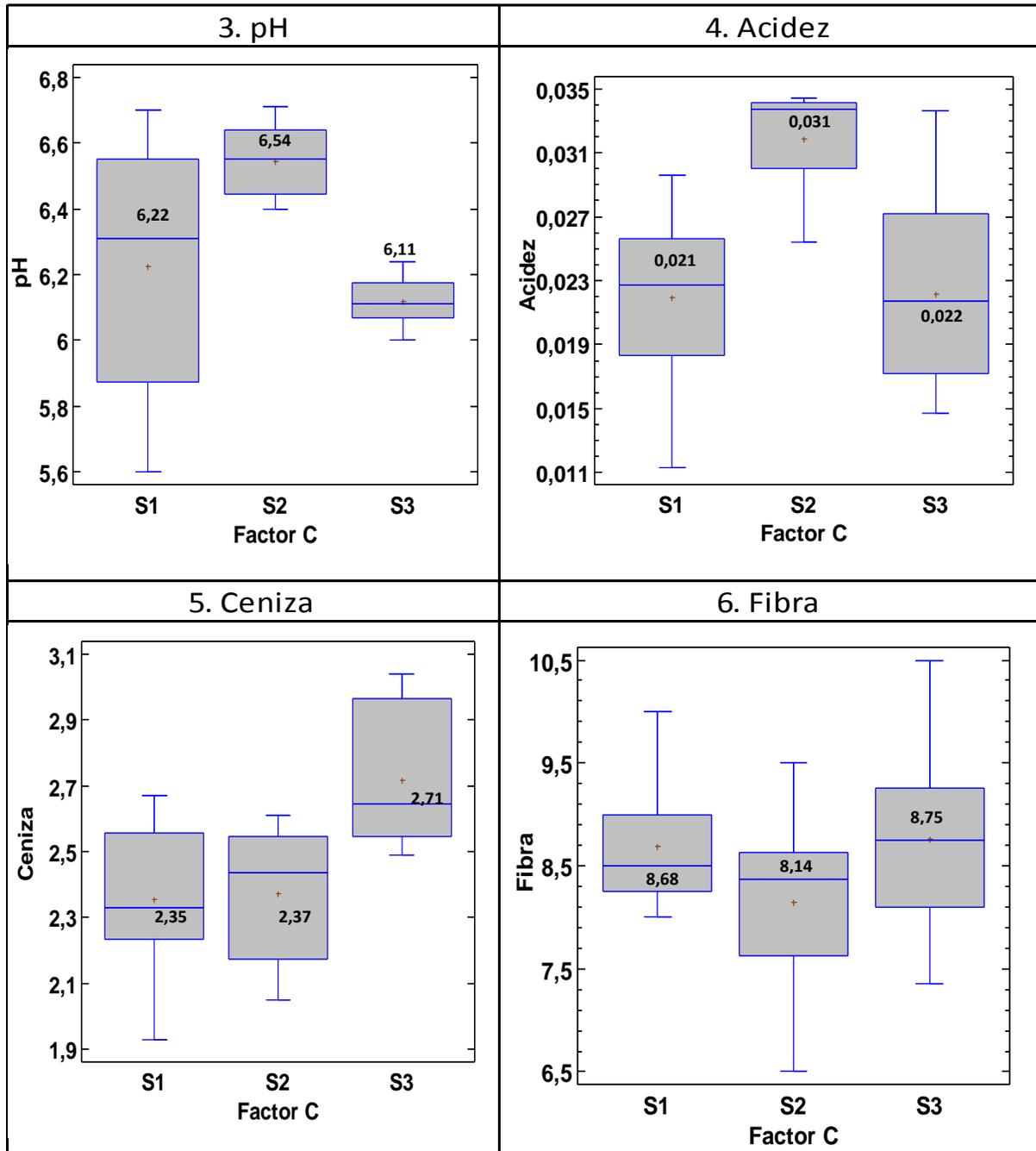
Factor C (Sistema de almacenamiento)	Humedad	Materia seca	pH	Acidez	Ceniza	Fibra	Grasa	Proteína	Aflatoxinas totales
S1	6,78 a	93,21 c	6,22 b	0,021 b	2,35 b	8,68 a	32,43 ab	28,31 a	6,97 a
S2	5,75 b	94,24 b	6,54 a	0,031 a	2,37 b	8,14 b	30,06 b	24,76 b	4,18 b
S3	4,50 c	95,49 a	6,11 c	0,022 b	2,71 a	8,75 a	33,50 a	25,24 b	1,11 c

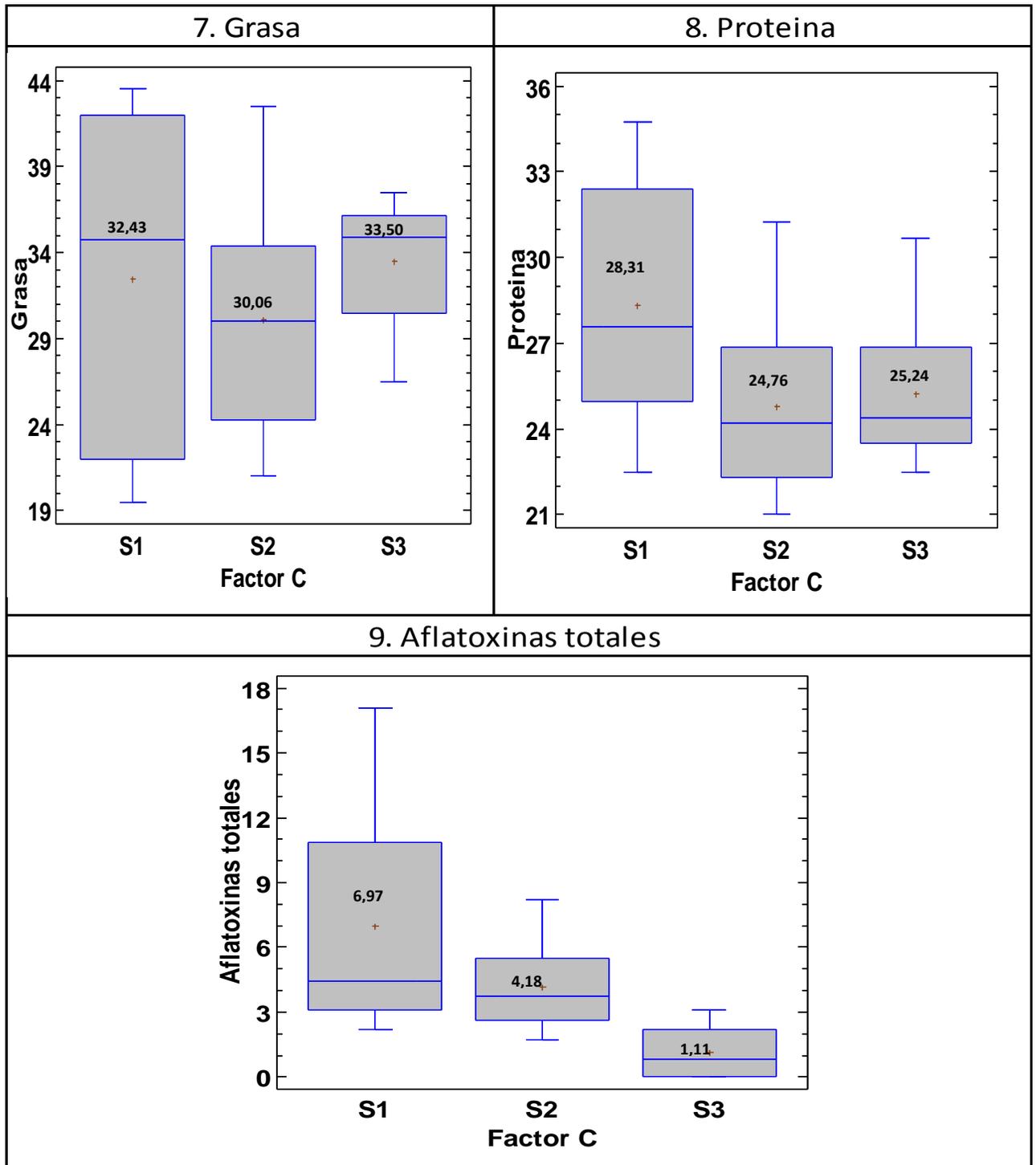
S1 = Envainado

S2 = Granel

S3 = Vacío







Con respecto a la tabla N°30, las muestras en vaina (8,96%) presentaron mayor humedad que las muestras al granel (5,75%) y al vacío (4,50%); para materia seca, se observó que las muestras al vacío (95,49%) presentaron un mayor valor en comparación a las muestras en vaina (93,21%) y al granel (94,24%); pH y acidez las muestras al granel presentaron valores más altos (6,54 y 0,031), en comparación a las muestras al vacío (6,11 – 0,022%) y en vaina (6,22 – 0,021%). En cuanto a ceniza, fibra y grasa se observó los valores más altos en las muestras al vacío (2,71% - 8,75% y 33,50%) y el valor más bajo en las muestras al granel (2,35% - 8,68% y 32,43%); para proteína las muestras en vaina presentaron el promedio más alto (28,31%), seguido de las muestras almacenadas al vacío (25,24%) y al granel (24,76%). Finalmente, las muestras almacenadas en vainas presentaron el valor más alto (6,97 ppb) y el valor más bajo las muestras al vacío (1,1 ppb).

#### 4.2.4. Prueba de significancia de Tukey de la interacción A\*B\*C

Tabla 31. Prueba de significancia de la interacción A\*B\*C

Variedad	Estado	Sistema	Humedad	Materia seca	pH	Ácidoz	Ceniza	Fibra	Grasa	Proteína	Aflatoxinas totales
Rosita	Fresco	Envainado	11,15 a	88,85 g	6,11 fg	0,02 ef	2,11 f	9,50 ab	40,50 ab	32,49 a	16,57 a
Rosita	Fresco	Granel	9,29 bc	90,71 ef	6,68 a	0,03 a	2,51 bcde	8,58 abcd	34,25 bc	27,44 bcd	7,30 b
Rosita	Fresco	Vacío	7,48 d	92,52 d	6,12 f	0,02f	2,60 bc	9,75 a	36,25 ab	29,48 abc	2,17 g
Rosita	Seco	Envainado	3,13 f	96,87 b	5,62 h	0,02 f	2,30 ef	8,25 bcd	24,75 d	26,46 bcde	5,30 c
Rosita	Seco	Granel	2,57 fg	97,43 ab	6,42 d	0,03a	2,58 bc	7,50 d	22,25 d	22,57 de	4,20 cd
Rosita	Seco	Vacío	1,95 g	98,05 a	6,22 e	0,03 abc	3,01 a	7,78 cd	27,75 cd	24,61 cde	2,30 fg
Caramelo	Fresco	Envainado	10,15 b	89,85 f	6,52 bc	0,03 bcd	2,38 cde	8,75 abcd	43,00 a	31,13 ab	2,47 efg
Caramelo	Fresco	Granel	9,14 c	90,86 e	6,60 ab	0,03 cd	2,08 f	8,75 abcd	37,25 ab	27,44 bcd	1,87 g
Caramelo	Fresco	Vacío	6,55 e	93,45 c	6,11 fg	0,02 f	2,57 bcd	9,00 abc	35,25 b	23,15 de	0,0 h
Caramelo	Seco	Envainado	2,72 fg	97,28 ab	6,64 a	0,02 de	2,63 bc	8,25 bcd	21,50 d	23,15 de	3,57 de
Caramelo	Seco	Granel	2,00 g	98,00 a	6,48 cd	0,03 ab	2,31 def	7,75 cd	26,50 d	21,79 e	3,37 def
Caramelo	Seco	Vacío	2,04 g	97,96 a	6,02 g	0,02 de	2,69 b	8,50 abcd	34,75 bc	23,74 de	0,0 h

### 4.3. Resultados de medias marginales para interacciones

A continuación, se muestran las figuras de las medias marginales para las que existe diferencia significativa en las interacciones de los factores en estudio:

#### 4.3.1. Medias marginales estimada de la variable humedad

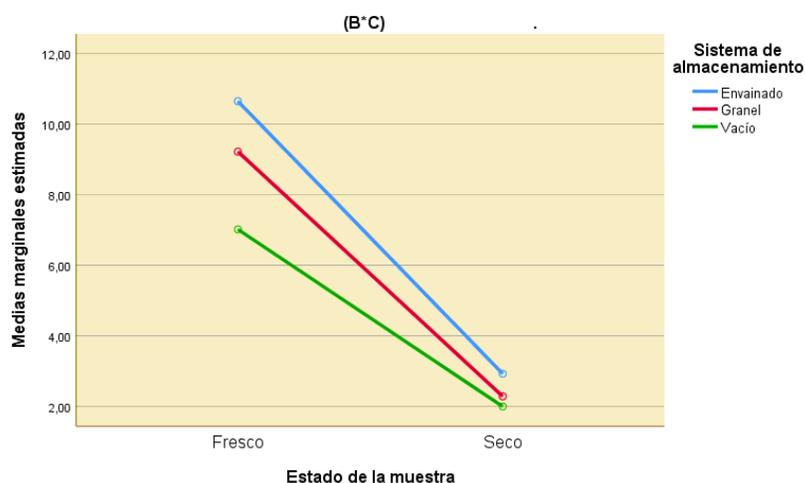


Figura 3. Resultado de medias marginales en la interacción B\*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable humedad.

Como se observa en la figura N° 3, la interacción B\*C, existe diferencia significativa respecto al sistema de almacenamiento y el estado de la muestra, donde se representa que los granos de maní que se encontraban almacenados en vaina presentaron el mayor porcentaje de humedad tanto en las muestras frescas como secas con valores de 10,64% y 2,92% respectivamente, mientras que las muestras almacenadas al vacío presentaron menores porcentajes de humedad de 7,01% para las muestras en estado fresco y de 1,99% para las muestras en estado seco.

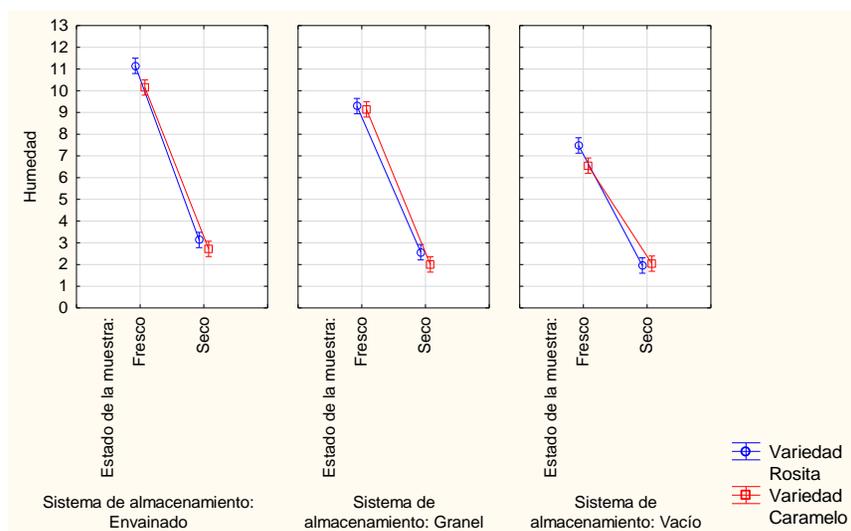


Figura 4. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable humedad.

Las muestras de maní almacenadas en vaina en estado fresco presentaron los valores más alto de humedad con una media de 11,14% y 10,15% pertenecientes a las variedades Caramelo Iniap-382 y Rosita Iniap-381 respectivamente, mientras que los valores más bajos se reflejan en las muestras en estado seco almacenadas al vacío con valores promedios de 2,04% y 1,95% para las variedades Caramelo Iniap-382 y Rosita Iniap-381.

### 4.3.2. Medias marginales estimada de la variable materia seca

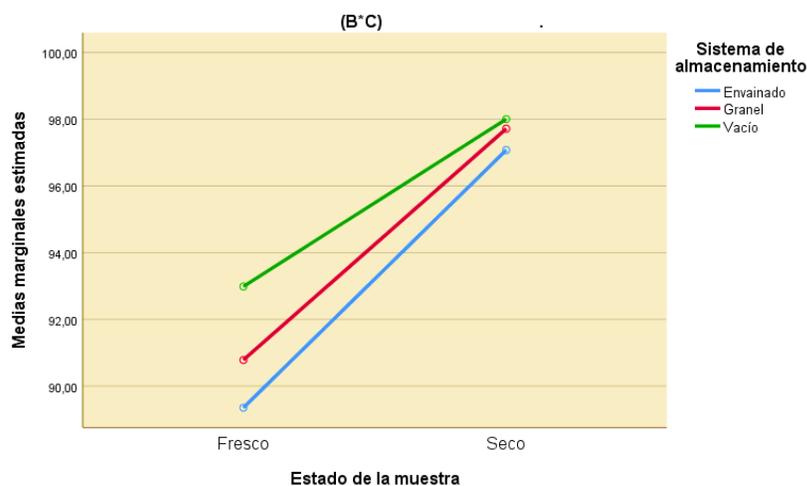


Figura 5. Resultado de medias marginales en la interacción B\*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable materia seca.

En la interacción B\*C, existe diferencia significativa respecto al sistema de almacenamiento y el estado de la muestra, donde se representa que los granos de maní que se encontraban almacenados en vaina presentaron el menor porcentaje de materia seca tanto en las muestras frescas como secas con valores de 89,35% y 97,07% respectivamente, mientras que las muestras almacenadas al vacío presentaron mayores porcentajes de materia seca, siendo 92,98% para las muestras en estado fresco y de 98,00% para las muestras en estado seco.

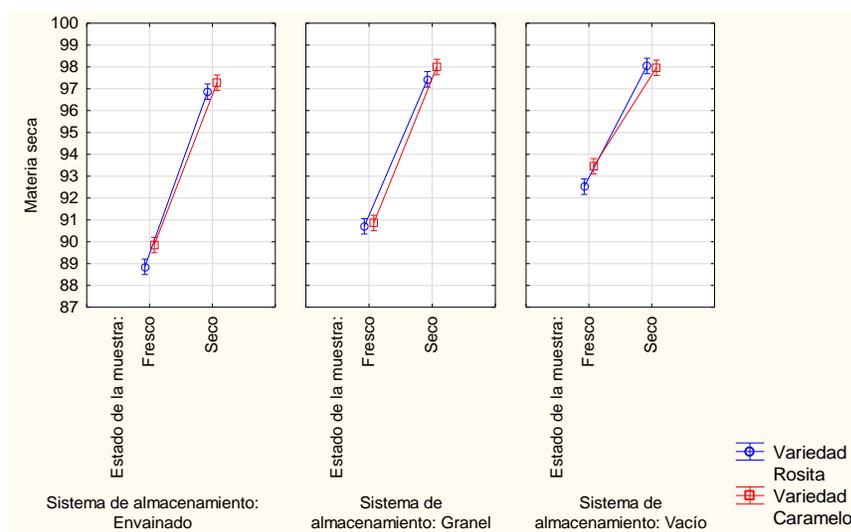


Figura 6. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable materia seca.

De acuerdo a los datos que se refleja en la figura N° 6, las muestras de maní almacenadas en vaina en estado fresco presentaron los valores más bajos de materia seca con una media de 89,85% y 88,53% pertenecientes a las variedades Caramelo Iniap-382 y Rosita Iniap-381 respectivamente, mientras que el valor más alto se refleja en las muestras de maní en estado seco almacenadas al vacío con un valor promedio de 98,04% para la variedad Rosita Iniap-381.

### 4.3.3. Medias marginales estimada de la variable pH

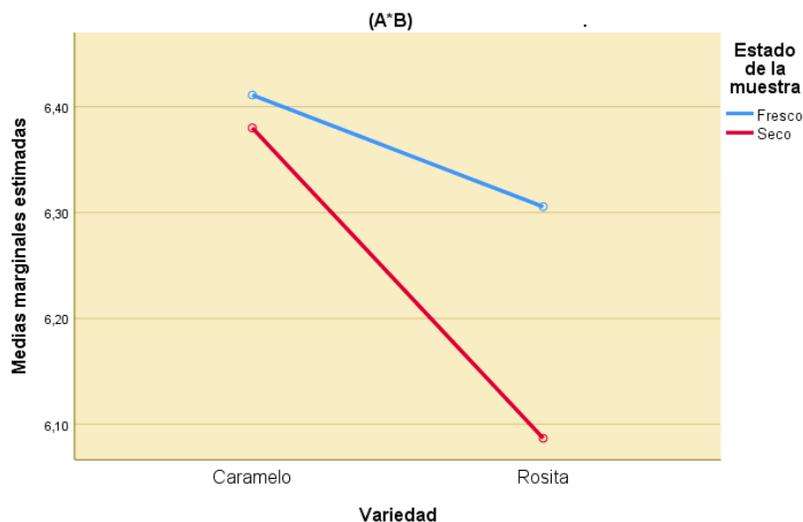


Figura 7. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B (Variedad vs. Estado de la muestra) para la variable pH.

Considerando los resultados de las medias marginales, existe diferencia entre variedad vs. estado de la muestra, donde, se muestra que los granos de maní de la variedad Caramelo-Iniap 382 presentaron los valores más altos de pH con 6,41 y 6,38 en las muestras frescas y secas respectivamente. En cuanto a la variedad Rosita-Iniap 381 se registraron valores de 6,30 y 6,08 para las muestras frescas y secas respectivamente.

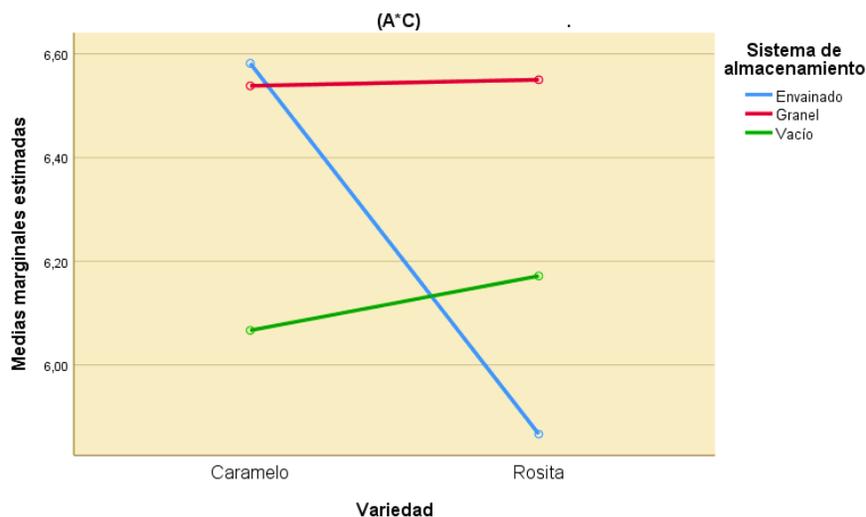


Figura 8. Resultado de medias marginales en la interacción A\*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable pH.

En la interacción A\*C, existe diferencias respecto a la variedad vs. sistema de almacenamiento, donde los granos de maní pertenecientes a la variedad Caramelo-Iniap 382 almacenados en vaina presentaron los valores más altos de pH con una media de 6,58 seguido de los granos de maní de la variedad Rosita-Iniap 382 almacenados al granel con una media de 6,55. El valor pH se registró en las muestras almacenadas en vaina de la variedad Rosita-Iniap 382 con una media de 5,86.

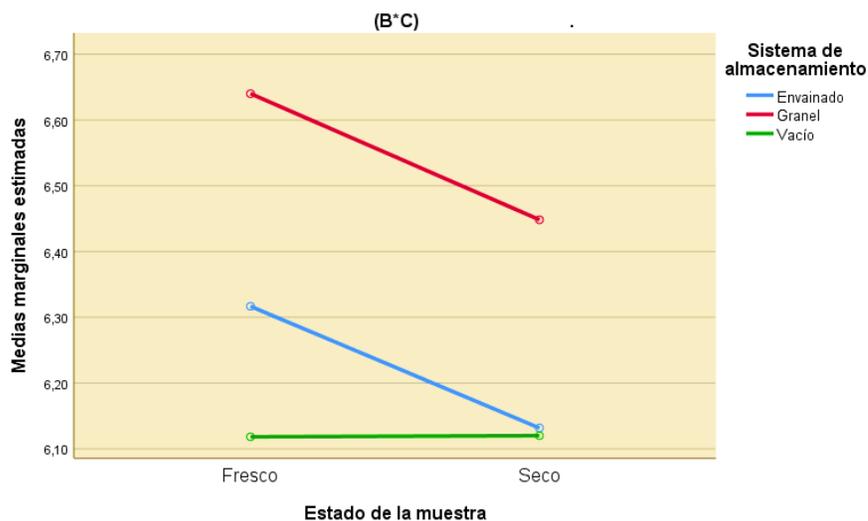


Figura 9. Resultado de medias marginales en la interacción B\*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable pH.

De acuerdo al resultado para la interacción B\*C, existe diferencia significativa respecto al sistema de almacenamiento y el estado de la muestra, donde se representa que los granos de maní que se encontraban almacenados al granel presentaron los valores más altos de pH con 6,64 y 6,44 para las muestras frescas y secas respectivamente, mientras que las muestras almacenadas al vacío presentaron los valores más bajos de pH con 6,11 para las muestras en estado fresco y de 6,12 para las muestras en estado seco.

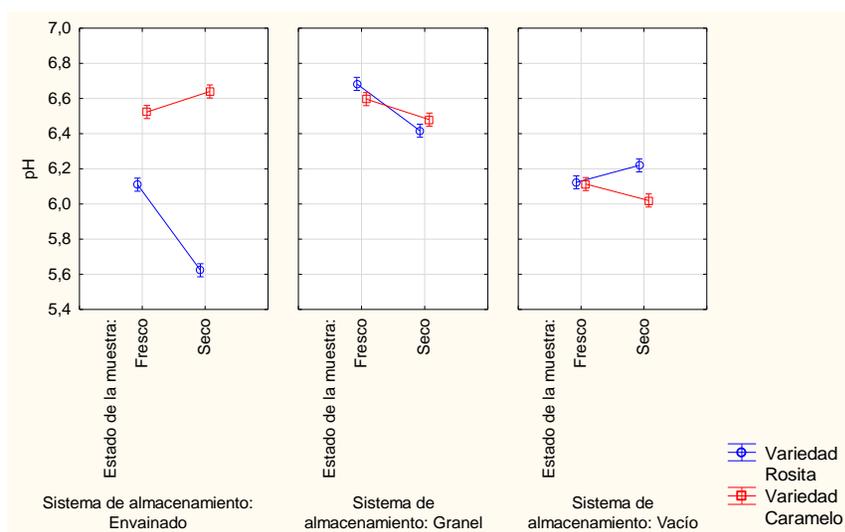


Figura 10. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable pH.

Los datos que se refleja en la figura N° 10, las muestras de maní almacenadas al granel en estado fresco presentaron los valores más alto de pH con una media de 6,68 correspondiente a la variedad Rosita Iniap-381, mientras que el valor más bajo se refleja en las muestras en estado seco almacenadas al vacío perteneciente a la variedad Caramelo Iniap-382 con una media de 6,02.

#### 4.3.4. Medias marginales estimada de la variable acidez

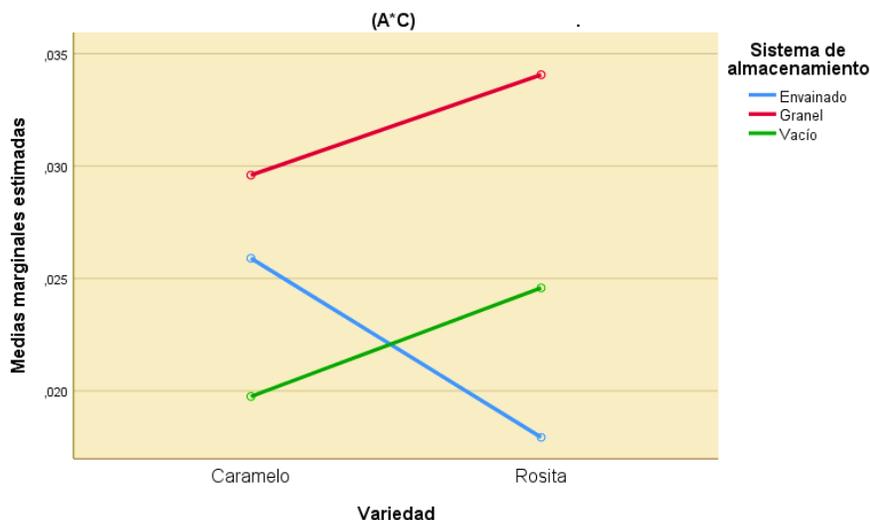


Figura 11. Resultado de medias marginales en la interacción A\*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable acidez.

La figura 11, refleja la interacción A\*C, existe diferencias respecto a la variedad vs. sistema de almacenamiento, donde las muestras almacenadas al granel presentaron los valores más altos de acidez con 0,034% y 0,030% para las variedades Rosita Iniap-381 y Caramelo Iniap-382 respectivamente, mientras que el valor más bajo de acidez se registró en los granos de maní de la variedad Rosita-Iniap 381 que se encontraban almacenados en vaina con una media de 0,018%.

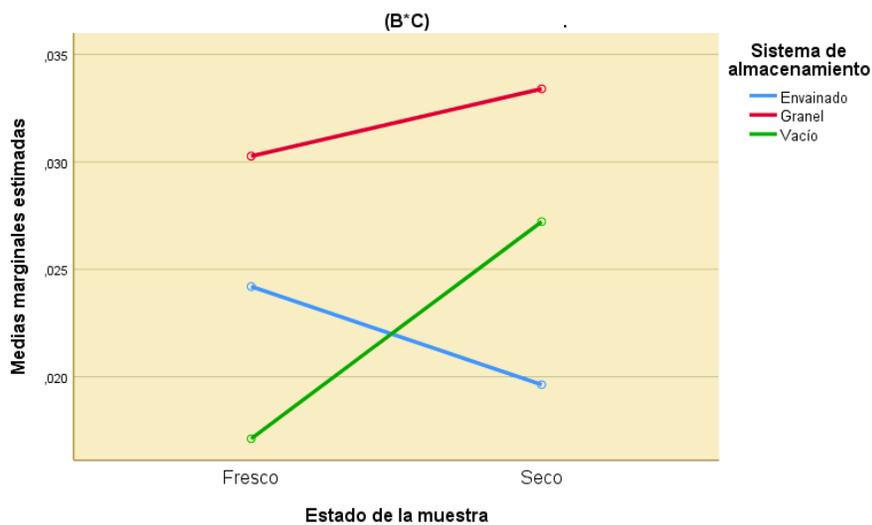


Figura 12. Resultado de medias marginales en la interacción B\*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable acidez.

De acuerdo a los resultados obtenidos existe diferencia significativa para la interacción B\*C con respecto al sistema de almacenamiento y el estado de la muestra, donde se expone que los granos de maní almacenados al granel presentan los valores más altos de acidez con 0,030% y 0,033% para las muestras frescas y secas respectivamente, mientras que los menores porcentajes de acidez se encontraron en las muestras frescas almacenados al vacío con un valor de 0,017% y en el caso de las muestras secas en aquellas que se almacenaron en vaina, con un valor de 0,020%.

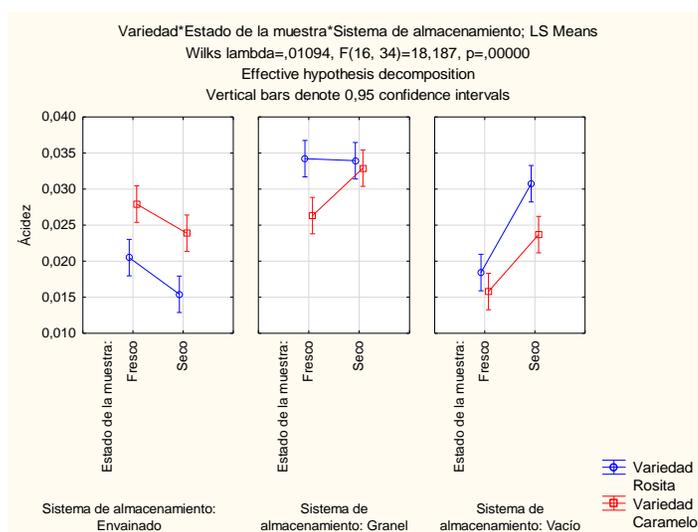


Figura 13. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable acidez.

En la figura N° 13, las muestras de maní almacenadas al granel en estado fresco presentaron los valores más alto de acidez con una media de 0,034% correspondiente a la variedad Rosita Iniap-381, mientras que el valor más bajo se refleja en las muestras en estado seco almacenadas en vaina perteneciente a la variedad Rosita con una media de 0,015%.

#### 4.3.5. Medias marginales estimada de la variable ceniza

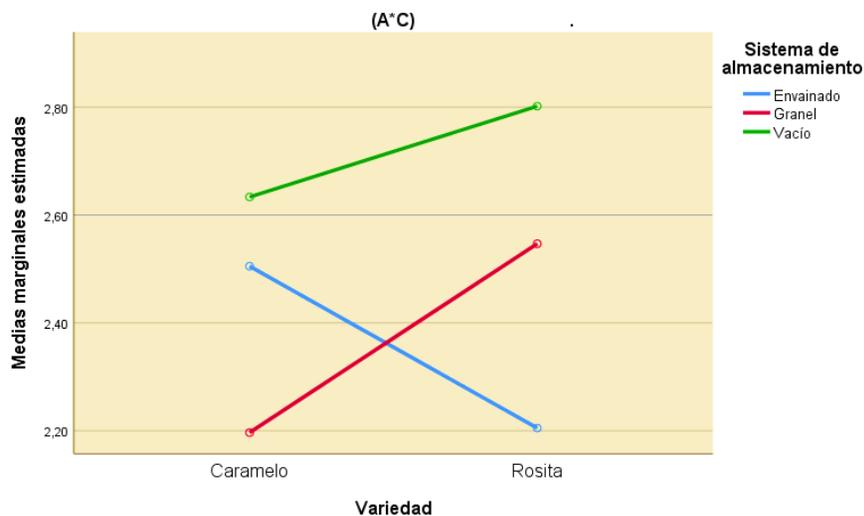


Figura 14. Resultado de medias marginales en la interacción A\*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable ceniza.

En la interacción A\*C, existe diferencias respecto a la variedad vs. sistema de almacenamiento, donde las muestras almacenadas al vacío presentaron los valores más altos de acidez con 2,80% y 2,63% para las variedades Rosita Iniap-381 y Caramelo Iniap-382 respectivamente, mientras que el valor más bajo de ceniza se registró en los granos de maní de la variedad Caramelo Iniap-382 que se encontraban almacenados al granel con una media de 2,19%.

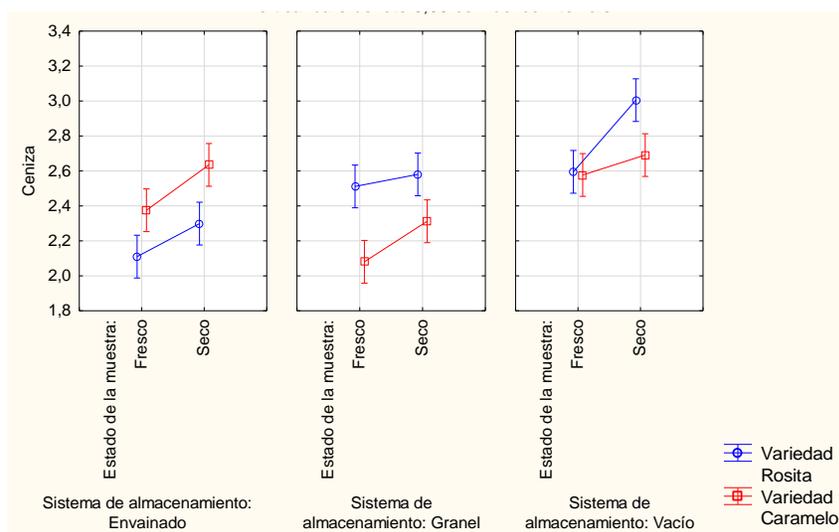


Figura 15. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable ceniza.

En la figura N° 15, las muestras de maní almacenadas al vacío en estado seco presentaron los valores más altos de acidez con una media de 3,00% y 2,69% correspondiente a las variedades Rosita Iniap-381 y Caramelo-Iniap 382, mientras que los valores más bajos se reflejan en las muestras en estado fresco con valores promedio de 2,11% y 2,08% pertenecientes a las variedades Rosita Iniap-381 y Caramelo-Iniap 382 respectivamente.

#### 4.3.6. Medias marginales estimada de la variable fibra

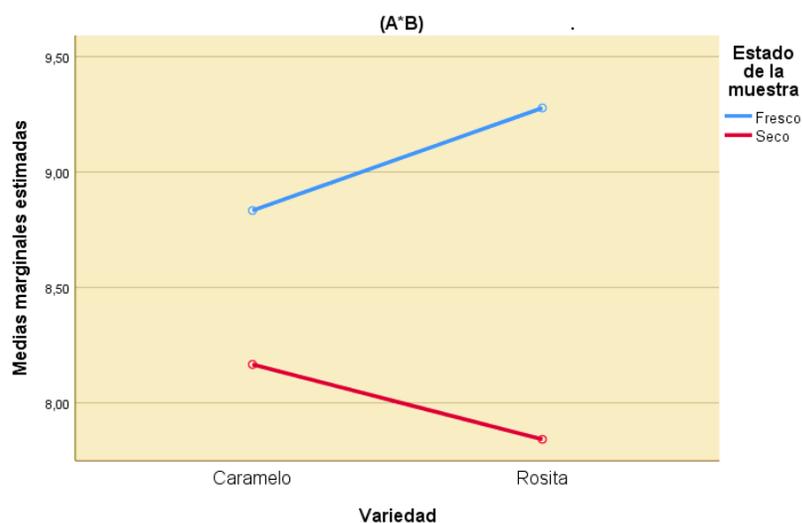


Figura 16. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B (Variedad vs. Estado de la muestra) para la variable fibra.

Los resultados de las medias marginales, observados en la figura N° 16 existe diferencia significativa entre variedad vs. estado de la muestra, dónde, se muestra que los granos de maní en estado fresco presentaron los valores más altos de fibra con 9,27 y 8,83 para las variedades Rosita-Iniap 381 y Caramelo-Iniap 382 respectivamente, mientras que en las muestras en estado seco registraron valores un poco más bajo de fibra con 8,16 y 7,84 para las variedades Caramelo-Iniap 382 y Rosita-Iniap 381 respectivamente.

#### 4.3.7. Medias marginales estimada de la variable grasa

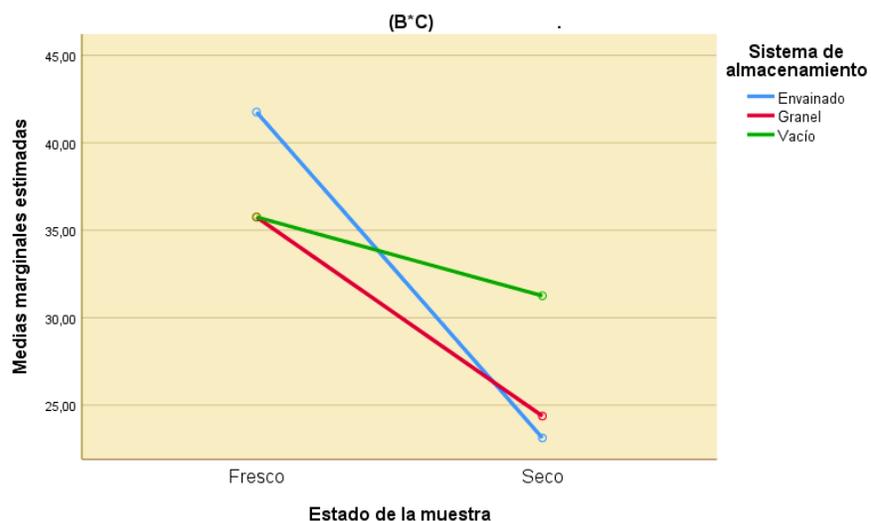


Figura 17. Resultado de medias marginales en la interacción B\*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable grasa.

En la interacción B\*C, existe diferencia significativa respecto al sistema de almacenamiento y el estado de la muestra, donde se detalla que los granos de maní en fresco presentan un mayor porcentaje de grasa, siendo aquellos que se encontraban almacenados en vaina los que obtuvieron el valor más alto con un 41,75%, seguido de los almacenados al granel y al vacío ambos con 35,75%. En el caso de las muestras secas, presentaron valores de 31,25%; 24,37% y 23,12% para los granos almacenados al vacío, al granel y en vaina respectivamente.

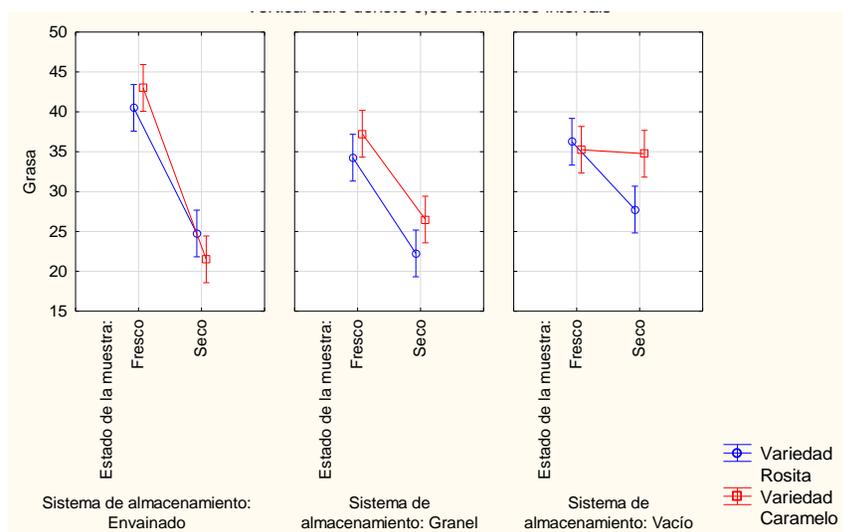


Figura 18. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable grasa.

De acuerdo a los datos que se refleja en la figura N° 18, las muestras de maní almacenadas en vaina, en estado fresco presentaron los valores más altos de grasa con una media de 43,00% y 40,50% correspondiente a las variedades Caramelo-Iniap 382 y Rosita Iniap-381, mientras que los valores más bajos se reflejan en las muestras en estado seco, correspondientes al almacenamiento al granel y en vaina con valores promedio de 22,25% y 21,50% respectivamente pertenecientes a las variedades Rosita Iniap-381 y Caramelo-Iniap 382.

#### 4.3.8. Medias marginales estimada de la variable proteína

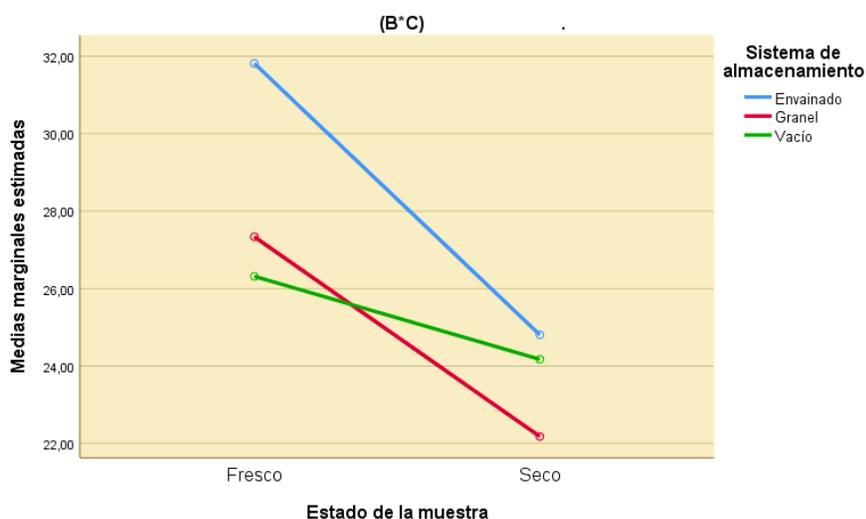


Figura 19. Resultado de medias marginales en la interacción B\*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable proteína.

Con respecto a los resultados obtenidos para la interacción B\*C, existe diferencia significativa respecto al sistema de almacenamiento y el estado de la muestra, donde se muestra que los granos de maní en fresco presentan un mayor porcentaje de proteína en comparación a los granos secos, siendo aquellos que se encontraban almacenados en vaina los que obtuvieron el valor más alto con un 31,81%, seguido de los almacenados al granel con un 27,33% y al vacío ambos con 26,31%. En el caso de las muestras secas, presentaron valores de 24,80%; 24,17% y 22,18% para los granos almacenados en vaina, al vacío y al granel respectivamente.

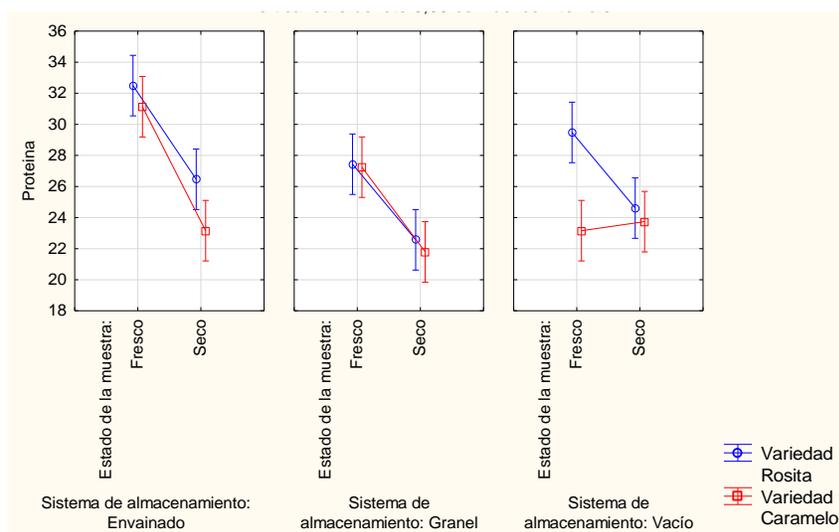


Figura 20. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad vs. Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable proteína.

De acuerdo a los datos que se refleja en la figura N° 20, las muestras de maní pertenecientes a la variedad Rosita Iniap-381 de estado fresco almacenados en vaina presentaron el valor más alto de proteína con una media de 32,49%, seguido de las muestras correspondientes a la variedad Caramelo Iniap-382 de estado fresco almacenados en vaina con una media de 31,13%. El valor más bajo se registró en las muestras de la variedad Caramelo-Iniap 382 en estado seco almacenados al granel con un valor promedio de 21,79%.

#### 4.3.9. Medias marginales estimada de la variable aflatoxinas totales

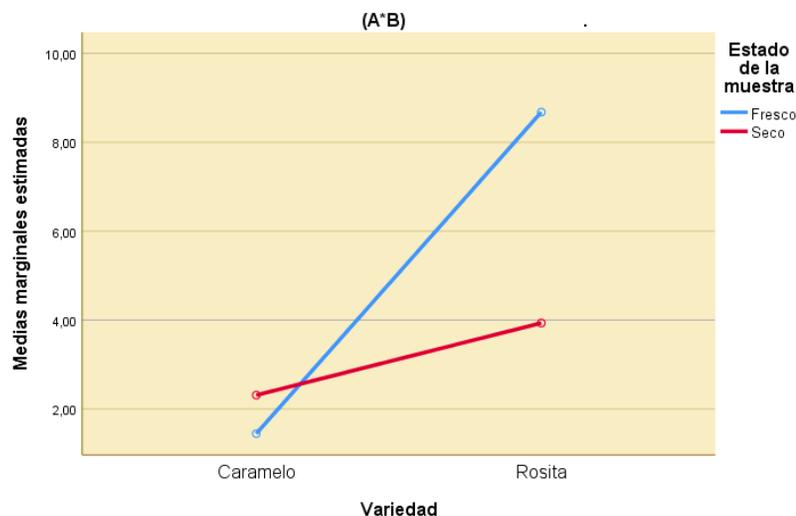


Figura 21. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B (Variedad vs. Estado de la muestra) para la variable aflatoxinas totales.

En resultados de las medias marginales, existe diferencia significativa entre variedad vs. estado de la muestra, donde, se muestra que los granos de maní en estado fresco de la variedad Rosita-Iniap 381 presentaron mayores niveles de aflatoxinas totales con 8,67 ppb, mientras que el valor más bajo se registró en las muestras frescas de las variedad Caramelo-Iniap 382 con 1,44 ppb. En el caso de las muestras secas los resultados obtenidos fueron de 3,93 ppb y 2,31 ppb para las variedades Rosita-Iniap 381 y Caramelo-Iniap 382 respectivamente.

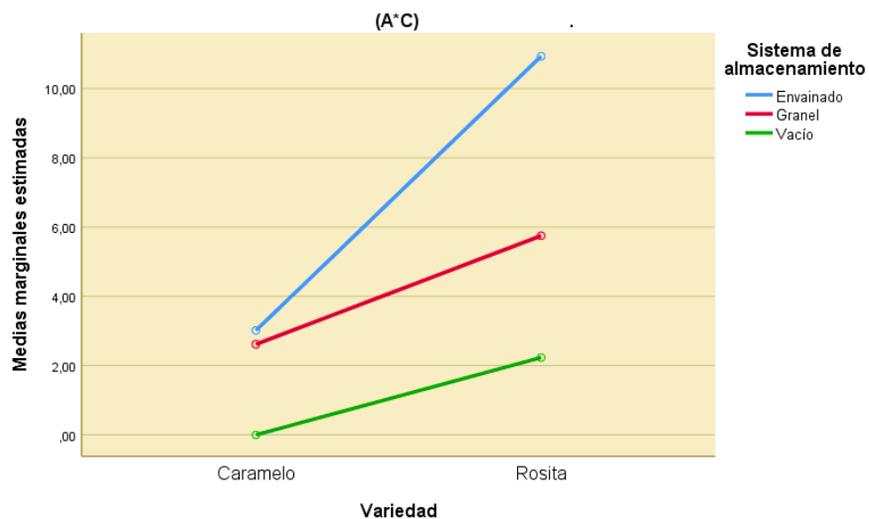


Figura 22. Resultado de medias marginales en la interacción A\*C (Variedad vs. Sistema de almacenamiento) para la variable aflatoxinas totales.

En la interacción A\*C, existe diferencias respecto a la variedad vs. sistema de almacenamiento, donde las muestras almacenadas al vacío presentaron los valores más bajos de aflatoxinas totales con 2,23 ppb y 0,00 ppb para las variedades Rosita Iniap-381 y Caramelo Iniap-382 respectivamente, mientras que el valor más alto se registró en los granos de maní de la variedad Rosita Iniap-381 que se encontraban en vaina con una media de 10,93 ppb.

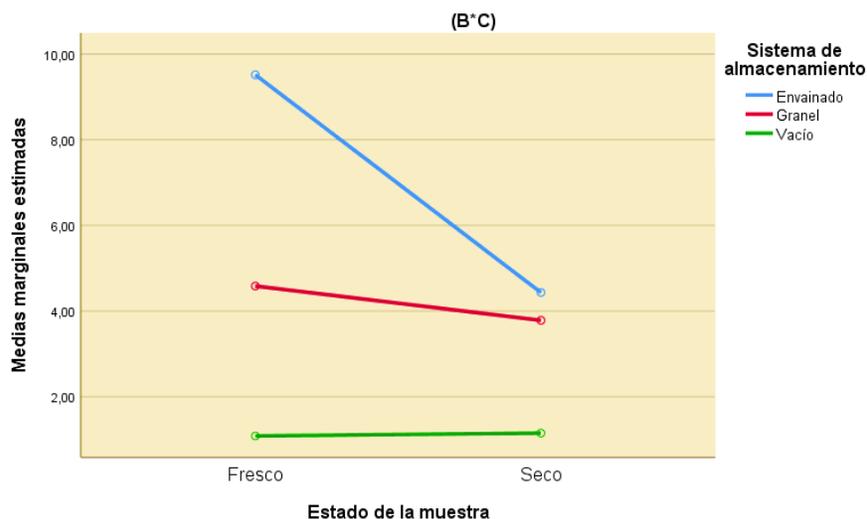


Figura 23. Resultado de medias marginales en la interacción B\*C (Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable aflatoxinas totales.

En cuanto a los resultados obtenidos para la interacción B\*C, existe diferencia significativa respecto al sistema de almacenamiento y el estado de la muestra, donde se muestra que los granos de maní en fresco presentan un mayor porcentaje de Aflatoxinas totales en comparación a los granos secos, siendo aquellos que se encontraban almacenados en vaina los que obtuvieron el valor más alto de aflatoxinas con una media de 9,51 ppb, seguido de los almacenados al granel y al vacío con valores promedio de 4,58 ppb y 1,08 ppb respectivamente. En el caso de las muestras secas, se presentaron valores de 4,43 ppb 3,78 ppb y 1,15 ppb para los granos almacenados en vaina, al granel y al vacío respectivamente.

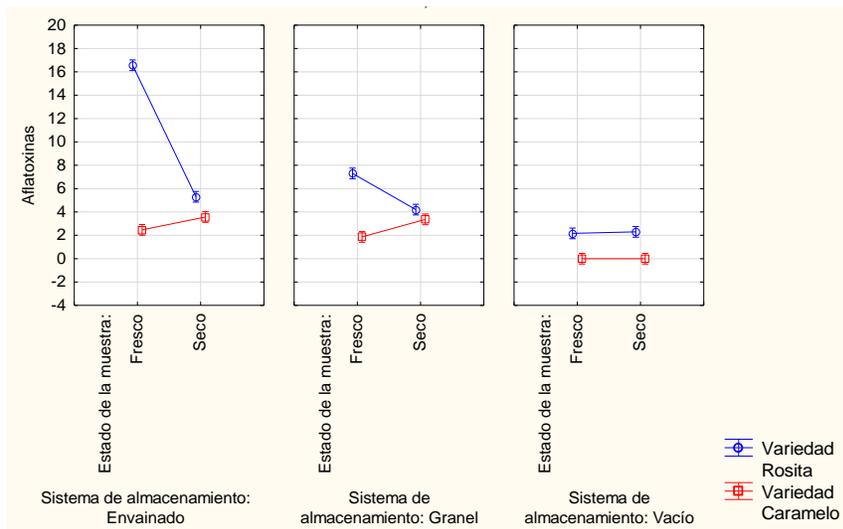


Figura 24. Resultado de medias marginales en la interacción A\*B\*C (Variedad Estado de la muestra vs. Sistema de almacenamiento) para la variable aflatoxinas totales.

En la figura N°24, se refleja que todas las muestras de maní almacenadas al vacío presentaron los niveles más bajos de aflatoxinas totales con una media de 1,77 y 2,22 ppb en las muestras secas y frescas correspondientes a la variedad Caramelo-Iniap 382 y con una media de 2,30 y 2,16 ppb en las muestras secas y frescas correspondientes a la variedad Rosita Iniap-381. El valor más alto se registró en los granos de maní pertenecientes a la variedad Rosita en estado fresco almacenados en vaina con una media de 16,56 ppb.

#### 4.4. Resultado de análisis de conglomerados

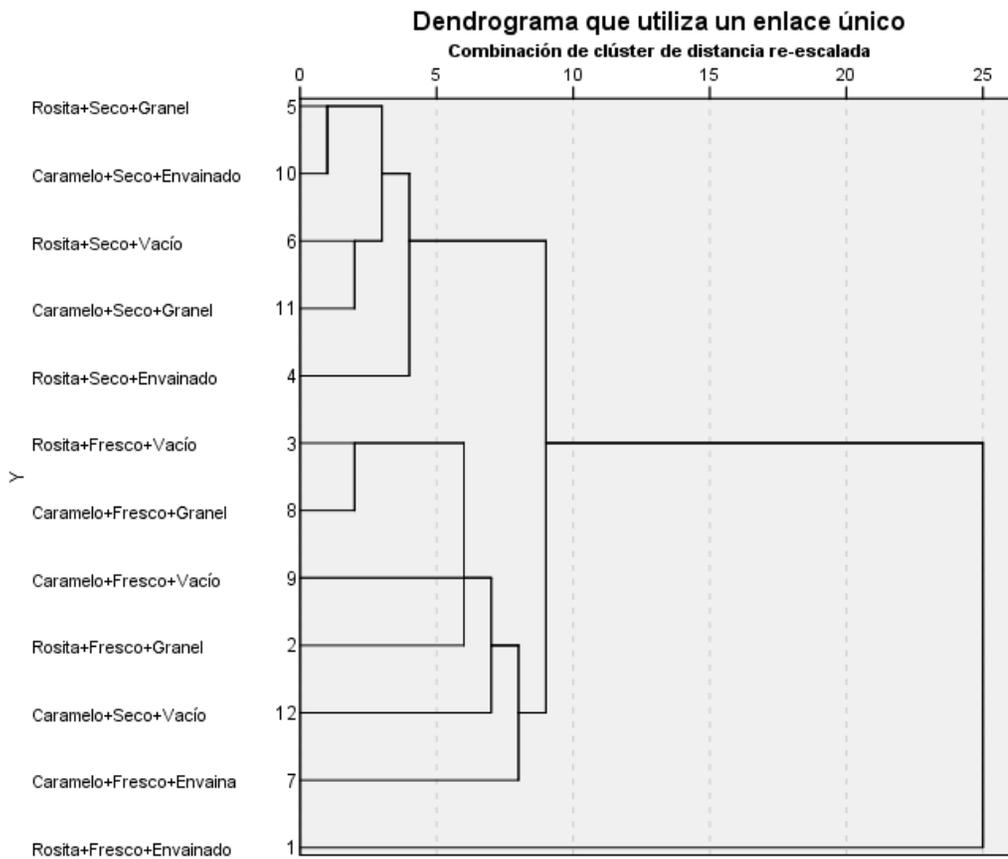


Figura 25. Dendrograma para los factores en estudio

De acuerdo al estudio de variables con respecto a las aproximaciones representado en la figura N° 25, se observa estrecha similitud entre Caramelo\*seco\*envainado vs. Rosita\*seco\*granel, a su vez este último con Rosita\*seco\*vacio; la relación se debe principalmente a los análisis químicos (pH, ceniza, acidez, fibra, grasa, proteína) y de aflatoxinas totales. Por otro lado, los tratamientos con menor relación que se identificaron fueron Rosita\*fresco\*vacio vs. Rosita\*fresco\*envainado a pesar de ser tratamientos correspondientes a la misma variedad y estado de la muestra, se observó variación debido a que la humedad se encontraba influenciando dichos tratamientos.

#### 4.5. Análisis de componentes principales

Tabla 32. Matriz de correlación de componentes principales

	Humedad	Materia seca	Ceniza	pH	Acidez	Fibra	Proteína	Grasa	Aflatoxinas	
Correlación	Humedad	1	-1	-0,457	0,167	-0,152	0,747	0,743	0,84	0,463
	Materia seca	-1	1	0,457	-0,167	0,152	-0,747	-0,743	-0,84	-0,463
	Ceniza	-0,457	0,457	1	-0,129	0,003	-0,148	-0,115	-0,148	-0,418
	pH	0,167	-0,167	-0,129	1	0,7	-0,236	-0,001	0,009	-0,073
	Acidez	-0,152	0,152	0,003	0,7	1	-0,614	-0,138	-0,173	0,061
	Fibra	0,747	-0,747	-0,148	-0,236	-0,614	1	0,603	0,741	0,237
	Proteína	0,743	-0,743	-0,115	-0,001	-0,138	0,603	1	0,629	0,388
	Grasa	0,84	-0,84	-0,148	0,009	-0,173	0,741	0,629	1	0,17
	Aflatoxinas	0,463	-0,463	-0,418	-0,073	0,061	0,237	0,388	0,17	1

Se observa que existe una correlación inversa entre humedad y materia seca de 1 y -1. Respecto a los demás resultados, la humedad se encuentra correlacionado con las variables fibra, proteína y grasa, siendo (0,747; 0,743 y 0,84 respectivamente); de la misma manera ocurre una ligera correlación para la variable ceniza con materia seca (0,457) y para la variable humedad con aflatoxinas (0,463).

Tabla 33. Matriz de componente

<b>Matriz de componente</b>			
	1	2	3
Humedad	0,971	0,182	
Materia seca	-0,971	-0,182	
Grasa	0,852		0,355
Fibra	0,845	-0,395	0,13
Proteína	0,798		0,17
Acidez	-0,304	0,878	0,14
pH		0,866	0,335
Ceniza	-0,414	-0,344	0,652
Aflatoxinas	0,493	0,235	-0,639

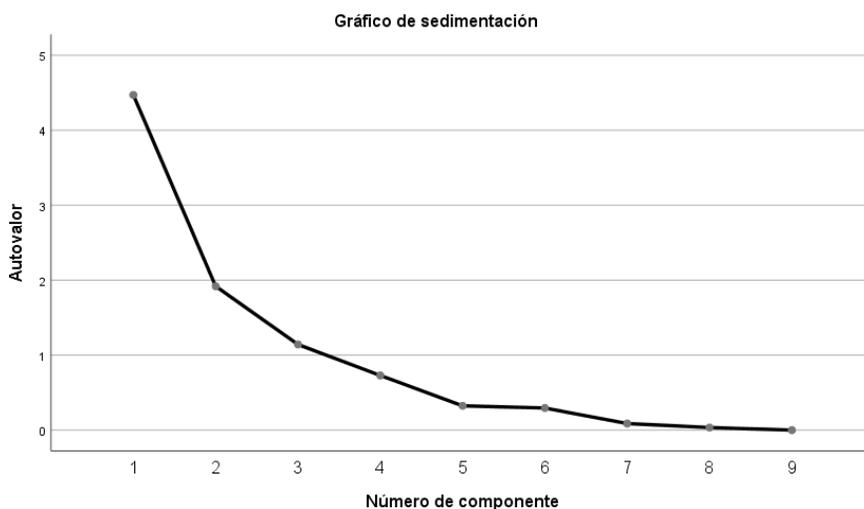


Figura 26. Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales

En la figura N°26 se evaluaron 9 variables, donde de acuerdo a la varianza total explicada, la humedad obtuvo mayor porcentaje de varianza, siendo este 49,63%; para el componente 2 (Materia seca) y 3 (Ceniza), los porcentajes fueron 21,29%, 12,75% respectivamente, mientras que en el resto de componentes evaluados obtuvieron porcentajes menor a 1.

Tabla 34.

Tabla de comunalidades

Comunalidades		
	Inicial	Extracción
Humedad	1	0,979
Materia seca	1	0,979
Ceniza	1	0,715
pH	1	0,863
Ácidez	1	0,883
Fibra	1	0,887
Proteína	1	0,667
Grasa	1	0,853
Aflatoxinas	1	0,707

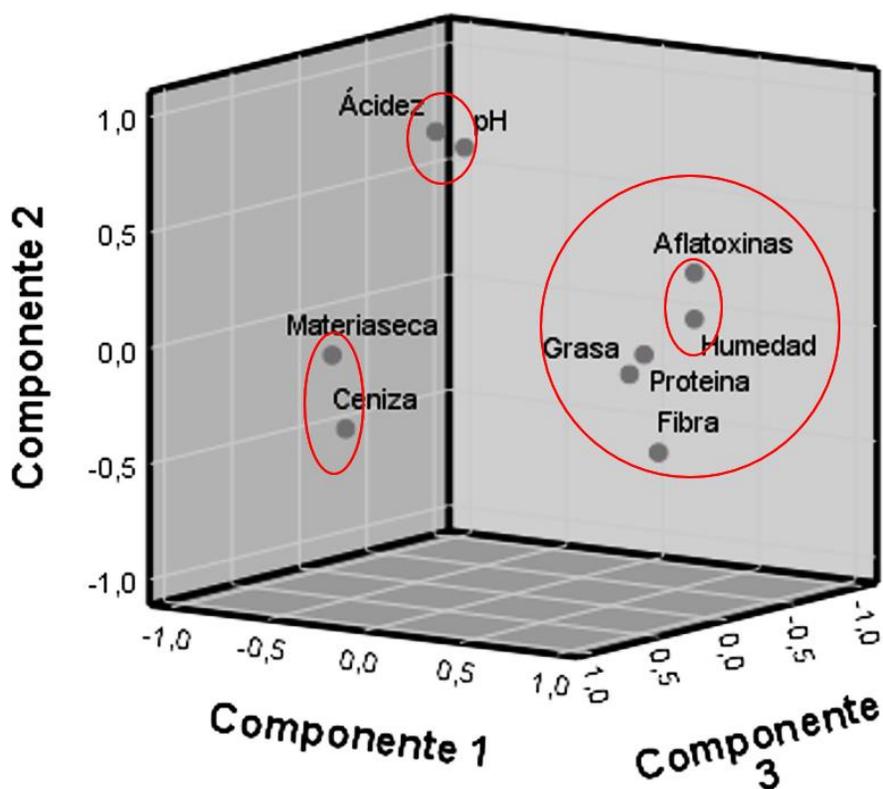


Figura 27. Gráfico de sedimentación del análisis de componentes principales

En la figura N°27 se muestran los resultados de componentes principales, donde el componente 2 obtuvo dos grupos positivos y negativos relacionados, siendo el primer grupo con mayor correlación: acidez y pH; el segundo grupo, materia seca y ceniza. Con respecto al componente 3 observamos que obtuvo grupos positivos y negativos relacionados, siendo el primer grupo con mayor correlación: aflatoxinas y humedad; el segundo grupo grasa, proteína, humedad y fibra; finalmente para el componente 1 no se encontró correlación.

(Astoviza & Socarrá, 2005) manifiestan que los principales elementos para la formación de aflatoxinas son aquellos factores físicos (humedad) y químicos (composición del sustrato, pH, nutrientes minerales y disponibilidad de oxígeno), además que los altos contenidos de carbohidratos y un bajo nivel de proteínas son primordiales para la propagación de aflatoxinas.

## CAPITULO V

### 5. DISCUSIÓN

#### 5.2. Con respecto a las variedades (Factor A)

Con respecto a las variedades estudiadas, se observó que la variedad Rosita-Iniap 381 posee mayor humedad (5,92%), frente a la variedad Caramelo Iniap-382 con un contenido del 5,43%. Considerando que la norma NTE INEN 2722:2013 establecen que independientemente de la variedad el nivel máximo permitido de humedad para los granos de maní es del 9%, podemos decir que las dos variedades están por debajo del nivel máximo permitido. Por otro lado, los criterios de Sosa (1981), señala que elevados contenidos de agua en los alimentos no permiten que estos se mantengan en un buen estado de almacenamiento ya que gracias a los altos porcentajes de humedad se crea el medio adecuado para el desarrollo de microorganismos que pueden llegar a producir metabolitos tóxicos como las aflatoxinas.

En cuanto al contenido de materia seca, estos valores son de 94,56% en la variedad Caramelo y 94,07% en la variedad Rosita, similares a lo expuesto por Zapata (2012). En cuanto a pH y acidez, Ruiz (2016) manifiesta que estos son factores implicados directamente en el crecimiento de los hongos pertenecientes al género *Aspergillus* que pueden crecer en un intervalo de pH amplio (2,1 a 11,2) con un crecimiento óptimo entre

3,5 y 8 en la presente investigación se obtuvo valores de 6,39 y 6,19 para las variedades Caramelo y Rosita respectivamente, lo que implica que las dos variedades se encuentran entre los rangos óptimos de pH para la proliferación de aflatoxinas.

En acidez no hubo diferencia significativa, obteniendo un valor de 0,025 % para ambas variedades. Martínez (2013) muestra en su estudio valores de acidez entre 0,03 y 0,06%, el mayor índice de acidez lo presenta en las variedades de Aguacero y Frontera Comalapa y el menor en las variedades mejoradas Ranferi Díaz y Flouruner.

Con respecto al contenido de cenizas se encontró diferencias en las dos variedades siendo 2,51% para la variedad Rosita esto indica mayor contenido de minerales y 2,44% para la variedad Caramelo, coincidiendo Polo (2012) donde se expone un valor de ceniza promedio de 2,69% para los granos de maní.

Para el contenido de fibra no se observó diferencia entre las dos variedades: Rosita Iniap-381 presentó 8,59% mientras que la variedad Caramelo Iniap-382 8,50%, a diferencia de lo reportado por la investigación de Polo (2012) quien reporta valores de 5,72% y quien menciona que puede existir variación en los análisis bromatológicos reportados debido a las diversas variedades analizadas, las condiciones ecológicas, edáficas, y a las diferentes prácticas que se utilizan durante el desarrollo del cultivo.

Respecto a grasa se observó diferencia entre las dos variedades, siendo la variedad Caramelo Iniap-382 que obtuvo 33,04% a diferencia de la variedad Rosita Iniap-381 con 30,95%. Robles (1985) reporta que en general los granos de maní poseen un contenido promedio de grasa del 46,3% y proteína del 29,6%.

En cuanto a proteína la variedad Rosita Iniap-381 presentó el valor más alto (27,17%) mientras que la variedad Caramelo Iniap-382 un 25,03% sin embargo, existe muy poca información sobre la composición química para cada variedad.

En lo referente al contenido de Aflatoxinas, Fierro (2012) manifiesta que independientemente de la variedad, son los altos niveles de humedad y temperaturas sobre los 25°C en zonas de producción del cultivo de maní en nuestro país los cuales presentan las condiciones ideales para que los hongos produzcan aflatoxinas.

En Ecuador se han realizado pocos estudios sobre este tipo de contaminación y no existe alguna regulación que ayude a controlar los niveles de contaminación por aflatoxinas. En nuestro estudio la variedad Rosita Iniap-381 presentó un promedio de 6,30 ppb y Carmelo Iniap-382 1,87 ppb. Considerando que la FDA (Food and Drug Administration) establece que los niveles máximos permisibles para aflatoxinas totales B1+B2+G1+G2 en maní es de 20 ppb.

### 5.3. Con respecto al estado de la muestra (Factor B)

Para Humedad y materia seca hubo diferencia, obteniendo como resultado 8,46% en las muestras frescas y un porcentaje de materia seca del 91,03%, mientras que en las muestras secas se obtuvo una humedad del 2,40% y un 97,59% de materia seca. Concordando con Núñez (2009) quien menciona que el contenido de humedad del maní como semilla fresca varía de 5 a 7% de humedad y 93 – 95 % de materia seca, pero si es tostado en el horno o en aceite se reduce el contenido de humedad a menos de 2% con un porcentaje de materia seca menor al 98%.

Respecto a ceniza las muestras secas presentaron un valor promedio de 2,58% y las muestras frescas 2,37%, Es importante mencionar que el porcentaje de cenizas es independiente del estado de la muestra ya que está asociado al contenido mineral que generalmente depende del manejo agronómico que se le haya proporcionado al cultivo, Polo (2012).

En cuanto a pH y acidez existió diferencia reflejándose valores de 6,35 y de 0,023 para las muestras frescas y de 6,23 y 0,026 para las muestras secas. Ruiz (2016) expone que estos valores son favorables para el desarrollo de las aflatoxinas.

Frente a fibra, grasa y proteína las muestras en estado fresco presentaron valores más altos de 9,05%, 37,75% y 28,48% respectivamente, mientras que aquellas muestras en estado seco presentaron promedios de 8,00%, 26,25% y 23,72%. Campo (1998) menciona que los granos frescos contienen entre un 5 a 7% de fibra, 25 a 32% de proteína y de 40 a 50% de grasa. Por otro lado, López (2008) menciona que cuando sometemos un alimento al calor o cocción este proceso ocasiona que los alimentos sufran transformaciones físicas y químicas que afectan al aspecto, la textura, la composición y el valor nutricional. Por tal motivo deducimos que las muestras secas disminuyeron su contenido nutricional al ser sometidas a un calor de 60°C durante 48 horas en la estufa.

En cuanto a aflatoxinas se obtuvo diferencia significativa de 5,06 ppb para las muestras frescas y de 3,12 ppb para las muestras secas estos valores se encuentran dentro de los niveles máximos permisibles para aflatoxinas totales, es decir, 20 ppb. Sin embargo, concordamos con lo mencionado por Gingins (2010) quien manifiesta que la propagación de aflatoxinas depende estrictamente de las condiciones del medio ambiente y del manejo que se le proporcione al cultivo, independientemente de si son granos frescos o granos secos ya que este tipo de hongos del género *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* pueden desarrollarse a lo largo de toda la cadena agroalimentaria antes o después de la cosecha y se consideran termo resistentes soportando más de 200 °C de temperatura, por eso es común encontrarlas incluso cuando el hongo ya ha desaparecido.

#### 5.4. Con respecto al sistema de almacenamiento (Factor C)

Los tipos de almacenamiento empleados fueron: En vaina (S1), al granel (S2), y al vacío (S3). En cuanto al contenido de humedad se encontró diferencia significativa obteniendo valores de 6,78% (S1), 5,75% (S2) y de 4,50% (S3), de igual manera para la variable materia seca se encontró diferencia significativa con 93,21%, 94,24% y 95,49% respectivamente.

La norma NTE INEN 2722:2013 establecen que el nivel máximo permitido para el maní en vaina es de 10% para los granos de maní en vaina y de 9% para los granos de maní comercializados al granel, estos son valores máximos admitidos, por encima de los cuales comienza el desarrollo de hongos (*Aspergillus*) y se acelera el deterioro del grano; por otro lado, no hay información sobre el porcentaje de humedad requerido en el envasado de los granos de maní.

Para pH se presentó diferencia significativa en donde el maní conservado en vaina presentó el valor más alto con 6,54 y el valor más bajo de pH se registró en el maní envasado al vacío con un 6,11. Reardon (2011) expresa que mientras más ácidos son los alimentos los microorganismos tienen condiciones más difíciles para sobrevivir y crecer, sin embargo, este no es el caso de las aflatoxinas ya que tienen mucha estabilidad en un rango de pH entre 3 y 10.

Para la variable acidez no hubo diferencia significativa entre el maní conservado en vaina y al vacío obteniendo valores de 0,021% y 0,022% respectivamente, mientras que para el maní almacenado al granel se registró un valor de acidez titulable de 0,031%. Grosso (2010), manifiesta en su estudio que los granos de maní almacenados en cajas tienden a aumentar los valores de acidez paulatinamente, detalla que la variedad Runner varió de 0,1% a 0,5%, durante 12 meses de almacenamiento.

Referente a ceniza no hubo diferencia significativa para el maní en vaina y el maní almacenado al granel, obteniendo valores de 2,35% y 2,37% respectivamente mientras que en el maní envasado al vacío se registró un valor de 2,71%. El contenido de cenizas representa el contenido total de minerales en los alimentos y Robles (1985) considera que el maní es una fuente muy pobre de minerales ya que no supera el 3% en cuanto a su contenido de cenizas.

Frente a fibra y grasa se presentó diferencias significativas y se pudo determinar que el maní envasado al vacío registró una mejor composición química con un 8,75% de fibra y un 33,50% de Grasa, seguido del maní conservado en vaina que presentó valores de 8,68% y 32,43% y el maní almacenado al granel con un 8,14% y 30,06% respectivamente.

En cuanto a proteína no presentó diferencia significativa en el maní almacenado al granel (24,76%) y al vacío (25,24%), mientras que si hubo diferencia significativa en el maní en vaina (28,31%).

Para aflatoxinas hubo diferencia significativa en los tres tipos de almacenamiento. Se registró el valor más alto de aflatoxinas totales con 6,97 ppb en el maní almacenado en vaina, una explicación a esto es que la vaina del maní a pesar de tener aspecto leñoso es muy permeable y el contenido de humedad más alto que se presentó en este tipo de almacenamiento dio lugar a que la presencia del hongo *Aspergillus* se desarrolle.

Por otro lado, el maní almacenado al granel obtuvo como resultado un 4,18 ppb de aflatoxinas totales. Fierro (2012) en su estudio registró un valor de 13,69 ppb de aflatoxinas totales presente en el maní al granel comercializado en la ciudad de Sangolquí-Ecuador. Estos datos reflejan el tipo de manejo que se le ha otorgado al cultivo de maní, Sáez (2011) menciona que la contaminación por *Aspergillus* puede producirse en los propios cultivos, algunas veces favorecida por la acción de los insectos, o en el transporte y almacenamiento siempre y cuando existan las condiciones de humedad, temperatura y pH adecuados para el crecimiento de las Aflatoxinas.

Finalmente, el maní almacenado al vacío presentó el valor más bajo de aflatoxinas totales con 1,11 ppb. Moreno (2004) expresa que las especies de *Aspergillus* son aerobias y a

niveles de 1% de oxígeno en el ambiente se detiene su desarrollo y por ende la producción de toxinas, es por esto que atribuimos que hubo un menor crecimiento de Aflatoxinas totales en los granos almacenados al vacío ya que esta técnica consiste en la extracción del aire que rodea al producto envasado, de forma que se consigue una atmósfera libre de oxígeno con la que se retarda la acción de hongos u otros microorganismos que necesitan el oxígeno para sobrevivir, lo que permite que los granos almacenados tengan una mayor vida útil.

#### **5.5. Con respecto a la interacción (AxBxC)**

En cuanto a humedad, el mejor resultado se obtuvo en la interacción Caramelo-fresco-vacío (6,55%), mientras que la interacción Rosita-Fresco-Envainado fue el tratamiento que presentó el mayor contenido de humedad (11,14%), es decir, excede los límites establecidos por la norma NTE INEN 2722:2013 para los granos de maní del 9%.

Con respecto a materia seca, la interacción Caramelo-fresco-vacío obtuvo el mayor resultado (97,99%), mientras que la interacción Rosita-Fresco-Envainado fue el tratamiento que presentó el menor contenido de materia seca (88,85%).

Para ceniza la interacción Rosita-seco-vacío presentó el mejor porcentaje de cenizas (3,00%), mientras que el menor porcentaje se registró en la interacción Caramelo-fresco-

vacío (2,08%), coincidiendo con Robles (1985) quién obtuvo resultados no mayores al 3% en su trabajo de investigación para granos de maní de diversas variedades.

Para pH, se registró el valor más bajo en la interacción Caramelo-seco-vacío (6,02), mientras que el valor más alto se registró en la interacción Rosita-fresco-vacío (6,68), ambos valores se encuentran dentro del rango óptimo para la proliferación y crecimiento de aflatoxinas (3,5 y 8) según lo manifestado por Ruiz (2016).

Para acidez, se registró el valor más bajo de acidez en la interacción Rosita-seco-granel con un 0,0154% y el valor más alto de acidez se registró en la interacción Rosita-seco-envainado con un 0,0342%.

Con respecto a fibra, el mejor resultado se obtuvo en la interacción Rosita-fresco-granel (9,75%) y el valor más bajo se registró en la interacción Rosita-seco-envainado (7,50%).

En cuanto a proteína, la interacción Rosita-fresco-envainado presentó el mejor contenido de proteína (32,49%), mientras que el valor más bajo se registró en la interacción Caramelo-seco-envainado (21,79%).

Frente a la variable grasa, el mejor resultado fue de la interacción Caramelo-envainado-fresco (43%), mientras que el valor más bajo se registró en la interacción Caramelo-seco-granel (21,50%).

Coincidiendo con López (2008), quien menciona que los alimentos en estado fresco presentan una mejor composición química en cuanto a grasa, fibra y proteína, en comparación a los alimentos que son sometidos a calor o cocción.

En cuanto a Aflatoxinas totales, el mejor resultado se obtuvo en la interacción Caramelo-seco-vacío ( $1,77E^{-15}$ ), mientras que el valor más alto se registró en la interacción Rosita-fresco-envainado (16,56 ppb), de acuerdo a los datos, todas las muestras de maní almacenadas al vacío presentaron los niveles más bajos de aflatoxinas totales, debido a que, a la falta de oxígeno los hongos del género *Aspergillus* detienen su crecimiento y proliferación, así lo manifiesta Moreno (2004).

## CAPITULO VI

### 6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 6.2. Conclusiones

##### Factor A (Variedades)

**Con respecto a variedades se concluye que:**

- La humedad en las dos variedades no supera el 6%, lo cual les da estabilidad a los diversos tipos de almacenamiento empleados, ya que es por encima del 9% donde hongos y bacterias tienen más facilidades para su proliferación y reproducción.
- Observando los resultados obtenidos, se pone en manifiesto que la variedad Rosita-Iniap 381 tiene una mejor composición química en cuanto al contenido de ceniza (2,51%), proteína (27,18%) y fibra (8,56%), mientras que la variedad Caramelo Iniap-382 obtuvo un mayor porcentaje de grasa (33,04%).
- La variedad Rosita Inaip-381 presentó el valor más alto de aflatoxinas totales con 6,30 ppb, con el porcentaje más alto de humedad de (5,92%) y un pH de 6,19 lo que la hace una variedad muy susceptible al ataque de hongos del género *Aspergillus* en comparación a la variedad Caramelo Iniap-382.

**Factor B (Estado de la muestra)**

- Las muestras secas al ser sometidas a un calor de 60°C durante 48 horas en la estufa, presentaron una notable pérdida de agua por evaporación de 2,40%, mientras que las muestras frescas mantuvieron un nivel de humedad de 8,96%.
- Las muestras en estado fresco fueron las que presentaron una mejor composición química en cuanto a fibra (9,05%), grasa (37,75%) y proteína (28,48%), mientras que con respecto a la variable cenizas las muestras en estado seco presentaron un mayor contenido de minerales (2,58%).
- En cuanto al contenido de pH y acidez titulable existió diferencia significativa reflejándose valores de pH de 6,35 y de 0,026 de acidez para las muestras frescas y de 6,23 y 0,023 para las muestras secas respectivamente.
- Las muestras frescas presentaron una mayor cantidad de aflatoxinas totales con un promedio de 5,06 ppb, mientras que en las muestras secas se registró un promedio de 3,12 ppb.

**Factor C (Sistemas de almacenamiento)**

- Se determinó que los granos de maní que fueron almacenados al vacío, tuvieron una menor incidencia de aflatoxinas totales (1,11 ppb), mientras que el valor más alto se registró en los granos de maní almacenados en vaina, los cuales también presentaron el contenido más alto de humedad con 6,78%. Esto se debe a que las aflatoxinas son hongos aerobios, es decir, que necesitan oxígeno para sobrevivir.
- Las muestras almacenadas al vacío presentaron una mejor composición química en cuanto al contenido de cenizas (2,71%), fibra (8,75%) y grasa (33,50%), mientras que el mejor porcentaje de proteína se presentó en los granos almacenados en vaina con un 28,31%.
- Se registró el valor más alto de pH y acidez en las muestras de maní almacenadas al granel, con valores de 6,54 y 0,031% respectivamente.

### **Interacción A\*B\*C**

- La interacción Caramelo-fresco-vacío presentó mejores resultados en cuanto a humedad y materia seca con 6,55% y 97,99% respectivamente, encontrándose dentro del rango permitido por la norma NTE INEN 2722:2013 para los granos de maní del 9%.
- Se determinó que el maní posee niveles bajos de minerales ya que el contenido de ceniza no supera el 3%, Rosita-seco-vacío presentó el mejor porcentaje de cenizas (3,00%), mientras que el menor porcentaje se registró en la interacción Caramelo-fresco-vacío (2,08%).
- Todas las interacciones presentaron valores de pH óptimos para el desarrollo de aflatoxinas, se registró el valor más bajo en la interacción Caramelo-seco-vacío con 6,02, mientras que el valor más alto se registró en la interacción Rosita-fresco-vacío con un valor de 6,68.
- Se determinó una mejor composición química en cuanto a las variables grasa, fibra y proteína en las interacciones Caramelo-envainado-fresco (43%), Rosita-fresco-granel (9,75%), Rosita-fresco-envainado (32,49%); respectivamente.

- En cuanto a Aflatoxinas totales, el mejor resultado se obtuvo en la interacción Caramelo-seco-vacío ( $1,77E^{15}$ ), mientras que el valor más alto se registró en la interacción Rosita-fresco-envainado (16,56 ppb), las muestras en estado fresco presentaron mayores porcentajes humedad lo que demuestra la estrecha relación entre humedad y aflatoxinas.

### 6.3. Recomendaciones.

- Realizar una adecuada recolección de las vainas de maní, debido que el consumo de maní por parte de los Ecuatorianos generalmente es cocinado, sin preocuparse si al cosechar la vaina presentaba color negruzco o presencia de moho, lo que pudiera indicar presencia de aflatoxinas que repercutirá en la salud del consumidor.
- Consumir el maní de la variedad la variedad Rosita-Iniap -381 en estado fresco y almacenado en vaina a que en nuestro estudio obtuvieron los valores más altos en fibra y proteína.
- Recomendamos de acuerdo a las dos variedades de maní estudiadas, adquirir la variedad Caramelo Iniap-382 para la obtención de aceite debido que el contenido de grasa obtenido (33,04%) fue superior al de la variedad Rosita-Iniap -38 (30,95%). De igual manera la variedad anteriormente mencionada obtuvo menor incidencia de aflatoxinas totales (1,87 ppb).
- Para futuras investigaciones es importante probar largos periodos de almacenamiento al granel, vaina y al vacío, en estado fresco y seco sin olvidar las diferentes variedades que se cultivan en Ecuador.

- Se recomienda un estudio posterior de evaluación e identificación de aflatoxinas B1, B2, G1 y G2 midiendo sus niveles y compararlos los límites permitidos y así crear en el país controles de calidad e inocuidad que proporcionen al consumidor alimentos libres de aflatoxinas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, K. A. (2012). *Evaluación de los niveles de aflatoxinas*. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/6242/1/T-ESPE-040205.pdf>
- Angulo, M. (2007). *Guía para prevenir las aflatoxinas en cacahuate*. Obtenido de <https://www.fps.org.mx/portal/index.php/.../30-granos-y-flores?...50...aflatoxinas>
- Bogantes, P. (Diciembre de 2004). *Aflatoxinas*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/html/434/43446404/index.html>
- Caiza, C. (2015). *ADAPTABILIDAD Y PRODUCCIÓN DE DOS VARIEDADES DE MANÍ (Arachis hypogaea L.)*. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/3522/1/T-UTC-00799.pdf>
- Campo, E. (1998). *Caracterización bromatológica de variedades de cacahuate*. Obtenido de [http://148.206.53.84/tesiuami/UAM%20LOTE%205/chapingo0036.pdf?fbclid=IwAR2wJl7AnQokpMOL2IDosbuANdVo1hR3CmF9\\_noxcWM2OJ19WeyBeX8rcs8](http://148.206.53.84/tesiuami/UAM%20LOTE%205/chapingo0036.pdf?fbclid=IwAR2wJl7AnQokpMOL2IDosbuANdVo1hR3CmF9_noxcWM2OJ19WeyBeX8rcs8)
- Contreras, R. (2009). Determinación de aflatoxinas en alimentos de mayor consumo infantil comercializados en la ciudad de Pamplona. *Revista Bistua*, 11.
- Delgado, S. (2007). *Incidencia de hongos potencialmente tóxicos en Maíz, almacenado en el norte de Tamaulipas*. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v25n2/v25n2a6.pdf>
- Escudero, E. (2006). *La fibra dietética*. Obtenido de <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v21s2/original6.pdf>
- FAO. (2010). Obtenido de <http://www.fao.org/docrep/014/AM810S/AM810S.pdf>
- Fierro, K. (2012). *“EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE AFLATOXINAS B1, B2, G1 Y G2 EN MANÍ A GRANEL COMERCIALIZADO EN LA CIUDAD DE SANGOLQUÍ*. Obtenido de [file:///C:/Users/Asus/Downloads/T-ESPE-040205\\_unlocked.pdf](file:///C:/Users/Asus/Downloads/T-ESPE-040205_unlocked.pdf)
- Gingins, M. (2010). ¡CUIDADO! MICOTOXINAS. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 4. Obtenido de [http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/Micotoxicosis/133-cuidado\\_micotoxinas.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/Micotoxicosis/133-cuidado_micotoxinas.pdf)
- Grosso, A. (2010). *CAMBIOS EN LOS PARAMETROS QUÍMICOS DE CALIDAD DEL MANÍ ALMACENADO EN CAJA DURANTE 24 MESES*. Obtenido de <http://www.ciacabrera.com.ar/docs/JORNADA%2027/7-Grosso%20Nelson-Olmedo%20R-Nepote-Grosso%20A%20-%20UNC-IMBIV-CONICET.pdf>

- Herrera. (2017). *Evaluación del comportamiento agronómico y rendimiento del maní (Arachis hypogaea L.), “INIAP – 381 ROSITA” a la aplicación de*. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/bitstream/49000/4128/1/TE-UTB-FACIAG-ING%20AGRON-000064.pdf>
- Jiménez , A. (05 de Diciembre de 2014). *DETERMINACIÓN DE GRASA Y ÁCIDOS GRASOS EN DOS VARIEDADES DE CACAHUATE (Arachis hypogaea L), VARIEDAD ESPAÑOL Y VALENCIA*. Obtenido de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/517>
- Jiménez, R., & Andrade , C. (2010). *INIAP 382- Caramelo*. Obtenido de <http://repositorio.educacionsuperior.gob.ec/bitstream/28000/788/1/L-SENESCYT-0091.pdf>
- Landaeta, M. (Enero de 2002). *Índice energía-proteína: relación con indicadores de la composición corporal*. Obtenido de [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-07522002000100006](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522002000100006)
- Ledezma, P., & Bogantes, D. (2004). *Aflatoxinas*. Obtenido de [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-60022004000400004](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022004000400004)
- Lodoño, E., & Martínez, M. (2017). Aflatoxinas en alimentos y exposición dietaria como factor de riesgo para el. *BioSalud*, 14.
- López, A. (2008). *Tecnología de Envasado y Conservación de Alimentos*. Obtenido de [https://www.usmp.edu.pe/publicaciones/boletin/fia/info49/articulos/Envasado%20y%20Conservacion%20de%20Alimentos%20\(1\).pdf](https://www.usmp.edu.pe/publicaciones/boletin/fia/info49/articulos/Envasado%20y%20Conservacion%20de%20Alimentos%20(1).pdf)
- Martínez, J. (2013). *Características físicas y químicas del cacahuate de diferentes variedades cultivadas en Chiapas*. Obtenido de <https://pdfs.semanticscholar.org/5630/c4a2efdc8813dc5c52bbe71da21a751a990c.pdf>
- Márquez, M. (2014). *Cenizas y Grasas*. Obtenido de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/4188/IAmasibm024.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Meza, M. (2011). *Acid-base disturbances in critically ill patients*. Obtenido de <http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v28n1/a08v28n1>
- Montesel, G. (2017). *kit Veratox® para histamina por el método de ELISA*. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/27415/1/Trabajo%20de%20titulacion.pdf>
- Moreno, J. (2004). *Estudio comparativo de Aspergillus flavus y Aspergillus parasiticus en la producción de aflatoxinas bajo diferentes condiciones de humedad y temperatura*. Obtenido de

[https://www.researchgate.net/publication/222090687\\_Relationship\\_between\\_aflatoxin\\_production\\_and\\_sclerotia\\_in\\_AspERGILLUS\\_flavus\\_isolated\\_from\\_corn](https://www.researchgate.net/publication/222090687_Relationship_between_aflatoxin_production_and_sclerotia_in_AspERGILLUS_flavus_isolated_from_corn)

NEOGEN. (2017). Obtenido de [http://foodsafety.neogen.com/pdf/procedures/8035\\_pro.pdf](http://foodsafety.neogen.com/pdf/procedures/8035_pro.pdf)

Nuñez, H. (2009). “EVALUACIÓN DE DOS VARIEDADES DE MANÍ A DOS TEMPERATURAS DE TOSTADO EN LA ELABORACIÓN DE MANTEQUILLA. Obtenido de <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1885/Nu%C3%B1ez%20Castro.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Perusia, O. R., & Rodríguez, R. (2001). *Micotoxicosis*. Obtenido de [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v12\\_n2/micotoxicosis.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/veterinaria/v12_n2/micotoxicosis.htm)

Polo, I. (2012). *Determinación proximal de los principales componentes nutricionales de seis variedades de leguminosas: arveja, garbanzo, haba, lenteja, maní y soya*. Obtenido de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7111/4.7.001037.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

Puerto, M. (08 de 05 de 2013). *Determinación de proteínas*. Obtenido de <http://www.fagro.edu.uy/~nutrical/ensenanza/AVI%20WEB/cursoema/detdePC.pdf>

Quispe, S. (Enero de 2011). Obtenido de <https://www.engormix.com/micotoxinas/articulos/contaminacion-de-la-castana-y-el-mani-con-aflatoxinas-t26125.htm>

Ramírez, D., & Arrubla, J. (s.f.). *Implementación de un método de determinación de fibra cruda en materias primas y producto terminado en alimentos para animales en CIPA S.A.* Obtenido de <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/7352/66407R173.pdf?sequence=1>

Reardon, J. (2011). *PH y los Alimentos*. Obtenido de <https://www.ncagr.gov/fooddrug/espanol/PHylosAlimentos.pdf.pdf>

Robles, S. (1985). *Producción de oleaginosas y textiles*. México: Limusa Wilwy. . Obtenido de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0188-62662016000500011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-62662016000500011)

Romero, R. (2012). *Determinación de grasas del contenido totales*. Obtenido de <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914006.pdf>

Ruiz, J. (Diciembre de 2016). *Las micotoxinas y salud*. Obtenido de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2016000400001](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2016000400001)

Sáez, A. (2011). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y de nutrición AESAN. *Aecosan*, 16. Obtenido de

[http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad\\_alimentaria/evaluacion\\_riesgos/informes\\_comite/AFLATOXINAS\\_ALIMENTOS.pdf](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/AFLATOXINAS_ALIMENTOS.pdf)

Sosa, A. (1981). *Estudios sobre los myxomycetes de estado de Veracruz II*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/270889774\\_Lopez\\_A\\_A\\_Sosa\\_y\\_L\\_Villarreal\\_1981\\_Estudios\\_sobre\\_los\\_myxomycetes\\_del\\_Estado\\_de\\_Veracruz\\_II\\_Biotica\\_6\\_4\\_3-56](https://www.researchgate.net/publication/270889774_Lopez_A_A_Sosa_y_L_Villarreal_1981_Estudios_sobre_los_myxomycetes_del_Estado_de_Veracruz_II_Biotica_6_4_3-56)

Ullaury, J., & Guamán, R. (2004). *Guía del cultivo de mani*. Obtenido de <http://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/1994/1/iniaplsbd314.pdf>

UNAM. (2008). *Fundamentos y técnicas de análisis de alimentos*. Obtenido de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS\\_12286.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/FUNDAMENTOSYTECNICASDEANALISISDEALIMENTOS_12286.pdf)

Urrego, J., & Díaz, G. (2006). *Scielo*, 4. Obtenido de AFLATOXINAS: MECANISMOS DE TOXICIDAD EN LA ETIOLOGÍA DE CÁNCER HEPÁTICO CELULAR

Vargas, C., & Velásquez, V. (2013). *Propuesta de un método biológico para la detección de*. Obtenido de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/24776/1/TESIS.pdf>

Vásquez, F., & Barzla, S. (2016). La prevalencia de *Aspergillus* spp. y aflatoxinas en *Zea mays* L.(maíz) almacenado. *ISSN*, 189-199.

Zambrano, Á. (Enero de 2011). Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/8180/1/TESIS%20COMPLETA%20DE%20MANI.pdf>

Zapata, N. (Diciembre de 2012). *Crecimiento y productividad de dos genotipos de maní (Arachis hypogaea L.) según densidad poblacional establecidos en Ñuble, Chile*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/262663313\\_Crecimiento\\_y\\_productividad\\_de\\_dos\\_genotipos\\_de\\_mani\\_Arachis\\_hypogaea\\_L\\_segun\\_densidad\\_poblacional\\_establecidos\\_en\\_Nuble\\_Chile](https://www.researchgate.net/publication/262663313_Crecimiento_y_productividad_de_dos_genotipos_de_mani_Arachis_hypogaea_L_segun_densidad_poblacional_establecidos_en_Nuble_Chile)