

**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

**UNIDAD DE ESTUDIO A DISTANCIA**

**MODALIDAD SEMIPRESENCIAL**

**CARRERA INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS DE GRADO**

**“METODOS DE CONSERVACIÓN DE LA PASTA DE MANÍ  
(*Arachis hypogaea*)”**

**AUTORA**

**LOURDES ROCÍO RAMOS MACKLIFF**

**DIRECTORA**

**ING. TATIANA PIÑEIRO VIVAS**

**Quevedo – Los Ríos – Ecuador**

**2011**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**UNIDAD DE ESTUDIO A DISTANCIA**  
**MODALIDAD SEMIPRESENCIAL**  
**CARRERA INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS DE GRADO**

**“METODOS DE CONSERVACIÓN DE LA PASTA DE MANÍ (*Arachis hypogaea*)”**

**Presentada al Honorable Comité Técnico Académico Administrativo de la  
Unidad de Estudios a Distancia como requisito previo a la obtención del  
título de:**

**INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**MIEMBROS DEL TRIBUNAL**

Ing. Javier Guevara Santana MSc.

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Teresa Llerena Guevara

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Pedro Intriago Zamora MSc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Tatiana Piñeiro Vivas

**DIRECTORA DE TESIS**

---

**QUEVEDO – LOS RIOS – ECUADOR**

**2011**

## CERTIFICACIÓN

Certifico que la Señorita Lourdes Rocío Ramos Mackliff, realizó la tesis denominada: **MÉTODOS DE CONSERVACIÓN DE LA PASTA DE MANÍ (*Arachis hypogaea*)**, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

---

**Ing. Tatiana Piñeiro Vivas**  
**DIRECTORA DE TESIS**

## **DECLARACIÓN**

Yo, RAMOS MACKLIFF LOURDES ROCÍO, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mí autoría, el cual no ha sido presentado por ninguna institución dedicada a la investigación, ni grado o calificación profesional.

Por medio de la presente declaración cedo los derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Unidad de Estudios a Distancia, según lo establecido por la ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y la normativa institucional vigente.

---

Lourdes Rocío Ramos Mackliff

## DEDICATORIA

Al concluir esta tesis, he alcanzado uno de mis más anhelados sueños, y se lo dedico a:

Dios, por permitirme vivir en este mundo tan bello y maravilloso, por ser mi guía espiritual, por darme salud, entendimiento y las fuerzas necesarias para superar los tropiezos que se presentaron en mi camino y poder seguir adelante.

A mis padres Luis y Florentina, a mi hermana Flor María por ser ellos la base para levantar mis pilares del éxito; por haberme apoyado incondicionalmente en mi carrera, pagando con su esfuerzo y sacrificio el valor de lo que ahora representa mi triunfo, por estar presentes en cada uno de mis momentos difíciles, por sus consejos en especial a mi madre por ser un ejemplo de humildad y perseverancia. Lamentablemente mi padre al final de esta etapa de superación en mi vida ya no está a mi lado, pero sé que desde el cielo me está observando y se siente orgulloso de mí. **Este trabajo va para tí padre querido.** Gracias a ellos soy lo que soy.

A Robert Alfredo por permanecer a mi lado y darme ese ánimo alentador y de superación para seguir siempre adelante.

A todos mis compañeros de aula y amigos por los gratos momentos vividos, los problemas superados y su amistad desinteresada.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios por el deseo concedido.

A mis padres y hermana por los constantes sacrificios realizados para poder culminar mis estudios y este sueño.

Al alma mater de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por ayudarme a formar un carácter firme y en especial a entender el verdadero significado de ayudar a los demás.

A todos los profesores de la Unidad de Estudio a Distancia, carrera Agroindustria por brindarme sus conocimientos y así poder desenvolverme mejor en el mundo que nos rodea.

A mí Directora de Tesis, Ing. Tatiana Piñeiro Vivas, por su constante apoyo y ayuda para el desarrollo de esta Investigación.

A mí Jefa, Ing. Flor Marina Fon Fay por brindarme las facilidades durante el desempeño del trabajo de Investigativo.

Al Ing. Raúl Díaz Ocampo MSc., por impartir sus sabios conocimientos que han sido la pieza fundamental en mi vida profesional.

A ese SER incondicional e inolvidable que se convirtió en mí inspiración para seguir adelante y alcanzar esta meta.

A los señores miembros del Tribunal Examinador Ingrs.: Javier Guevara, Pedro Intriago y Teresa Llerena, por guiarme en el desarrollo de esta investigación.

Al Señor Abogado Edison Plaza León, Secretario Académico UED por la asesoría prestada en cada una de las etapas para alcanzar este objetivo.

A mis compañeros de trabajo Srs.: Kléber Villegas, Robert Kaiser y Antonio Macías, que siempre estuvieron pendientes para apoyarme y ayudarme en el desarrollo de cada una de las etapas de esta investigación.

Al Ing. Pedro Nivelá por su valiosa ayuda en el desarrollo de la parte estadística de esta investigación.

A todos mis amigos que de una u otra manera colaboraron en el desarrollo de esta investigación.

# INDICE GENERAL

## CAPITULO

## PÁG.

Carátula	i
Presentación al Tribunal	ii
Certificación	iii
Declaración	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice general	vii
Índice de cuadros	xi
Índice de tablas	xiii
Índice de figuras	xiv
Índice de anexos	xv
I. INTRODUCCIÓN	
1	
1.1. Objetivos	2
a.General	2
b.Específicos	2
1.2 Hipótesis	2
Hipótesis nula	2
Hipótesis alternativa	3
II. REVISIÓN LITERARIA	4
2.1. El Maní o cacahuate.	4
2.1.1. Origen.	4
2.1.2. Clasificación botanica sistemática	4
2.1.3. Cultivo	5
2.1.4. Plagas.	5
2.1.5. Usos y beneficios.	5
2.1.6. Variedades	6
2.2. La pasta de maní.	7
2.2.1. Propiedades Importantes de la pasta de maní.	7

2.2.2. Procesos productivos para la obtencion de la pasta de maní	8
2.2.3. Problemas de calidad que presentan los productos a base de maní	10
2.3. Conservación de los alimentos.	10
2.3.1. Métodos de conservación	10
2.3.2. Conservante	11
2.4. Contenido de Humedad.	11
2.5. Potencial de Hidrógeno.	11
2.6. Aflatoxinas.	12
2.7. Control microbiológico de los alimentos	13
2.8. Análisis Microbiológicos.	15
2.8.1. Bacterias Aerobios Totales	15
2.8.2. Coliformes Totales	15
2.8.3. Hongos y Levaduras Totales	16
III. MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1. Localización y duración del experimento	17
3.2. Condiciones Meteorológicas.	17
3.3. Equipos, materiales y reactivos.	18
3.3.1. Equipos de laboratorio.	18
3.3.2. Materiales de laboratorio	18
3.3.3. Reactivos	19
3.3.4. Materia prima	19
3.3.5. Insumos	20
3.3.6. Materiales y utensilios	20
3.3.7. Otros	20
3.4. Tratamientos.	20
3.5. Unidades experimentales	22
3.6. Diseño experimental.	23
3.6.1. Prueba de rango múltiple	23
3.6.2. Análisis de la varianza (ADEVA)	23
3.7. Mediciones experimentales	24
3.7.1. Humedad	24
3.7.2. pH	24



5.1. Humedad.	40
5.2. Ph.	40
5.3. Aflatoxinas.	41
5.4. Aerobios totales.	41
5.5. Coliformes totales.	42
5.6. Hongos y levaduras.	42
VI. RECOMENDACIONES	43
VII. RESUMEN	46
VIII. SUMARY	48
IX. BIBLIOGRAFÍA	50
X. ANEXOS	53

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CUADROS</b>	<b>DESCRIPCION</b>	<b>Pág.</b>
1	Condiciones metereológicas del lugar donde se encuentra ubicado en el Laboratorio de Bromatología de la UTEQ	17
2	Descripción de los factores y niveles de estudio para el proceso de Conservacion de la Pasta de Maní	20
3	Arreglo factorial AxBxC para el Método de Conservación de la Pasta de Maní	21
4	Esquema del análisis de varianza y arreglo factorial A*B*C en un Diseño Completamente al Azar	23
5	Formulación para la elaboración de la Pasta de Maní	25
6	Análisis de Varianza (SC Tipo III) para la humedad	53
7	Análisis de Varianza ( SC Tipo III) para el pH	53
8	Análisis de Varianza (SC Tipo III) para los niveles de aflatoxinas	54
9	Análisis de Varianza ( SC Tipo III) para las aerobios totales	54
10	Análisis de Varianza (SC Tipo III) para los coliformes totales	55
11	Análisis de Varianza (ST Tipo III) para los hongos y levaduras	55
12	Prueba de Tukey al 0,05 para el análisis de humedad	56
13	Prueba de Tukey al 0,05 para el análisis de pH.	56
14	Prueba de Tukey al 0,05 para el análisis de aflatoxinas	57
15	Prueba de Tukey al 0,05 para el análisis de aerobios totales	57
16	Prueba de Tukey al 0,05 para el análisis de Coliformes totales	58
17	Prueba de Tukey al 0,05 para el análisis de hongos y levaduras	58

18	Datos obtenidos a los 15, 30 y 45 días de haber almacenado la pasta de maní, con sus respectivas repeticiones	59
----	---	----

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>Pág.</b>
1	Clasificación botánica sistemática del maní	4
2	Propiedades nutricionales de la pasta de maní	8
3	Límites máximos admisibles de concentración de aflatoxinas	14

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>Pág.</b>
1	Diagrama para el proceso para la elaboración de la pasta de maní	61
2	Recepción de la materia prima	72
3	Selección y pesado de la materia prima	72
4	tostado	73
5	Descascarillado y pelado	73
6	Molido	74
7	Pesado de ingredientes (sorbato de potasio y sal)	74
8	Mezclado de ingredientes	75
9	Pesado, envasado y rotulado	76
10	Almacenado a 27°C y 8°C	76

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXOS</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>Pág.</b>
1	Análisis de varianza para los factores	53
2	Prueba de Tukey al 0,05 para determinar el mejor tratamiento	55
3	Resultados de los análisis de la pasta de maní; realizados en el Laboratorio de Bromatología de la UTEQ	59
4	Diagrama de proceso para la elaboración de la pasta de maní	61
5	Modelo matemático utilizado para tener las fuentes de variación del el Método de Conservación de la pasta de Maní	62
6	Reglamento Técnico MERCOSUR sobre los límites de aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz	63
7	Normas microbiológicas colombianas	68
8	Fotos	72

## I. INTRODUCCIÓN

El Maní (*Arachis hypogae*), también conocido como cacahuate pertenece a la familia de las leguminosas; es originario de la zona andina del noroeste de Argentina, Perú, Bolivia, Brasil y Paraguay, donde muchas especies crecen de modo silvestre, que ha sido cultivado para el aprovechamiento de sus semillas desde hace 4.000 ó 5.000 años, ofreciendo una variedad importante de nutrientes que la mayoría de las personas desconocemos.

Actualmente el maní es una importante fuente de aceite vegetal en las zonas tropicales y subtropicales, consumiéndose en grandes cantidades los frutos crudos, asados al horno, fritos, tostados o cocidos, en la preparación de platos dulces y salados. Obteniéndose también el aceite, la harina y la pasta conocida como manteca de maní que sustituye a la mantequilla de leche.

La pasta de maní surge como una alternativa con la introducción de la variedad del cultivar Floman INTA (maní tipo Runner), apto para consumo directo y también de excelente calidad para obtener la pasta, comercializándola en forma natural o con aditivos, de acuerdo a los requisitos del comprador.

En nuestro país, el consumo de la pasta maní representa un atentado contra la salud, ya que se expende en los comisariatos, mercados, tiendas y en muchas ocasiones en plazas al aire libre sin ningún tipo de control sanitario, especialmente en la materia prima para la obtención de esta, que es altamente vulnerable al crecimientos de hongos productores aflatoxinas cuando no ha sido almacenado en condiciones optimas. Este factor es de gran importancia porque durante el proceso de molienda la toxina se difunde por la masa y los microorganismos encuentran condiciones ideales para su proliferación.

Debido a que la falta de investigación del proceso de conservación de la pasta de maní constituye un riesgo para el consumidor final, ya que no se conoce el efecto de ciertos factores físicos y químicos que influyen en su conservación se ha planteado el presente estudio para determinar las condiciones óptimas de almacenamiento en el proceso conservación de la pasta de maní.

## 1.1 Objetivos

### a. General

- Evaluar el proceso de conservación de la pasta de maní (*Arachis hypogaea*).

### b. Específicos

- Determinar la temperatura óptima de almacenamiento como método físico para el proceso de conservación de la pasta de maní.
- Analizar el proceso de conservación físico-químico de la pasta de maní con relación al tiempo de almacenamiento.
- Evaluar el uso de conservantes en el proceso de conservación de la pasta de maní.
- Realizar los análisis físico-químicos, microbiológicos y toxicológico en el proceso de conservación de la pasta de maní.

## 1.2 Hipótesis

### Hipótesis nula

- Ho 1: La temperatura de almacenamiento no influye en el proceso de conservación físico de la pasta de maní.
- Ho 2: El tiempo de almacenamiento no influye en el proceso de conservación químico de la pasta de maní.
- Ho 3: El uso de conservantes no influye en el proceso de conservación de la pasta de maní

### **Hipótesis alternativa**

- Ho 1: La temperatura de almacenamiento, influye en el proceso de conservación físico de la pasta de maní.
- Ho 2: El tiempo de almacenamiento, influye en el proceso de conservación químico de la pasta de maní.
- Ho 3: El uso de conservantes, influye en el proceso de conservación de la pasta de maní.

## II. REVISIÓN LITERARIA

### 2.1. El Maní o cacahuate.

#### 2.1.1. Origen.

**Yao/Butterworth/Wu (2004)**; manifiesta que, el maní (*A. hypogaea*), de origen americano, ha sido cultivado para el aprovechamiento de sus semillas desde hace 4.000 ó 5.000 años, pertenece a la familia de las leguminosas, se cultivó por primera vez en la zona andina costeña de Perú. Los incas extendieron su cultivo a otras regiones de Sudamérica y los colonizadores lo hicieron en Europa y el continente africano. El estudioso afroamericano George Washington Carver, lo propuso para la industria. En la actualidad su cultivo se ha extendido ampliamente por regiones de Asia y África, siendo esta leguminosa un alimento básico en la dieta de numerosos países, razón por la cual algunos autores sitúan el origen del maní en estos continentes.

#### 2.1.2. Clasificación botánica sistemática.

En la (tabla 1) se realiza la clasificación botánica sistemática del maní:

**Tabla 1.** Clasificación Botánica Sistemática del Maní.

<u>Reino</u>	<u>Plantae(rolístico)</u>
<u>División</u>	<u>Magnoliophyta</u>
<u>Clase</u>	<u>Magnoliopsida</u>
<u>Orden</u>	<u>Fabales</u>
<u>Familia</u>	<u>Fabaceae</u>
Subfamilia	<u>Faboideae</u>
<u>Tribu</u>	<u>Aeschynomeneae</u>
<u>Género</u>	<u>Arachis</u>
Especie	A. hypogaea
Nombre binomial:	<i>Arachis hypogaea</i> L.

Fuente: Yao / Butterworth / Wu, 2004.

### **2.1.3. Cultivo.**

**Yao/Butterworth/Wu (2004)**; comentan que, el maní es una planta fibrosa, que llega a medir de 30 a 50 cm de altura. Los frutos crecen bajo el suelo, dentro de una vaina leñosa redondeada que contiene de dos a cinco semillas de color castaño amarillento al marrón rojizo. Al ser su fruto una cascara leñosa sin pulpa se lo considera un tipo de fruto seco, se siembra a finales de la primavera, y se recolecta a finales del otoño.

Las cáscaras, obtenidas como subproducto, se emplean como combustible. Hoy en día, los principales países de cultivo son China e India, donde se utiliza sobre todo como materia prima para la producción de aceite de cacahuete.

### **2.1.4. Plagas.**

**Yao/Butterworth/Wu (2004)**; manifiestan que, la infección por ciertas especies de hongos (*Aspergillus flavus* o *A. parasiticus*) contaminan las semillas con aflatoxinas que son sustancias peligrosas cancerígenas que pueden ocasionar la muerte.

### **2.1.5. Usos y beneficios.**

**Yao/Butterworth/Wu (2004)**; menciona que, la planta de maní tiene varios usos medicinales y aplicaciones curativas, las cuales se concentran en sus semillas. Además, esta planta, también conocida como cacahuete, tiene importantes características nutricionales. Una de las principales propiedades medicinales que tiene el maní es la de hipocolesterolemia. Su consumo se encuentra muy recomendado para disminuir los niveles de colesterol en la sangre, por lo que puede ser útil para las personas que presentan hipercolesterolemia.

Por otra parte, la ingesta de manera regular de las semillas de la planta de maní, conocida científicamente como *Arachis hypogaea*, aporta con importantes características nutricionales, debido a su contenido de aceites omega, los cuales deben ser ingeridos, ya que el organismo del ser humano no

puede fabricarlos, estimulando la realización de los procesos digestivos. Debido a esto, es aconsejable que las personas que sufren de estreñimiento o digestiones lentas ingieran maní de forma habitual. Es decir estimulan la eliminación de los radicales libres presentes en el organismo. Por lo anterior, su consumo puede ayudar a prevenir algunas enfermedades degenerativas. Popularmente se dice que comer maní tendría efectos afrodisíacos, generando un aumento del deseo sexual.

El Cacahuete como es conocido en otros países y aunque muchos creen que no es un alimento muy saludable, incorporándolo a la dieta cotidiana puede proveer una respetable lista de nutrientes:

- Vitaminas: E, B6, Niacina, tiamina y riboflavina.
- Minerales poco usuales en otros alimentos como cobre, fósforo, potasio, cinc y magnesio.
- El maní también es una buena fuente de fibra y proteína.
- Contiene altos valores de grasas "buenas" y antioxidantes. Esto, por su alto contenido de Vitamina E, difícil de conseguir en otros alimentos y la cual ayuda a prevenir las enfermedades cardíacas y el Alzheimer.
- En muchos casos supera los beneficios de las frutas: tiene tantos antioxidantes como las fresas o las moras e incluso más que las manzanas.
- Reduce los niveles de colesterol nocivo.
- Contribuye a bajar de peso, pues proporciona sensación de saciedad y altas dosis de energía, logrando que la persona coma mucho menos.

#### **2.1.6. Variedades**

**Amaya/Julca (2006)**; manifiestan, que las variedades de maní se las puede clasificar en:

- Grano pequeño: 48-115 TB tipo Spanish, 47-47 Espanich, Tarapoto (tipo valencia).
- Grano mediano: Boliche (tipo Valencia)
- Criollas: Pepona, Sta. Rosa, Morada.

## 2.2. La pasta de maní.

**Macintosh/Barry/Parr/Litster (1977);** manifiestan que, la pasta de maní se elabora a partir de maníes que han sido tostados y molidos, en muchas ocasiones se le agrega sal o azúcar para mejorar el sabor. Para evitar la separación de los aceites y sólidos se usan aditivos conocidos como estabilizadores. Esta se la puede consumir untada en pan, galleta, fruta o formar parte de recetas en comidas y postres. La pasta de maní sellada se puede guardar entre 9 a 12 meses. Contiene menos del 1% de humedad lo cual no permite el crecimiento de hongos tolerantes a la sequedad

**Macintosh/Barry/Parr/Litster (1977);** dicen que, la pasta de maní se encuentra en el mercado a un bajo costo y no necesita refrigeración, se puede almacenar sin ningún riesgo a temperatura ambiente, pero sin embargo debido a que la pasta de maní debido al alto contenido de aceite, puede ranciarse durante el almacenamiento. La rancidez le da mal sabor o sabor a aceite viejo. Cuando esto ocurra, reponga la pasta con producto más fresco.

Algunas personas son alérgicas a los maníes y a la pasta, las reacciones alérgicas pueden incluir irritación de la piel como sarpullido, ronchas y eczema, en los síntomas gastrointestinales pueden incluir náusea, vómito y diarrea. En raras ocasiones puede ser fatal al producir anafilaxias. Las personas que presentan alergias a otras leguminosas como soya, garbanzos y arvejas deben evitar la pasta de maní o tener mucha precaución en su uso.

### 2.2.1. Propiedades Importantes de la pasta de maní.

**Macintosh/Barry/Parr/Litster (1977);** manifiestan que, la pasta de maní es una buena fuente de proteínas, ácido fólico, vitaminas B, minerales y fibra dietética. Independientemente de su preferencia por pasta lisa o crujiente, el contenido de nutrientes es el mismo. Dos cucharadas pasta de maní proveen 188 calorías y los siguientes nutrientes.

En la tabla 2, se describen las propiedades nutricionales de la pasta de maní:

**Tabla 2.** Propiedades nutricionales de la Pasta de Maní

<b>Componentes</b>	<b>Porcentaje</b>
Proteínas	6.6 gramos
Carbohidratos	6.6 gramos
Colesterol	0 gramos
Grasas	16 gramos
Monosaturadas	8 gramos
Poliinsaturadas	5 gramos
Saturadas	3 gramos
Fibra Dietética	2 gramos
Niacina	4.2 miligramos
Acido fólico	25 microgramos
Tiamina	0.04 miligramos
Fósforo	103 miligramos
Magnesio	50 miligramos
Hierro	0.53 miligramos
Cobre	0.18 miligramos
Zinc	0.80 miligramos

Fuente: Fonseca, 1998

**Macintosh/Barry/Parr/Litster (1977);** manifiestan que, la pasta de maní provee por lo menos el 28% de la Dieta Recomendada (RDA) de proteínas para niños menores de 10 años y por lo menos 12.5% de la Dieta Recomendada (RDA) para adolescentes y adultos.

### **2.2.2. Procesos productivos para la obtención de la pasta de maní.**

**Cicchitti/Szekieta (2003);** manifiestan que, los procesos productivos involucrados en la elaboración de la pasta de maní son los siguientes:

- Descascarado
- Tostado
- Descascarillado
- Molienda

- Agregado de aditivos
- Envasado

A continuación, se hace una breve descripción de las etapas enumeradas para la obtención de la pasta de maní:

- El descascarado se realiza en máquinas simples que presionan la vaina contra un plano para abrir la cáscara y separar la nuez.
- Luego los maníes son tostados a 425 °F (218°C) entre 40 y 60 minutos en una cubeta dentro de un horno con movimientos manuales para girar los granos y permitir el tostado uniforme.
- Lo mismo puede lograrse con un equipo similar, al utilizado para tostar café. Suelen utilizarse tambores de metal rotados a mano con el calor de brasas para fabricaciones domésticas.
- Luego del tostado, el grano estará dorado y perderá la piel. Tradicionalmente, los granos son molidos en un mortero hasta que alcanzan una consistencia suave.
- Actualmente la molienda se realiza en molinos accionados a motor. Ajustes en el molino permiten la fabricación de diferentes texturas. Para una pasta más suave debe repetirse el proceso de molienda hasta obtener la consistencia deseada.
- En esta etapa se agrega sal en aproximadamente un 2% en peso. También puede agregarse azúcar. No es común el uso de saborizantes.

**Cicchitti/Szekieta (2003)**; manifiestan que, se acostumbra agregar a la mezcla GMS (monoestearato de glicerilo) en un 2 - 3% en peso para evitar la separación del aceite del resto de la composición. Se sugiere una mezcla previa de este producto en una pequeña cantidad de pasta para luego incorporarlo al lote completo que se ha de fabricar. La pasta de maní puede contener o no el embrión de la semilla.

**Cicchitti/Szekieta (2003)**; dicen que, para prevenir la ranciedad que puede desarrollarse luego de pocos meses, se agregan antioxidantes especiales. El

agregado de estos antioxidantes está vinculado con el tiempo estimado de permanencia del producto en las góndolas de los supermercados.

- Por último, el producto se envasa en frascos esterilizados.

### **2.2.3. Problemas de calidad que presentan los productos a base de maní.**

**Cicchitti/Szekieta (2003)**; manifiestan que, la presencia de aflatoxinas representa el principal problema en el maní y en las instalaciones que lo procesan. Como forma de control de calidad de los alimentos que contienen maní suelen fijarse límites máximos de aflatoxinas (tabla 3).

## **2.3. Conservación de los alimentos.**

**Barbosa (s/f)**; manifiesta que, la conservación de los alimentos es el conjunto de procedimientos y recursos para preparar y envasar los productos alimenticios, con el fin de guardarlos y consumirlos mucho tiempo después, cuyo objetivo es evitar que los alimentos sean atacados por microorganismos que originan la descomposición, y así poder almacenarlo, por más tiempo.

### **2.3.1. Métodos de Conservación.**

**Puleva Salud (2007)**; dice que, los métodos de conservación actuales para evitar la contaminación de los alimentos son diversos:

- **Por frío:** Refrigeración y ultracongelación.
- **Por calor:** Cocción, Pasteurización y esterilización.
- **Por reducción de la cantidad de agua:** Deseccación, liofilización y concentración.
- **Por radiaciones ionizantes:** Irradiación.
- **Por agentes químicos:** Conservantes.
- **Por presión:** Altas presiones.
- **Por control de la atmósfera:** Vacío y mezcla de gases.
- **Por acción química:** Salazón, salmuera, encurtido y fermentación.

- **Por separación física:** Ultrafiltración.

### **2.3.2. Conservante.**

**Cabal/Estean (1999)**; dicen que, se denomina conservante a cualquier sustancia añadida a los alimentos (bien sea de origen natural o de origen artificial) que pueda detener o minimizar el deterioro causado por la presencia de diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). Este deterioro microbiano de los alimentos puede producir pérdidas económicas sustanciales, tanto para la industria alimentaria (que puede llegar a generar pérdidas de materias primas y de algunos sub-productos elaborados antes de su comercialización, deterioro de la imagen de marca) así como para distribuidores y usuarios consumidores (tales como deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo, problemas de sanidad, etc.).

### **2.4. Contenido de Humedad.**

**Nielsen (2007)**; menciona que, es la pérdida de agua que influye en el peso total, expresada en porcentaje, que se produce al calentar una porción de la muestra bajo condiciones pre-establecidas. El contenido de humedad (o de sólidos totales) de los alimentos es importantes para, los productores de alimentos por diversas razones: la humedad es un factor importante en la calidad de los alimentos, su forma de conservación y su resistencia al deterioro.

También es necesaria para determinar el contenido de los demás constituyentes del alimento sobre una base uniforme (es decir sobre la base del peso en seco). La materia seca que permanece después del análisis de la humedad se conoce, comúnmente como los sólidos totales.

### **2.5. Potencial de Hidrógeno.**

**Matas (2008)**; 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 el disolvente agua).

**Odar (2008);** manifiesta que, el control del pH es muy importante en la elaboración de los productos alimentarios, tanto como indicador de las condiciones higiénicas como para el control de los procesos de transformación. El pH, como la temperatura y la humedad, son parámetros importantes para la conservación de los alimentos.

## 2.6. Aflatoxinas.

**Rojas V. (s/f);** dice que, las Aflatoxinas son metabolitos secundarios producidos por los microhongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus* principalmente pertenecen al grupo de las micotoxinas y dentro de este grupo son las más peligrosas y estudiadas debido a que son consideradas como unos de los carcinógenos naturales más potentes hasta hoy conocidos.

Estos compuestos se depositan en los substratos que estos microhongos colonizan, principalmente en aquellos de origen vegetal como cereales, frutas secas, etc. Al ser ingeridos los alimentos contaminados pueden ocasionar intoxicaciones tanto en humanos como en animales, daños hepáticos e incluso hasta la muerte. Son tóxicos a bajas concentraciones (ppm) y tienen alta incidencia en alimentos, se caracterizan por presentar bajo peso molecular y por ser resistentes a altas temperaturas.

**Rojas V. (s/f);** manifiesta que, la principal vía de entrada de estas micotoxinas al humano es por la ingestión de alimentos contaminados de origen vegetal y en menor grado de origen animal como vísceras y leche. El hígado es el órgano blanco para estas toxinas, aunque también causan daño a nivel renal. El crecimiento de estos mohos y la producción de toxinas dependen de muchos factores como el alimento en cuestión, su grado de acidez, la temperatura o humedad ambientales y la presencia de microflora competidora, capaces de

desarrollarse en gran variedad de sustratos, pudiendo contaminar los alimentos cuando éstos son cultivados, procesados, transformados o almacenados en condiciones adecuadas que favorezcan su desarrollo. Las aflatoxinas en el grano se pueden prevenir reduciendo la humedad, secando el grano hasta obtener 13-14% de humedad y manteniendo la humedad relativa, de tal forma que no se aumente la humedad del producto, esto disminuye la contaminación por hongos.

**Pearson (2006);** manifiesta que, la formación de Aflatoxinas en el maní tiene lugar si este se almacena entre 20° y 40° C con un 10-20% de humedad y con un 70-90% de humedad relativa en el aire. El crecimiento del hongo se ve favorecido si los granos están dañados por insectos o roedores. Pero, aún en ausencia de estas condiciones, si ya han germinado algunas esporas en el sustrato, se pueden formar "nichos ecológicos" que favorecen el desarrollo de sectores con micelios generadores de Aflatoxinas porque al crecer produce agua por respiración aumentando así la humedad de algunas semillas o granos.

**Pearson (2006);** manifiesta que, estudios fisiológicos han revelado que las Aflatoxinas poseen actividad mutágena y carcinógena, así como que la variedad B1 es la más tóxica. Un comité mixto de la FAO y la OMS, integrado por expertos en aditivos, ha definido a las Aflatoxinas como «potentes carcinógenos humanos», si bien no existe aún información suficiente para establecer una cifra fija sobre grados de exposición tolerable. Los expertos se limitan a aconsejar que no se abuse en el consumo de frutos secos.

**Pearson (2006);** manifiesta que, la FDA ha regulado los máximos niveles permisibles de Aflatoxinas para alimentos y raciones de forraje para animales. Por lo tanto es crucial importancia establecer una determinación precisa de Aflatoxinas para las autoridades encargadas del control de calidad de alimentos.

En la (tabla 3) se expresan los límites máximo admisibles de concentración de Aflatoxinas.

Tabla 3. Límites Máximos admisibles de concentración de Aflatoxinas.

ALIMENTO	AFLATOXINA	LIMITE
1. Leche		
1.1. Leche fluida	M1	0,5 µg/L
1.2. Leche en polvo	M1	5,0 µg/kg
2. Maíz		
2.1. Maíz en grano B1+B2+G1+G2 20 µg/kg (entero, partido, aplastado, mondado)	B1+B2+G1+G2	20 µg/kg
2.2. Harinas de sémolas de maíz		
3. Maní		
3.1. Maní B1+B2+G1+G2 20 µg/kg (sin descascarar, descascarados, crudo o tostado)		
3.2. Maní en pasta ( pasta de maní o manteca de maní)	B1+B2+G1+G2	20 µg/kg

Fuente: MERCOSUR/GMC/RES. N° 25/02

## 2.7. Control microbiológico de los alimentos

**Larrañaga/Carballo/Rodríguez/Fernández (1999)**; manifiestan que, el control microbiológico de los alimentos consiste en comprobar aspectos tales como estado de frescura, capacidad de conservación, condiciones de higiene en la producción y presencia de microorganismos patógenos. Para conocer la calidad de un lote de alimentos o controlar un proceso, se debe evaluar un determinado número de unidades de ese lote. Es a partir de los resultados obtenidos de esa muestra que se infiere sobre la calidad higiénico-sanitaria del lote.

**Frazeir/Westhoff (2003)**; dicen que, la calidad de un alimento depende de sus propiedades físicas, químicas, microbiológicas y sensoriales. La calidad microbiológica puede estimarse en términos generales mediante el análisis microbiológico de recuento total de la placa (RTP). En algunos alimentos el RTP elevado indica una pobre calidad. Los alimentos pueden tener una apariencia normal pero su RTP puede ser elevado, lo que indica que la alteración del producto está muy cercana.

## **2.8. Análisis Microbiológicos.**

**Norma Venezolana 409 (1998)**; manifiesta que, el criterio microbiológico define la aceptabilidad de un producto y/o ingrediente alimentario en base a la presencia o ausencia, o el número de microorganismos (y/o sus toxinas) por unidad de masa, volumen, área o lote. Además, los métodos de ensayo para la detección o cuantificación del o de los microorganismos, el plan que define el número de muestras del lote a ser analizadas; y el número de unidades de muestras defectuosas

Un criterio microbiológico forma parte de una norma técnica, ley o reglamento técnico para controlar alimentos y/o ingredientes alimentarios. Incluye los requisitos microbiológicos obligatorios y los requisitos microbiológicos recomendados.

### **2.8.1. Bacterias Aerobios Totales**

**Frazeir/Westhoff (2003)**; manifiestan que, las bacterias aerobias totales son microorganismos unicelulares que se multiplican principalmente por división binaria, es decir, mediante partición en dos nuevas células, el método más simple de clasificar bacterias es según su apariencia.

### **2.8.2. Coliformes Totales**

**Frazeir/Westhoff (2003)**; manifiestan que, los coliformes totales son bacilos cortos que se ha definido como bacterias aerobias y anaerobias facultativas que fermentan la lactosa con producción de gas. Las principales especies de

bacterias Coliformes son *Escherichia coli* o *Enterobacter aerogenes*; no obstante, las especies que es posible que se ajusten a estos criterios, son más de veinte, encontrándose entre las mismas especies de otros géneros de la familia Enterobacteriaceae e incluso especie de *Aeromonas*. El grupo de Coliformes fecales incluyen a los Coliformes capaces de crecer a temperaturas elevada (44.5 ó 45° C).

### **2.8.3. Hongos y Levaduras Totales**

**Yousef/Carlstrom (2006)**; manifiestan que, los hongos son un grupo de microorganismos ubicuos que se encuentran frecuentemente en la naturaleza, en las plantas, animales y seres humanos que pueden contaminar los alimentos, el equipo, la maquinaria del procesado y los elementos de los lugares de almacenamiento. Debido a su amplia distribución, los hongos son la causa principal de la alteración de los alimentos. En consecuencia, la contaminación de los alimentos con ciertos hongos puede causar pérdidas económicas considerables en la industria alimentaria.

**Yousef/Carlstrom (2006)**; manifiestan que, las levaduras que se encuentran en los alimentos pueden ser beneficiosas o perjudiciales. Las fermentaciones producidas por levaduras intervienen en la elaboración de alimentos como el pan, las cervezas, los distintos tipos de vino, el vinagre y los quesos de maduración externa. Cultivándose también para obtener enzimas y alimentos. Las levaduras son perjudiciales cuando producen la alteración del seuerkraut, de los zumos de frutas, de los jarabes, de la melaza, de la miel, de las carnes, del vino, de la cerveza y de otros alimentos.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Localización y duración del experimento

La investigación se realizó en la Finca Experimental “La María” de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Laboratorio de Bromatología, el mismo que está ubicado en el km 7 vía Quevedo – El Empalme, provincia de los Ríos, cuyas coordenadas geográficas son 1° 6' 2 30" de latitud sur y 79° 29' 30" de latitud oeste y a una altura de 124 metros sobre el nivel del mar. La presente investigación tuvo una duración de 120 días.

#### 3.2 Condiciones Meteorológicas.

El lugar donde se realizó la investigación presentó las siguientes condiciones meteorológicas (ver cuadro 1).

**Cuadro 1.** Condiciones meteorológicas del lugar donde se encuentra ubicado el Laboratorio de Bromatología de la UTEQ.

<b>Indicadores</b>	<b>Valores promedios y otros (2010)</b>
Temperatura media (°C)	24,60
Humedad relativa (%)	78,83
Heliofania (horas, luz, año)	743,50
Precipitación anual (mm)	2229,50
Evaporación anual	933,60

Fuente: Estación Meteorológica del INAMHI, ubicada en la Estación Experimental Pichilingue del INIAP, 2010.

### **3.3 Equipos, materiales y reactivos.**

Para realizar esta investigación, se utilizó los siguientes equipos, materiales y reactivos disponibles en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo:

#### **3.3.1 Equipos de laboratorio.**

- 1 Equipo Lector Microelissa
- 1 Balanza analítica sensible al 0.1 mg.
- 1 Balanza electrónica
- 1 Mezcladora de alta velocidad, con un recipiente de un litro o equivalente.  
( se puede utilizar una licuadora)
- 1 Pipetas multicanal de 1 y 12 canales
- 1 Estufa, provista con termo regulador
- 1 Potenciómetro
- 1 Autoclave
- 1 Incubadora
- 1 Contador de colonias
- 1 Desecador, provisto de silicagel
- 1 Refrigeradora
- 1 Molino de disco

#### **3.3.2 Materiales de laboratorio**

- Materiales de extracción (disponibles en un Kit de Neogen).
- Probeta graduada de 50, 100 y 250 ml.
- Recipiente para 125 ml. de capacidad.
- Papel filtro Whatman # 1
- Embudo
- Frascos para la recolección de la muestra.
- Lector de tiras de micropozos con filtro de 650 nm.
- Toallas de papel.

- Vasos de precipitación de 100,250 y 500 ml.
- Recipientes de plásticos para usar como receptáculo de basura.
- Portapozos.
- Cronómetro.
- Marcador indeleble.
- Papel indicador
- Cubetas de reactivos para pipeta multicanal
- Espátula
- Pinza metálica
- Piceta de 250 ml.
- Mechero Bunsen
- Envases para el almacenamiento de la muestra.
- Bandejas
- Algodón
- Dispensador
- Varilla de vidrio
- Atomizador
- Mortero

### **3.3.3 Reactivos**

- Metanol grado ACS
- Kit para determinación de Aflatoxinas
- Placas petrifilm para coliformes
- Placas petrifilm para aerobios
- Placas petrifilm para hongos y levaduras
- Agua de peptona al 0.1%
- Agua destilada
- Soluciones buffers

### **3.3.4 Materia prima**

- Maní

### 3.3.5 Insumos

- Sal
- Sorbato de potasio

### 3.3.6 Materiales y utensilios

- Bandejas de acero inoxidable
- Bandejas de plástico
- Olla de barro
- Cuchara de palo

### 3.3.7 Otros

- Cámara fotográfica
- Materiales de escritorio y oficina

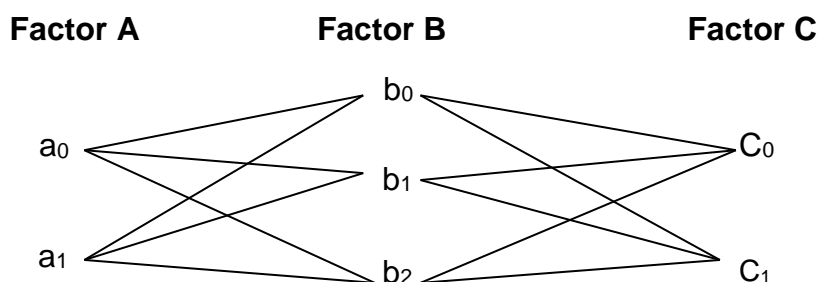
## 3.4 Tratamientos.

Los factores de estudios que intervinieron en el Método Conservación de la Pasta de Maní son los siguientes:

**Cuadro 2.** Descripción de los factores y niveles de estudio para el método conservación de la pasta de maní.

Factor	Simbología	Niveles
A (Temperatura de Almacenamiento)	a <sub>0</sub>	8° C
	a <sub>1</sub>	27° C
B (Tiempo de almacenamiento)	b <sub>1</sub>	15 días
	b <sub>2</sub>	30 días
	b <sub>3</sub>	45 días
C (Método de conservación)	c <sub>0</sub>	Sin conservante
	c <sub>1</sub>	Con conservante (0.1%)

Los mismos que resultaron de combinar los tres factores de estudio con sus respectivos niveles, resultando la combinación siguiente:



En el (cuadro 3) se detallan los tratamientos que se utilizaron en el Método de Conservación de la Pasta de Maní.

**Cuadro 3.** Arreglo factorial A x B x C para el Método de Conservación de la Pasta de Maní.

Tratamientos	Símbolo	Descripción
1	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	Pasta de maní almacenada a 8°C., en 15 días sin la adición de conservante.
2	a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	Pasta de maní almacenada a 8°C., en 15 días con la adición del 0.1% de conservante.
3	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	Pasta de maní almacenada a 8°C., durante 30 días sin la adición de conservante.
4	a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Pasta de maní almacenada a 8°C., durante 30 días con la adición del 0.1% de conservante.
5	a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> c <sub>0</sub>	Pasta de maní almacenada a 8°C., durante 45 días sin la adición de conservante.
6	a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	Pasta de maní almacenada a 8°C., durante 45 días con la adición del 0.1% de conservante.
7	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	Pasta de maní almacenada a 27°C., en 15 días sin la adición de conservante.
8	a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	Pasta de maní almacenada a 27°C., en 15 días con la adición del 0.1% de conservante.

9	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	Pasta de maní almacenada a 27°C., durante 30 días sin la adición de conservante.
10	a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	Pasta de maní almacenada a 27°C., durante 30 días con la adición del 0.1% de conservante.
11	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>0</sub>	Pasta de maní almacenada a 27°C., durante 45 días sin la adición de conservante.
12	a <sub>1</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub>	Pasta de maní almacenada a 27°C., durante 45 días con la adición del 0.1% de conservante.

### 3.5 Unidades experimentales

Las unidades experimentales para el Método de Conservación de la Pasta de Maní estuvo constituida de la siguiente manera:

Total de muestra:	6 Kg.
Total de muestra por tratamiento:	0.5 kg.
Tiempo en horas que demoró cada tratamiento	2
Número de tratamientos:	12
Número de repeticiones:	3
Unidades experimentales:	36
Pruebas de laboratorio:	36
Tiempo total en horas que se utilizó en los análisis de Aflatoxinas	5
Tiempo total en horas empleado en los análisis humedad	16
Tiempo total en horas utilizado en los análisis de pH	5
Tiempo total en horas que se utilizó en los análisis microbiológicos	200
Tiempo total en horas que se empleo para los análisis	228
Total de pruebas diarias:	12

**Siendo las características experimentales las siguientes:**

Número de tratamientos:	12
Número de repeticiones:	3
Unidades Experimentales:	36

### 3.6 Diseño experimental.

Se utilizó un Diseño Completamente el Azar (DCA) con arreglo factorial 2x3x2, siendo el primer factor (A) la temperatura de almacenamiento (8° C. y 27°C.), el segundo factor (B) el tiempo de almacenamiento (15, 30 y 45 días) y el tercer factor correspondió al método de conservante (Sin conservante y con conservantes), dando un total de 12 tratamientos. Se realizaron tres repeticiones por cada tratamiento dando como resultado 36 unidades experimentales, realizándose la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ), en los casos donde se detectó diferencia significativa.

#### 3.6.1 Análisis estadístico

Se realizó un Análisis de Varianza (ANDEVA), los tratamientos de la pasta de maní fueron separados con una separación de medias Tukey con un nivel de significancia de  $P < 0.05$ . Para estos análisis se utilizó el programa INFOSTAT.

#### 3.6.2 Análisis de la varianza (ADEVVA).

**Cuadro 4.** Esquema del Análisis de Varianza y arreglo factorial A\*B\*C en diseño completamente al azar.

<b>Factor de variación (FV)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	
Tratamientos	r-1	12
Factor A	a-1	1
Factor B	b-1	1
Factor C	c-1	2
Efecto (A X B)	(a-1)(b-1)	1
Efecto (A X C)	(a-1)(c-1)	2
Efecto (B X C)	(b-1)(c-1)	2
Efecto (A X B X C)	(a-1)(b-1)(c-1)	2
Error	(a.b.c-1)(n-1)	24
<b>TOTAL</b>		<b>35</b>

### **3.7 Mediciones experimentales**

Las mediciones experimentales que se realizaron en el Método de Conservación de la Pasta de Maní son las siguientes:

#### **3.7.1 Humedad.**

Se valoró el porcentaje de humedad de la pasta de maní a los 15, 30 y 45 días de almacenamiento en las tres repeticiones, para lo cual se lo realizó mediante el método por desecación con la utilización de la estufa con aire caliente.

#### **3.7.2 pH.**

Se evaluó el pH en la pasta de maní a los 15, 30 y 45 días de almacenamiento en las tres repeticiones, se lo efectuó a través del potenciómetro.

#### **3.7.3 Aflatoxinas.**

Se calculó los niveles de Aflatoxinas después de haber obtenido la pasta de maní a los 15, 30 y 45 días de almacenamiento en las tres repeticiones, para lo cual se lo realizó por método Microelisa.

#### **3.7.4 Aerobios Totales.**

Se determinó el porcentaje de aerobios totales una vez obtenida la pasta de maní a los 15, 30 y 45 días de almacenamiento en las tres repeticiones, realizándose mediante la Técnica de Petrifilm.

#### **3.7.5 Coliformes Totales.**

Se evaluó el porcentaje de coliformes totales a la pasta de maní en 15, 30 y 45 días de almacenamiento en las tres repeticiones, para lo cual se lo realizó mediante la Técnica de Petrifilm.

### 3.7.6 Hongos y Levaduras Totales.

Se calculó el porcentaje de hongos y levaduras una vez obtenida la pasta de maní en 15, 30 y 45 días de almacenamiento en las tres repeticiones, mediante la Técnica de Petrifilm.

## 3.8 Procedimiento experimental

Para el Método de Conservación de la Pasta de Maní, se utilizó un total de 6 Kg. de maní seleccionado, se procedió a tostarlo ( $180\pm 5^{\circ}\text{C}$  por 50 minutos). Posteriormente se realizó el descascarillado y limpieza, seguidamente se realizó la molienda en un molino tipo manual hasta obtener una pasta suave.

Luego se agregó a toda la pasta el 2% de sal en relación al peso, esto para mejorar el sabor. Posteriormente se adicionó el sorbato de potasio al 0.1%, el mismo que se lo utilizó como conservante, según como se indica en el (cuadro 5).

Por último se realizó el envasado, etiquetado y almacenado.

En la parte de control de calidad de la pasta de maní se realizaron los análisis físico – químico, microbiológicos y toxicológicos en función de los factores de estudio y variables a evaluarse. (Ver cuadro 2).

**Cuadro 5:** Formulación para la elaboración de la pasta de maní.

Materia prima y aditivos	Tratamientos: T2, T4, T6, T8, T10, T12		Tratamientos: T1, T3, T5, T7, T9, T11	
	%	Kg	%	Kg
Maní tostado	100	3.0	100	3.0
Sal	2	0.06	2	0.06
Sorbato de potasio	0.1	0.003	-	-

### **3.9 Descripción del procedimiento de las técnicas de análisis utilizados en el proceso de conservación de la pasta de maní.**

#### **3.9.1 Determinación de Humedad.**

Para la determinación de humedad en los Métodos de Conservación de la Pasta de Maní se procedió de la siguiente manera:

- La determinación se efectuó por duplicado.
- Se calentó el crisol de porcelana durante 30 min. en la estufa, en donde va a ser colocada la muestra, se dejó enfriar a temperatura ambiente y luego se pesó.
- Luego se homogenizó la muestra y se pesó 2 gr. con aproximación al 0.1 mg.
- El crisol y su contenido se llevó a la estufa a 130° C por dos horas.
- Transcurrido este tiempo se sacó y se dejó enfriar en el desecador por media hora.
- Luego se pesó con precisión.

#### **Cálculos:**

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

#### **Dónde:**

$W_0$  = Peso de la Muestra (gr.)

$W_1$  = Peso del crisol más la muestra después del secado.

$W_2$  = Peso del crisol más la muestra antes del secado

### **3.9.2 Determinación del Potencial de Hidrógeno (pH).**

En la determinación de pH en los Métodos de Conservación de la Pasta de Maní se procedió de la siguiente manera:

La determinación de pH se realizó con la ayuda de un potenciómetro.

- Primeramente verificó que el aparato este calibrado, de no estarlo, calibrar con solución de buffer conocida (4,7-10). Limpiar el exterior del electrodo con agua destilada, sacudirlo para remover burbujas de aire.
- Posteriormente se colocó en un vaso de precipitación la muestra preparada (10 g de muestra diluidos en 100 ml. de agua destilada), luego se sumergió el electrodo en la muestra, se esperó que se estabilice la lectura en el display para posteriormente proceder a registrarla.

### **3.9.3 Determinación de Aflatoxinas**

Para la determinación de Aflatoxinas en los Métodos de Conservación de la Pasta de Maní se la realizó mediante el método microelisa que es una prueba de competencia directa de enzima ligada inmunoabsorbente (ELISA). Las Aflatoxinas son extraídas de una muestra molida con 70% de metanol. La muestra extraída y la aflatoxina enzima-conjugado son mezclados y agregados al micropozo marcado con anticuerpos.

Las Aflatoxinas en las muestras y los estándares de control comienzan a competir con la aflatoxina enzima-conjugado por los sitios con anticuerpos en los micro pozos. Luego del paso de lavado o enjuague, se agrega una enzima sustrato y aparece una coloración azul. La intensidad del color es inversamente proporcional a la concentración de las Aflatoxinas en la muestra o el estándar.

Luego se agrega una solución STOP (PARAR) lo que hace que haya un cambio de coloración de azul a amarillo. Los micro pozos son medidos óptimamente usando un lector de micro pozos con un filtro de absorbancia de 450 nm (OD450). Las densidades ópticas de la muestra son comparadas con las densidades ópticas de los estándares y se determina un resultado.

## **Precauciones.**

- Guarde los reactivos a 2 - 8°C (35-45 °F) cuando no están siendo utilizados, y no use fuera de la fecha de expiración.
- Cumpla los tiempos de incubación indicados en el protocolo. El usar otros tiempos de incubación no recomendados en el protocolo puede dar resultados inexactos.
- El metanol es flameable. Se debe tener precaución con su almacenamiento y uso.
- La solución STOP contiene ácido. Evite el contacto con la piel y ojos. Si hay exposición lave con abundante agua.
- Considere todo el material, envases e instrumentos que estén expuestos a la muestra o a los estándares como contaminados con toxina. Utilice guantes protectores y anteojos de seguridad cuando use el kit.
- Elimine adecuadamente todo el material, envases e instrumentos luego de su uso.

## **Procedimiento.**

### Preparación de la muestra / Extracción

- Se obtuvo una muestra representativa, luego se pesó 20 g de la muestra molida y se la colocó en un envase limpio que pueda ser cerrado herméticamente.
- Luego agregó 100 mL de la solución 70/30 (v/v) metanol / agua y se cerró el envase. Nota: las muestras deben ser extraídas en una proporción de 1:5 de muestra por solución extraída respectivamente.
- Se Agitó o y se licuó por 3 minutos.
- Se dejó sedimentar la muestra y luego filtró el contenido superior del extracto usando un filtro Whatman #1. Nota: Los extractos de las diferentes matrices deben tener un pH de 6- 8. Condiciones muy alcalinas o ácidas pueden afectar los resultados de la prueba y deben ser ajustados antes de comenzar la prueba.

## La Prueba.

**Nota:** Todos los reactivos y componentes del kit deben estar a temperatura ambiente 18-30°C (64-86°F) antes de ser usados. Es recomendable usar una pipeta multi canal (de 8 canales).

- Se colocó el número apropiado de pozos de dilución marcados de azul en el soporte de pozos suministrado, un micro pozo por estándar y muestra.
- Se colocó igual número de pozos con anticuerpos en el otro soporte de pozos suministrado.

Regrese las tiras de micro pozos no utilizadas a la bolsa de aluminio junto con el desecante y selle la bolsa nuevamente. (Se recomienda marcar un extremo de los micro pozos con un marcador a prueba de agua. El pozo marcado deberá quedar en la primera posición).

- Se midió la cantidad requerida de Conjugado de la botella de tapa verde (240 µL/pozo o 2 ml/tira) y se colocó en un recipiente separado. Utilizando una pipeta multicanal se colocó 200 µL de Conjugado en cada pozo individual de dilución marcado de azul.
- Utilizando una pipeta individual se agregó 100 µL de cada estándar o muestra en cada pozo individual de dilución que contienen los 200 µL de conjugado. Utilizando una punta de pipeta nueva cada vez para cada estándar o muestra.

Nota: Asegúrese que la punta de la pipeta ha sido vaciada completamente.

Utilizando una pipeta multicanal con puntas nuevas se mezcló el contenido de cada pozo pipeteando de arriba hacia abajo unas tres veces e inmediatamente se transfirió 100 µL del contenido de cada micropozo de mezcla al correspondiente micropozo con anticuerpos. Se Incubó a temperatura ambiente por 15 minutos.

**Nota:** No mezcle los pozos agitando las placas ya que esto puede causar contaminación entre los pozos. Descarte o elimine el contenido de los micro pozos en un recipiente adecuado.

- Se lavó 5 veces los micro pozos llenando y descartando con agua destilada. Nota: tenga cuidado de no desprender las tiras del soporte de pozos durante el proceso de lavado. Se recomienda colocar un pedazo de cinta adhesiva en un extremo del soporte de plástico para mantener a las tiras en su lugar.
- Luego del último enjuague y descarte, se golpeó los micro pozos en toallas de papel absorbente (varias capas) sobre una superficie plana para eliminar la mayor cantidad de agua residual posible. Se secó la base de los micro pozos con las toallas de papel secas.
- Luego se midió la cantidad requerida de Substrato de la botella con tapa azul (120  $\mu$ l/pozo o 1 ml/tira) y se colocó en un recipiente separado se pipeteó 100  $\mu$ l de Substrato en cada micro pozo utilizando una pipeta multi canal. Incubar por 5 minutos.
- Se midió la cantidad necesaria de solución STOP de la botella con tapa roja y se colocó en un recipiente por separado (120  $\mu$ l/pozo o 1 ml/tira). Se pipeteó 100  $\mu$ L de solución Stop en cada micro pozo utilizando una pipeta multicanal. El color de la solución en el micro pozo debe cambiar de azul a amarillo.
- Los micro pozos están listos para ser leídos en un lector de micro placas utilizando un filtro de 450 nm. Se registró las lecturas de las densidades (OD) de cada micro pozo (si su lector no lo realiza automáticamente). Nota: Las burbujas de aire deben ser eliminadas antes de la lectura ya que pueden afectar los resultados analíticos.

#### **3.9.4 Análisis microbiológicos.**

Los análisis microbiológicos se realizaron mediante las técnicas petrifilm de 3M, para ello se debe tener en cuenta lo siguiente:

##### **Almacenamiento de los sobres petrifilm.**

- Almacene los paquetes cerrados a una temperatura  $\leq 8$  °C. Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que

los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos.

Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

- Para cerrar un paquete abierto, doble el extremo y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas.
- Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperatura  $\leq 25$  °C. No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos.

Utilice las Placas Petrifilm máximo un mes después de abierto el paquete.

### **Preparación de la muestra**

- Prepare una dilución de 1:10 de la muestra. Pasar o pipetear la muestra a un matraz erlenmeyer estéril.
- Adicione la cantidad apropiada de agua de peptona al 0.1 %.

#### **3.9.4.1 Recuento de Coliformes totales.**

##### **Inoculación:**

- Se colocó la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada, posteriormente se levantó la película superior.
- Con una pipeta se transfirió 1 ml. de la muestra en el centro de la película inferior.
- Se bajó con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire. No la deje caer.
- Con el lado liso hacia abajo, se colocó el dispersor en la película superior sobre el inóculo.
- Se presionó suavemente el dispersor para distribuir el inóculo sobre el área circular, antes de que solidifique el gel. No gire ni deslice el dispersor.

- Se levantó el dispersor. Espere, por lo menos un minuto, a que solidifique el gel.

#### **Incubación:**

- Se incubó las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.
- Las colonias pueden ser aisladas para su posterior identificación. Levante la película superior y tome la colonia del gel.
- Se incubó  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$  a  $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- Las Placas Petrifilm fueron observadas en un contador de colonias.

#### **3.9.4.2 Recuento Total de Hongos y Levaduras.**

- Se colocó la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior.
- Con una pipeta se colocó 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Se liberó la película superior dejando que caiga sobre la muestra.
- Sosteniendo la barra cruzada del dispersor para mohos y levaduras, se colocó sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Se presionó suavemente el dispersor para distribuir la muestra. No gire ni deslice el dispersor.
- Se levantó el dispersor. Espere por lo menos un minuto para permitir que se solidifique el gel y proceda a la incubación.
- Posteriormente se incubaron las placas, cara arriba en grupos de hasta 20 unidades entre  $20^{\circ}\text{C}$  y  $25^{\circ}\text{C}$  durante 3-5 días. Algunos mohos pueden crecer rápidamente, por lo que puede ser útil leer y contar las placas a los 3 días, ya que las colonias más pequeñas se verán más oscuras que los mohos ya crecidos a los 5 días. Si las placas presentan demasiado crecimiento al día 5, registre el resultado obtenido al día 3 como "estimativo".

- Las Placas Petrifilm se contaron en un contador de colonias estándar o con una fuente de luz amplificada.
- Se incubaron 5 días entre 21 °C y 25 °C.

#### **3.9.4.3 Recuento de Aerobios**

##### **Inoculación:**

- Se colocó la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Se levantó la película superior.
- Con una pipeta se colocó 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
- Se liberó la película superior dejando que caiga sobre la muestra.
- Con el lado rugoso hacia abajo, se colocó el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
- Posteriormente se presionó suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa
- Se levantó el dispersor o esparcidor. Se esperó por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

##### **Incubación.**

- Se incubó las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas por 48 h  $\pm$  3 h a 32°C  $\pm$  1°C. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

##### **Interpretación.**

- Las Placas Petrifilm se contaron en un contador de colonias. Las colonias pueden ser aisladas para su identificación posterior. Levante la película superior y recoja la colonia del gel.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1 Resultados

En base a los datos obtenidos se obtuvieron los siguientes resultados:

#### 4.1.1 Análisis físico-químico y microbiológico de la pasta de maní.

##### 4.1.1.1 Humedad.

Al realizar el análisis de varianza (anexo 1 - cuadro 6), cuyo coeficiente de variación es de 6,42, se puede observar que existe diferencia altamente significativa en los tratamientos, al igual que en los factores A (temperatura de almacenamiento) y B (tiempo de almacenamiento) y para el factor C (métodos de conservación) no existe diferencia significativa.

En las interacciones A\*B (temperatura de almacenamiento por tiempo de almacenamiento), existe diferencia altamente significativa; en la interacción B\*C (tiempo de almacenamiento por métodos de conservación), existe diferencia significativa, mientras que en las interacciones A\*C (temperatura de almacenamiento por método de conservación) y A\*B\*C (temperatura de almacenamiento por tiempo de almacenamiento por métodos de conservación), no existe diferencia significativa.

##### 4.1.1.2 Análisis para la determinación de ph.

Con los datos obtenidos en el laboratorio ( anexo 3), se calculó el análisis de varianza que se presenta en el (anexo 1 - cuadro 7), con un coeficiente de variación de 0,13 en el cual se determinó que existe diferencia altamente significativa en los tratamientos, en los factores A (corresponde a la temperatura de almacenamiento), B (corresponde al tiempo de almacenamiento), C (método de conservación) y en las interacciones A\*C ( correspondiente a la temperatura de almacenamiento por el método de conservación) y B\*C ( corresponde tiempo de almacenamiento por el método de conservación). Para las interacciones A\*B\*C (correspondiente a la

temperatura de almacenamiento por el tiempo de almacenamiento y por el método de conservación), existe diferencia significativa; mientras que en la interacción A\*B (que corresponde a la temperatura de almacenamiento por en tiempo de conservación) no existe diferencia significativa.

#### **4.1.1.3 Análisis para la determinación de aflatoxinas.**

Si se observa el análisis de varianza (anexo 1 - cuadro 8), cuyo coeficiente de variación es de 18,68, se puede determinar que existe diferencia altamente significativa en los tratamientos al igual que en los factores A, B y C; y, en las interacciones A\*B, A\*C, B\*C y A\*B\*C.

#### **4.1.1.4 Análisis para la determinación de bacterias aerobios totales.**

Luego de estudiar el análisis de varianza (anexo 1 - cuadro 9) con un coeficiente de variación de 16,61 se detectó que en los tratamientos y en los factores A y C, existe diferencia altamente significativa; para el factor B, existe diferencia significativa; mientras que para las interacciones A\*C, existe diferencia altamente significativa; en la interacción B\*C, existe diferencia significativa y en las interacciones A\*B y A\*B\*C, no existe diferencia significativa.

#### **4.1.1.5 Análisis para la determinación de coliformes totales.**

Al realizar el análisis de varianza para los factores (anexo 1 - cuadro 10), cuyo coeficiente de variación es 9.26, se determinó que existe diferencia altamente significativa en los tratamientos y en los factores B y C; mientras que en el factor A no existe diferencia significativa; en las interacciones A\*C, B\*C y A\*B\*C, existe diferencia altamente significativa y en la interacción A\*B no existe diferencia significativa.

#### **4.1.1.6 Análisis para la determinación de hongos y levaduras.**

Según el (cuadro 11) en el que se realizó el análisis de varianza con un coeficiente de variación de 30,42 se determinó que existe diferencia altamente

significativa en los tratamientos; no existe diferencia significativa en el factor A; mientras que, en los factores B y C existe diferencia altamente significativa. En lo referente a las interacciones A\*C no existe diferencia significativa, al contrario en las interacciones A\*B, B\*C y A\*B\*C, existe diferencia altamente significativa.

## 4.2 Discusiones.

En base a los resultados obtenidos se discute lo siguiente:

### 4.2.1 Humedad.

Al obtener diferencia altamente significativa entre tratamientos, se aplicó la prueba de tukey ( $P \leq 0,05$ ), con una diferencia mínima significativa de 0.33274 y un error de 0.0128 (anexo 1 - cuadro 12) obteniéndose la siguiente discusión: Los tratamientos T5, T7, T11y T8 se encuentran en un nivel de aceptación óptimo, ya que presentan porcentajes más bajo de humedad (1,46%, 1,48%, 1,53% respectivamente), dichos datos se aproximan con lo expuesto por **Macintosh/Barry/Parr/Litster (1977)**, donde indican que el porcentaje de humedad de la pasta de maní es inferior al 1%. Frente al tratamiento T3, que tiene el porcentaje más alto de humedad (2,29%).

### 4.2.2 pH.

Al realizar la prueba de tukey ( $P \leq 0,05$ ) con una diferencia mínima significativa de 0.02453 (anexo 2 - cuadro 13), se determinó que los tratamientos T5, T7, T3 y T1 (6,26%, 6,27% respectivamente) presentan un porcentaje de pH más alto, lo cual ayuda a inhibir la el crecimiento de microorganismos, al contrario de los tratamientos T10 y T4 (6,32% y 6,33% respectivamente) que los niveles de pH son los más bajos.

### 4.2.3 Aflatoxinas.

Al realizar la prueba de tukey ( $P \leq 0,05$ ), con una diferencia mínima significativa de 0,1298 (anexo 2 – cuadro 14), se determinó que los tratamientos T7, T2, T1, T8, T9 y T5 son aplicables en el método de conservación de la pasta de maní por no presentar aflatoxinas, con respecto al tratamiento T10 que presento el nivel más alto (1,17 ppb). Sin embargo se encuentran dentro de los parámetros indicados en la MERCOSUR/GMC/RES. N° 25/02, 2002, el cual

nos indica que el límite máximo admisible de aflatoxinas en la pasta de maní es de 20 ug/kg.

#### **4.2.4 Aerobios totales.**

Al realizar la prueba de tukey ( $P \leq 0,05$ ) con una diferencia mínima significativa de 169.03710 (anexo 2 – cuadro 15), se pudo determinar que los tratamientos T2, T4 y T6 ( $2.43 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ,  $2.52 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ,  $2.60 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ), se consideran aceptables por presentar los niveles más bajo de UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  con referencia al tratamiento T11 que está considerado como malo por presentar un nivel de contaminación más alto ( $6.53 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ). Relacionado con lo indicado por la Norma colombiana INVIMA expresa que los parámetros de los aerobios mesófilos es de 10000 UFC/gr. ó  $\text{cm}^3$  **Debido a que esta norma es para el maní.**

#### **4.2.5 Coliformes totales.**

Al aplicar la prueba de tukey ( $P \leq 0,05$ ) con una diferencia mínima significativa de 11.24224, (anexo 2 - cuadro 16), se obtuvo que los tratamientos T4, T3, T1, T2, T7, T1, T8, T9, T10, T12 y T6 están considerados como óptimos en los métodos de conservación de la pasta de maní puesto que no presentan contaminación de Coliformes, mientras que en el tratamiento T5 y T11 hay presencia ( $2.35 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  y  $2.50 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  respectivamente). Al relacionarlos con lo indicado por la Norma colombiana INVIM, se encuentran fuera de los límite de aceptación, ya que expresa que los parámetros para Coliformes debe ser  $< 3$  UFC/gr. ó  $\text{cm}^3$  **Debido a que esta norma es para el maní.**

#### **4.2.6 Hongos y levaduras.**

Al realizar la prueba de tukey al ( $P \leq 0,05$ ) con una diferencia mínima significativa 46.02719 (anexo 2 - cuadro 17), se determinó que los tratamientos T7, T8, T6, T2, T1, T10, T4 y T2 son los óptimos para el método de conservación de la pasta de maní ya que no presentan contaminación por

Hongos y levaduras, al contrario de los tratamiento T11 y T5 estarían considerados como malos dentro esta investigación por presentar los niveles más altos ( $2.10 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  y  $2.50 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  respectivamente). Los mismos, que al relacionarlos con lo indicado por la Norma colombiana INVIM, se encuentran dentro del límite de aceptación, ya que expresa que los parámetros para hongos y levaduras deben ser 300 UFC/gr. ó  $\text{cm}^3$ . **Esta norma es para el maní propiamente dicho.**

## V. CONCLUSIONES

El análisis de resultados y discusiones de las variables experimentales, nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

### 5.1 Humedad.

En lo referente al porcentaje de humedad se puede concluir que al no existir diferencia significativa en el factor C y en las interacción A\*C y A\*B\*C se acepta la hipótesis nula; lo que significa que, la adición de conservante no influye en el método de conservación de la pasta de maní, al igual que en las interacciones entre la temperatura de almacenamiento por la adición de conservantes y la temperatura de almacenamiento por tiempo de almacenamiento y el método de conservación.

Con respecto a los factores A y B, las interacciones A\*B , B\*C y en los tratamientos, existen diferencias altamente significativas y significativa respectivamente, por lo que se acepta la hipótesis alternativa, lo que significa que la temperatura y el tiempo de almacenamiento; al igual, que en las interacciones entre la temperatura de conservación por el tiempo de almacenamiento y el tiempo de almacenamiento por el método de conservación influyen en los métodos de conservación de la pasta de maní.

### 5.2 Ph.

En lo que se refiere al pH, no existe diferencia significativa en la interacción A\*B, en consecuencia se acepta la hipótesis nula, lo que quiere decir que al interactuar la temperatura con tiempo de almacenamiento no influye en el método de conservación de la pasta de maní.

Mientras que en los factores A, B y C, en las interacciones A\*C, B\*C y A\*B\*C al igual que en los tratamientos existe diferencias altamente significativa y significativa respectivamente por lo se acepta la hipótesis alternativa; lo que nos indica que, en la temperatura de almacenamiento, tiempo de

almacenamiento y métodos de conservación; al igual que, en las interacciones entre la temperatura de almacenamiento por los métodos de conservación; tiempo de almacenamiento por el método de conservación y en la interacción temperatura de almacenamiento, tiempo de almacenamiento por los métodos de conservación influyen en la conservación de la pasta de maní.

### **5.3 Aflatoxinas.**

En cuanto a los niveles de aflatoxinas, existe diferencia de altamente significativa en los factores A (temperatura de almacenamiento), B (tiempo de almacenamiento), C (métodos de conservación) y en las interacciones A\*B (temperatura de almacenamiento por el tiempo de almacenamiento), A\*C (temperatura de almacenamiento por los métodos de conservación), A\*B\*C (temperatura de almacenamiento, tiempo de almacenamiento por los métodos de conservación) y en los tratamientos, por lo que se acepta la hipótesis alternativa, es decir los factores de estudios, las interacciones y los tratamientos influyen en los métodos de conservación de la pasta de maní.

### **5.4 Aerobios totales.**

Referente a los aerobios totales no existe diferencia significativa en las interacciones A\*B y A\*B\*C, por lo que se acepta la hipótesis nula, es decir que al interactuar la temperatura de almacenamiento por el tiempo de almacenamiento y la temperatura de almacenamiento por el tiempo de almacenamiento y el método de conservación, no influyen conservación de la pasta de maní.

Para los factores A, B y C; y, las interacciones A\*C, B\*C y para los tratamientos existe diferencia altamente significativa y significativa respectivamente por lo que se acepta la hipótesis alternativa, lo que nos quiere decir que la temperatura y tiempo de almacenamiento al igual que los métodos de conservación y las interacciones temperatura de almacenamiento por los métodos de almacenamiento y el tiempo de almacenamiento por los métodos

de conservación y en cuanto a los tratamientos influyen en los métodos de conservación de la pasta de maní.

### **5.5 Coliformes totales.**

En lo referente a los Coliformes totales se puede concluir que para el factor A y la interacción A\*B no existe diferencia significativa, por lo que se acepta la hipótesis nula; es decir, que la temperatura de almacenamiento y en la interacción entre la temperatura por el tiempo de almacenamiento no influyen en los métodos de conservación de la pasta de maní.

En lo concerniente a los factores B (tiempo de almacenamiento), C (métodos de conservación) y las interacciones A\*C (temperatura de almacenamiento por métodos de conservación), B\*C (tiempo de conservación por los métodos de conservación), A\*B\*C (temperatura de almacenamiento, tiempo de almacenamiento por los métodos de conservación) y en los tratamientos, existe diferencia altamente significativa, lo que nos indica que influyen en el método de conservación de la pasta de maní.

### **5.6 Hongos y levaduras.**

En cuanto a la determinación de hongos y levaduras se puede concluir que el factor A (temperatura de almacenamiento) y la interacción A\*C (temperatura de almacenamiento por métodos de conservación) no existe diferencia significativa, es decir, no influyen en el método de conservación de la pasta de maní; mientras que, en los factores B (tiempo de almacenamiento), C (métodos de conservación) y en las interacciones A\*B (temperatura de almacenamiento por tiempo de almacenamiento), B\*C (tiempo de almacenamiento por métodos de conservación), A\*B\*C (temperatura de almacenamiento, tiempo de almacenamiento por los métodos de conservación) y en los tratamientos existe diferencia altamente significativa, lo cual influye en el métodos de conservación de la pasta de maní.

## VI. RECOMENDACIONES

En base a los resultados, discusiones y conclusiones de las variables evaluadas en el presente trabajo de investigación para los métodos de Conservación de la Pasta de Maní y a los datos obtenidos en el programa estadístico INFOSTAT nos permiten recomendar lo siguiente:

### **Humedad**

Debido a que la humedad es un factor de calidad en cuanto a la resistencia al deterioro se recomienda almacenar la pasta de maní a:

- 8°C por 45 días, sin la adición de conservantes.
- 27°C durante 15 días sin la adición de conservantes.
- 27°C durante 45 días sin la adición de conservantes.
- 27°C durante 15 días con la adición de conservantes.

Que presentan los porcentajes más bajos de humedad (1,46%; 1,48%; 1,53% y 1,54% respectivamente).

### **pH.**

Almacenar la pasta de maní a:

- 8°C durante 45 días, sin la adición de conservantes.
- 27°C durante 15 días sin la adición de conservantes.
- 8°C durante 30 días sin la adición de conservantes.
- 8°C durante 15 días, sin la adición de conservantes.

Por presentar los porcentajes más bajos de pH (6,26%; 6,27%; 6,27% y 6,27% respectivamente), lo cual favorecen a la no proliferación de microorganismos.

## **Aflatoxinas.**

Almacenar la pasta de maní a:

- 27°C durante 15 días, sin la adición de conservante.
- 8°C durante 15 días, con la adición de conservante.
- 8°C durante 15 días, sin la adición de conservante.
- 27°C durante 15 días, con la adición de conservante.
- 27°C durante 30 días, sin la adición de conservante.
- 8°C durante 45 días, con la adición de conservante.

Tratamientos que no presentan contaminación por aflatoxinas, lo cual no constituyen ningún riesgo de salud.

## **Aerobios totales.**

Almacenar la pasta de maní a:

- 8°C durante 15 días, con la adición de conservantes.
- 8°C durante 30 días, con la adición de conservantes.
- 8°C durante 45 días, con la adición de conservantes.

Ya que presentan menor número de unidades formadoras de colonias ( $2,4 \times 10^2$  ufc/gr ó  $\text{cm}^3$ ;  $2,5 \times 10^2$  ufc/gr ó  $\text{cm}^3$ ;  $2,6 \times 10^2$  ufc/gr ó  $\text{cm}^3$  respectivamente).

## **Coliformes totales.**

Almacenar la pasta de maní a:

- 8°C durante 30 días, con la adición de conservantes.
- 8°C durante 30 días, sin la adición de conservantes.
- 8°C durante 15 días, sin la adición de conservantes.
- 8°C durante 15 días, con la adición de conservantes.
- 27°C durante 15 días, sin la adición de conservantes.
- 27°C durante 15 días, con la adición de conservantes.

- 27°C durante 30 días, sin la adición de conservantes.
- 27°C durante 30 días, con la adición de conservantes.
- 27°C durante 45 días, con la adición de conservantes.
- 8°C durante 45 días, con la adición de conservantes.

Por presentar ausencia en las unidades formadoras de colonias, lo cual no constituye ningún riesgo de salud.

### **Hongos y levaduras.**

Al no presentar contaminación por hongos y levaduras se recomienda almacenar la pasta de maní a:

- 27°C durante 15 días, sin la adición de conservantes.
- 27°C durante 15 días, con la adición de conservantes.
- 27°C durante 30 días, con la adición de conservantes.
- 27°C durante 45 días, con la adición de conservantes.
- 8°C durante 45 días, con la adición de conservantes.
- 8°C durante 15 días, con la adición de conservantes.
- 8°C durante 15 días, sin la adición de conservantes.
- 8°C durante 30 días, con la adición de conservantes.

## VII. RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el proceso de conservación de la pasta de maní (*Arachis hypogaea*), cuyos factores de estudio son el tiempo de almacenamiento, la temperatura de almacenamiento y el método de conservación; las variables a evaluarse son la humedad, pH, aflatoxinas, aerobios totales, coliformes totales, hongos y levaduras.

Teniendo como características del experimento 12 tratamientos, 3 repeticiones, dando un total de 36 unidades experimentales.

Para el análisis estadístico se aplicó un Diseño Completamente al Azar (DCA), con arreglo factorial AXBXC; mientras que, para determinar la diferencia entre los niveles de los factores en los que hubo significancia se empleó la prueba de Tukey al 5%.

Se obtuvo como resultados, diferencias altamente significativas en los tratamientos aceptándose la hipótesis alternativa.

**Con respecto a la humedad**, los tratamientos T5, T7, T11 y T8 se encuentran en un nivel de aceptación óptimo, ya que presentan porcentajes más bajo de humedad (1,46%, 1,48%, 1,53% respectivamente), dichos datos no están se aproximan con lo expuesto por **Macintosh/Barry/Parr/Litster (1977)**, donde indican que el porcentaje de humedad de la pasta de maní es inferior al 1%. Frente al tratamiento T3, que tiene el porcentaje más alto de humedad (2,29%).

**Para el pH**, se determinó que los tratamientos T5, T7, T3 y T1 (6,26%, 6,27% respectivamente) presentan un porcentaje de pH más alto, lo cual ayuda a inhibir el crecimiento de microorganismos, al contrario de los tratamientos T10 y T4 (6,32% y 6,33% respectivamente) que los niveles de pH son los más bajos.

**En los niveles de aflatoxinas**, se estableció que los tratamientos T7, T2, T1, T8, T9 y T5 son aplicables en el método de conservación de la pasta de maní por no presentar aflatoxinas, con respecto al tratamiento T10 que presentó el nivel más alto (1,17 ppb). Sin embargo se encuentran dentro de los parámetros indicados en la **MERCOSUR/GMC/RES. N° 25/02, 2002**, el cual nos indica que el límite máximo admisible de aflatoxinas en la pasta de maní es de 20 ug/kg.

**Para las bacterias Aerobias totales**, se determinó que los tratamientos T2, T4 y T6 ( $2.43 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ,  $2.52 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ,  $2.60 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ), se considerados aceptables por presentar los niveles más bajo de UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ , con referencia al tratamiento T11 que está considerado que presenta una contaminación más alto ( $6.53 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$ ). Relacionado con lo indicado por la **Norma colombiana INVIMA** expresa que los parámetros de los aerobios mesófilos es de 10000 UFC/gr. ó  $\text{cm}^3$  Debido a que esta norma es para el maní.

Con respecto a **los coliformes totales**, los tratamientos T4, T3, T1, T2, T7, T1, T8, T9, T10, T12 y T6 no presentaron contaminación de coliformes, mientras que en los tratamiento T5 y T11 ( $2.35 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  y  $2.50 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  respectivamente) existe contaminación. Al relacionarlos con lo indicado por la **Norma colombiana INVIM**, se encuentran fuera de los límite de aceptación, ya que expresa que los parámetros para Coliformes debe ser  $< 3$  UFC/gr. ó  $\text{cm}^3$  Debido a que esta norma es para el maní.

Y para los **Hongos y Levaduras**, los tratamientos T7, T8, T6, T2, T1, T10, T4 y T2 son los óptimos para el método de conservación de la pasta de maní ya que no presentan contaminación por estos microorganismos, al contrario de los tratamiento T11 y T5 que se los considera malos r los niveles más altos ( $2.10 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  y  $2.50 \times 10^2$  UFC/gr ó  $\text{cm}^3$  respectivamente). Los mismos, que al relacionarlos con lo indicado por la **Norma colombiana INVIM**, se encuentran dentro del límite de aceptación, ya que expresa que los parámetros para hongos y levaduras deben ser 300 UFC/gr. ó  $\text{cm}^3$ . Esta norma es para el maní propiamente dicho.

## VIII. SUMMARY

The present investigation has as aim evaluate the process of conservation of the pasta of peanut (*Arachis hypogaea*), whose factors of study are the time of storage, the temperature of storage and the method of conservation; the variables to be evaluating are the dampness, pH, aflatoxinas, aerobic total, coliformes total, fungi and yeasts.

Taking as characteristics of the experiment 12 treatments, 3 repetitions, giving a total of 36 experimental units.

For the statistical analysis (DCA) applied a Design to himself completely at random, with arrangement factorial AXBXC; whereas, to determine the difference between the levels of the factors in those who existed significancia Tukey's test was used to 5%.

It was obtained as results, highly significant differences in the treatments the alternative hypothesis being accepted.

With regard to the dampness, the treatments T5, T7, T11 and T8 are in an ideal level of acceptance, since they present percentages more down dampness (1,46 %, 1,48 %, 1,53 % respectively), the above mentioned information is not comes closer with exposed by Macintosh/Barry/Parr/Litster (1977), where they indicate that the percentage of dampness of the pasta of peanut is lower than 1 %. Opposite to the treatment T3, which has the highest percentage of dampness (2,29 %).

For the pH, one determined that the treatments T5, T7, T3 and T1 (6,26 %, 6,27 % respectively) present a percentage of pH higher, which helps to disable the growth of microorganisms, unlike the treatments T10 and T4 (6,32 % and 6,33 % respectively) that the levels of pH are the lowest.

In the levels of aflatoxinas, it was found that the treatments T7, T2, T1, T8, T9 and T5 are applicable in the method of conservation of the pasta of peanut for

not presenting aflatoxinas, with regard to the treatment T10 that I present the highest level (1,17 ppb). Nevertheless they are inside the parameters indicated in the MERCOSUR/GMC/RES. N ° 25/02, 2002, which indicates us that the maximum admissible limit of aflatoxinas in the pasta of peanut is of 20 ug/kg.

For the Aerobic total bacteria, one determined that the treatments T2, T4 and T6 ( $2.43 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup>,  $2.52 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup>,  $2.60 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup>), considered acceptable for presenting the levels more down UFC/gr ó cm<sup>3</sup>, with reference to the treatment T11 that it is thought that he presents a pollution higher ( $6.53 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup>). Related to the indicated for the Colombian Norm INVIMA it expresses that the parameters of the aerobic mesófilos it is 10000 UFC/gr. ó cm<sup>3</sup> Due to the fact that this norm is for the peanut.

With regard to the total coliformes, the treatments did not present pollution of coliformes, whereas in the tratamiento T5 and T11 ( $2.35 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup> and  $2.50 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup> respectively) pollution exists. On having related them to the indicated for the Colombian Norm INVIM, are they out of the límite of acceptance, since it expresses that the parameters for Coliformes it must be? 3 UFC/gr. ó cm<sup>3</sup> Due to the fact that this norm is for the peanut.

And for the Fungi and Yeasts, the treatments T7, T8, T6, T2, T1, T10, T4 and T2 are the ideal ones for the method of conservation of the pasta of peanut since they do not present pollution by these microorganisms, unlike the tratamiento T11 and T5 that are considered to be villains r the highest levels ( $2.10 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup> and  $2.50 \times 10^2$  UFC/gr ó cm<sup>3</sup> respectively). The same ones, who on having related them to the indicated for the Colombian Norm INVIM, are inside the limit of acceptance, since it expresses that the parameters for fungi and yeasts must be 300 UFC/gr. ó cm<sup>3</sup>. This norm is for the peanut in strict sense

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- **Amaya/Julca, 2006.** *Arachis hypogaea L. Var. Peruviana.* Gobierno Regional la Libertad (GRLL). Consultado el 28 de abril del 2009. Disponible [www.regionlalibertad.gob.pe/web/.../manual%20de%20maní.pdf](http://www.regionlalibertad.gob.pe/web/.../manual%20de%20maní.pdf).
- **Barbosa, s/f.** Conservación de alimentos. Consultado el 18 de agosto del 2009. Disponible en: [www.monografias.com/trabajos11/.../consal.shtml](http://www.monografias.com/trabajos11/.../consal.shtml)
- **Cabal, Estean, 1999.** Aditivo alimentario. Consultado el 22 de agosto del 2009. Disponible en: [es.wikipedia.org/wiki/Aditivo\\_alimentario](http://es.wikipedia.org/wiki/Aditivo_alimentario).
- **Casp, Abril, s/f.** Tecnología de los alimentos. Proceso de Conservación de los Alimentos. Segunda edición. Disponible en la biblioteca de la UTEQ.
- **Durán F., 2006.** Volumen del campo. Manual del ingeniero de alimento. Grupo Latino. Pág. 111.Colombia.483p. Disponible en la Biblioteca de la UTEQ.
- **El rincón del vago, 1998.** Métodos de Conservación de Alimentos. Consultado el 19 de agosto del 2009. Disponible en: [html.rincondelvago.com/conservacion-de-alimentos\\_4.html](http://html.rincondelvago.com/conservacion-de-alimentos_4.html).
- **Fonseca, 1998.** Crema de Cacahuete. Consultado el 3 de enero del 2009. Disponible en: [www.fcs.uga.edu/pubs/.../FDNS-E-30-español.html](http://www.fcs.uga.edu/pubs/.../FDNS-E-30-español.html).
- **Frazeir/ Westhoff, 2003.** Microbiología de los Alimentos. Cuarta edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España). Disponible en la biblioteca de la UTEQ.
- **Gaia, 2008.** Alimentación - Aditivos en los alimentos. Consultado el 3 de mayo del 2009. Disponible en:[www.ecologiasocialnqn.org.ar/alimentos2](http://www.ecologiasocialnqn.org.ar/alimentos2)

- **Macintosh/Barry/Parr/Litster, 1977.** La Enciclopedia Libre. Mantequilla de maní Consultado el 28 de abril del 2009. Disponible en: [es.wikipedia.org/wiki/Mantequilla\\_de\\_maní](http://es.wikipedia.org/wiki/Mantequilla_de_maní)
- **Matas, 2008.** El pH en la conservación de alimentos. Consultado el 22 de agosto del 2008. Disponible en: [www.aulachocovic.es/docs/articles/ph.pdf](http://www.aulachocovic.es/docs/articles/ph.pdf)
- **MERCOSUR/GMC/RES. N° 25/02, 2002.** Reglamento Técnico. Consultado el 28 de mayo del 2009. Disponible en: [www.mercosur.int/.../Res\\_025\\_002\\_RTM\\_Aflatoxinas%20en%20Lech-Maní-Maíz\\_Acta%202\\_02.PDF](http://www.mercosur.int/.../Res_025_002_RTM_Aflatoxinas%20en%20Lech-Maní-Maíz_Acta%202_02.PDF).
- **Nielsen, 2 007.** Análisis de los Alimentos. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España. Disponible en la biblioteca UTEQ.
- **Norma Venezolana 409, 1998.** Alimentos. Principios generales para el establecimiento de criterios microbiológicos (1ª. revisión). Caracas, Venezuela: Ministerio de Fomento; 1998.
- **Odar Reanato, 2 008,** Carnes La pagina de la Industria Alimentaria. Consultado el 30 de enero del 2010. Disponible en [industrias-alimentarias.blogspot.com](http://industrias-alimentarias.blogspot.com). Lima
- **Pearson, 2006.** Química de los alimentos, cuarta edición, México. Disponible en la biblioteca UTEQ.
- **Puleva Salud 2007,** Conservación de los alimentos. Consultado del 28 de febrero del 2010. Disponible en: [www.pulevasalud.com/ps/contenido.jsp?ID](http://www.pulevasalud.com/ps/contenido.jsp?ID)
- **Rojas V. s/f.** Telmeds -Las aflatoxinas y la salud humana. Consultado el 20 de agosto del 2009, disponible en: [www.telmeds.org/modules.php?name=News](http://www.telmeds.org/modules.php?name=News).

- **Terranova, 1995.** Enciclopedia Agrícola. Editorial Terranova. Tomo I. Producción Agrícola. Pág. 149, 150. Colombia. 278p. Villachica. 1996. Disponible en la biblioteca UTEQ.
- **Yao/Butterworth/Wu, 2004.** Wikipedia, la enciclopedia libre. *Arachis hypogaea*. Consultado el 4 de noviembre del 2008. Disponible en: [es.wikipedia.org/wiki/Arachis\\_hypogaea](http://es.wikipedia.org/wiki/Arachis_hypogaea)

## X. ANEXOS

**Anexo 1.** Análisis de varianza para los factores.

**Cuadro 6.** Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para la humedad.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tratamientos</b>	2,52	11	0,23	17,94**	<0,0001
<b>A</b>	0,16	1	0,16	12,32**	0,0018
<b>B</b>	2,02	2	1,01	78,97**	<0,0001
<b>C</b>	0,00	1	0,00	0,00NS	0,9535
<b>A*B</b>	0,19	2	0,10	7,44**	0,0031
<b>A*C</b>	0,00	1	0,00	0,28NS	0,6004
<b>B*C</b>	0,12	2	0,06	4,56*	0,0210
<b>A*B*C</b>	0,04	2	0,02	1,39NS	0,2690
<b>Error</b>	0,31	24	0,01		
<b>Total</b>	2,83	35			
<b>CV</b>	6,42				

Fuente: Ramos. 2010

**Cuadro 7.** Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para el pH.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tratamientos</b>	0,01	11	0,00	18,89**	<0,0001
<b>A</b>	0,00	1	0,00	7,84**	0,0099
<b>B</b>	0,01	2	0,00	51,96**	<0,0001
<b>C</b>	0,00	1	0,00	51,84**	<0,0001
<b>A*B</b>	0,00	2	0,00	2,92NS	0,0733
<b>A*C</b>	0,00	1	0,00	10,24**	0,0038
<b>B*C</b>	0,00	2	0,00	9,00**	0,0012
<b>A*B*C</b>	0,00	2	0,00	5,08**	0,0145
<b>Error</b>	0,00	24	0,00		
<b>Total</b>	0,02	35			
<b>CV</b>	0,13				

Fuente: Ramos. 2010

**Cuadro 8.** Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para los niveles de aflatoxinas.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tratamientos</b>	4,48	11	0,41	209,29**	<0,0001
<b>A</b>	0,02	1	0,02	11,57**	0,0023
<b>B</b>	1,12	2	0,56	289,00**	<0,0001
<b>C</b>	1,32	1	1,32	680,14**	<0,0001
<b>A*B</b>	0,36	2	0,18	93,00**	<0,0001
<b>A*C</b>	0,05	1	0,05	24,14**	<0,0001
<b>B*C</b>	0,73	2	0,37	188,14**	<0,0001
<b>A*B*C</b>	0,87	2	0,43	223,00**	<0,0001
<b>Error</b>	0,05	24	0,00		
<b>Total</b>	4,52	35			
<b>CV</b>	18,68				

Fuente: Ramos. 2010

**Cuadro 9.** Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para las bacterias aerobias.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tratamientos</b>	540310,67	11	49119,15	14,90**	<0,0001
<b>A</b>	188645,44	1	188645,44	57,22**	<0,0001
<b>B</b>	26771,17	2	13385,58	4,06*	0,0303
<b>C</b>	185186,78	1	185186,78	56,17**	<0,0001
<b>A*B</b>	9768,72	2	4884,36	1,48NS	0,2474
<b>A*C</b>	91607,11	1	91607,11	27,79**	<0,0001
<b>B*C</b>	22469,39	2	11234,69	3,41*	0,0498
<b>A*B*C</b>	15862,06	2	7931,03	2,41NS	0,1116
<b>Error</b>	79127,33	24	3296,97		
<b>Total</b>	619438,00	35			
<b>CV</b>	16,61				

Fuente: Ramos. 2010

**Cuadro 10.** Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para los Coliformes totales.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tratamientos</b>	292218,75	11	26565,34	1821,62**	<0,0001
<b>A</b>	6,25	1	6,25	0,43NS	0,5189
<b>B</b>	122512,50	2	61256,25	4200,43**	<0,0001
<b>C</b>	56406,25	1	56406,25	3867,86**	<0,0001
<b>A*B</b>	12,50	2	6,25	0,43NS	0,6563
<b>A*C</b>	156,25	1	156,25	10,71**	0,0032
<b>B*C</b>	112812,50	2	56406,25	3867,86**	<0,0001
<b>A*B*C</b>	312,50	2	156,25	10,71**	0,0005
<b>Error</b>	350,00	24	14,58		
<b>Total</b>	292568,75	35			
<b>CV</b>	9,26				

Fuente: Ramos. 2010

**Cuadro 11.** Análisis de la Varianza (SC Tipo III) para los hongos y levaduras.

<b>F.V.</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>Valor p</b>
<b>Tratamientos</b>	266363,89	11	24214,90	99,06**	<0,0001
<b>A</b>	69,44	1	69,44	0,28NS	0,5989
<b>B</b>	82038,89	2	41019,44	167,81**	<0,0001
<b>C</b>	95069,44	1	95069,44	388,92**	<0,0001
<b>A*B</b>	3538,89	2	1769,44	7,24**	0,0035
<b>A*C</b>	69,44	1	69,44	0,28NS	0,5989
<b>B*C</b>	82038,89	2	41019,44	167,81**	<0,0001
<b>A*B*C</b>	3538,89	2	1769,44	7,24**	0,0035
<b>Error</b>	5866,67	24	244,44		
<b>Total</b>	272230,56	35			
<b>CV</b>	30,42				

Fuente: Ramos. 2010

**Anexo 2.** Prueba de tukey al 0,05 para determinar al mejor tratamiento.

**Cuadro 12.** Prueba de tukey al 0,05 para el análisis la humedad.

**Test: Tukey Alfa: 0,05      DMS: 0,33274**

**Error: 0,0128      gl: 24**

Tratamientos	Medias	n				
5	1,46	3	A			
7	1,48	3	A			
11	1,53	3	A			
8	1,55	3	A			
6	1,55	3	A	B		
12	1,59	3	A	B		
1	1,75	3	A	B	C	
2	1,87	3		B	C	
10	1,99	3			C	D
4	2,03	3			C	D
9	2,04	3			C	D
3	2,29	3				D

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Cuadro 13.** Prueba de tukey al 0,05 para el análisis de pH.

**Test : Tukey Alfa: 0,05      DMS: 0,02453**

**Error: 0,0001      gl: 24**

Tratamientos	Medias	n				
5	6,26	3	A			
7	6,27	3	A			
3	6,27	3	A			
1	6,27	3	A			
11	6,28	3	A	B		
8	6,28	3	A	B		
6	6,28	3	A	B		
2	6,28	3	A	B		
12	6,29	3	A	B		
9	6,31	3		B	C	
10	6,32	3				C
4	6,33	3				C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Cuadro 14.** Prueba de tukey al 0,05 para el análisis de aflatoxinas.

**Test: Tukey Alfa: 0,05 DMS: 0,12981**

Error: 0,0019 gl: 24

Tratamientos	Medias	n					
7	0,00	3	A				
2	0,00	3	A				
1	0,00	3	A				
8	0,00	3	A				
9	0,00	3	A				
5	0,00	3	A				
11	0,10	3	A	B			
3	0,17	3		B			
12	0,30	3			C		
4	0,37	3			C		
6	0,73	3				D	
10	1,17	3					E

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Cuadro 15.** Prueba de tukey al 0,05 para el análisis de aerobios totales.

**Test: Tukey Alfa: 0,05 DMS: 169,03710**

Error: 3296,9722 gl: 24

Tratamientos	Medias	n					
2	243,33	3	A				
4	252,67	3	A				
6	260,00	3	A				
1	278,33	3	A	B			
3	291,00	3	A	B			
10	293,33	3	A	B			
12	294,33	3	A	B			
8	300,00	3	A	B			
5	314,33	3	A	B			
7	434,00	3		B	C		
9	533,33	3			C	D	
11	653,33	3					D

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Cuadro 16.** Prueba de tukey al 0,05 para el análisis de coliformes totales.

**Test: Tukey Alfa: 0,05 DMS: 11,24224**

Error: 14,5833 gl: 24

Tratamientos	Medias	n			
3	0,00	3	A		
4	0,00	3	A		
1	0,00	3	A		
2	0,00	3	A		
7	0,00	3	A		
8	0,00	3	A		
9	0,00	3	A		
10	0,00	3	A		
12	0,00	3	A		
6	10,00	3	A		
5	235,00	3		B	
11	250,00	3			C

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Cuadro 17.** Prueba de tukey al 0,05 para el análisis de hongos y levaduras.

**Test: Tukey Alfa: 0,05 DMS: 46,02719**

Error: 244,4444 gl: 24

Tratamientos	Medias	n			
7	0,00	3	A		
8	0,00	3	A		
6	0,00	3	A		
2	0,00	3	A		
1	0,00	3	A		
10	0,00	3	A		
4	0,00	3	A		
12	0,00	3	A		
3	50,00	3		B	
9	106,67	3			C
11	210,00	3			D
5	250,00	3			D

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ )

**Anexo 3.** Resultados de los análisis de la pasta de maní, realizados en el laboratorio de Bromatología de la UTEQ.

**Cuadro 18.** Datos obtenidos a los 15, 30 y 45 días de haber almacenado la pasta de maní, con sus respectivas repeticiones.

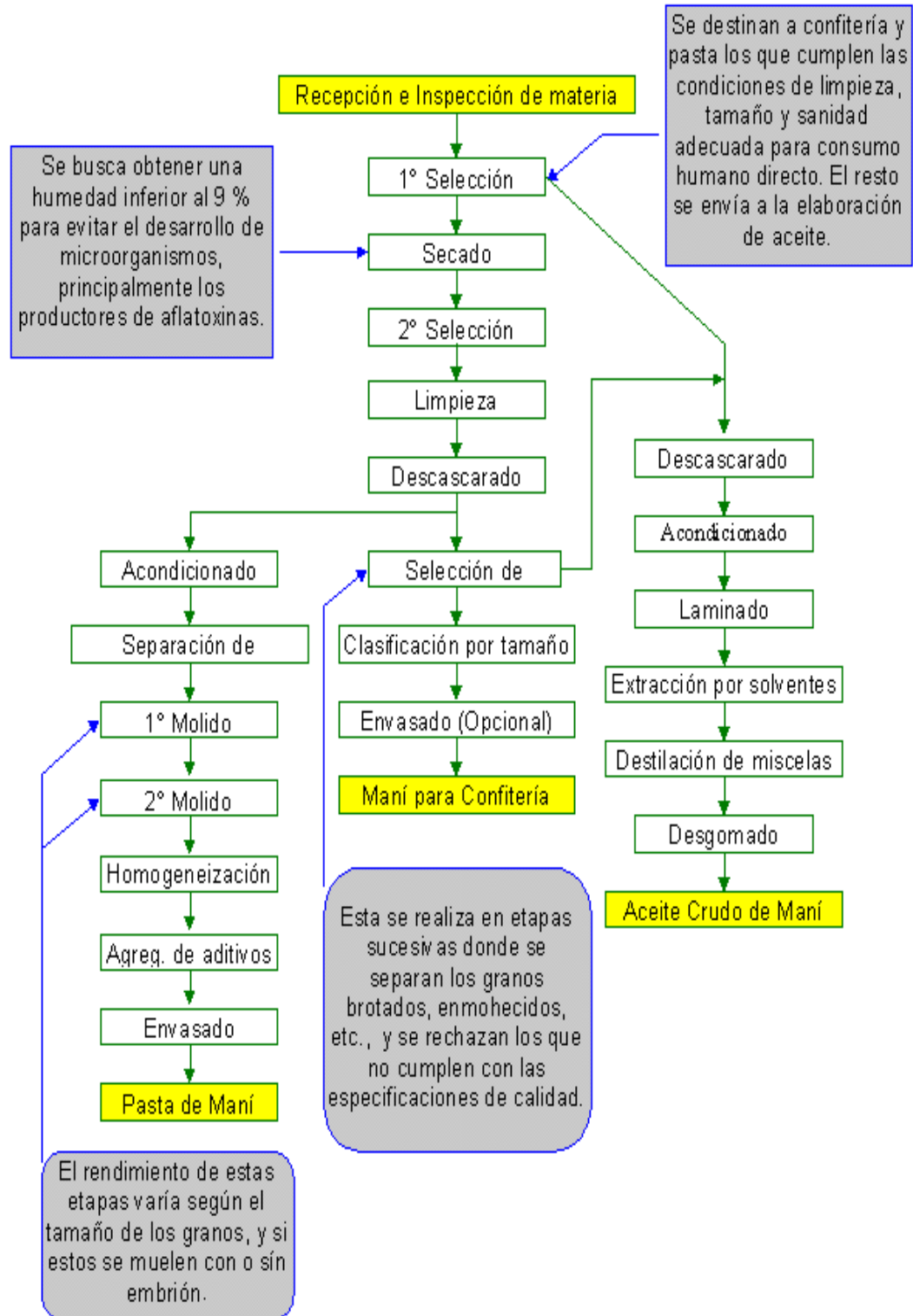
<b>Resultados a los 15 días de haber almacenado la pasta de maní</b>																			
TRATAMIENTOS	HUMEDAD (%)			pH			AFLATOXINAS (ppb)			AEROBIOS TOTALES (ufc/gr ó cm)			COLIFORMES TOTALES (ufc/gr ó cm)			HONGOS Y LEVADURAS (ufc/gr ó cm)			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	1,67	1,88	1,70	6,27	6,27	6,28	0	0	0	300	235	300	0	0	0	0	0	0	
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	1,99	1,64	2	6,29	6,28	6,28	0	0	0	230	250	250	0	0	0	0	0	0	
a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub>	1,68	1,34	1,42	6,29	6,25	6,27	0	0	0	400	382	520	0	0	0	0	0	0	
a <sub>1</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub>	1,38	1,76	1,5	6,28	6,29	6,28	0	0	0	380	300	220	0	0	0	0	0	0	
<b>Resultados a los 30 días de haber almacenado la pasta de maní.</b>																			
TRATAMIENTOS	HUMEDAD (%)			pH			AFLATOXINAS (ppb)			AEROBIOS TOTALES (ufc/gr ó cm)			COLIFORMES TOTALES (ufc/gr ó cm)			HONGOS Y LEVADURAS (ufc/gr ó cm)			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	2,38	2,25	2,25	6,27	6,27	6,28	0,2	0,2	0,1	300	250	323	0	0	0	50	50	50	
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	2,01	2,04	2	6,33	6,33	6,33	0,4	0	0,3	250	283	225	0	0	0	0	0	0	
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub>	2,09	2,01	2,01	6,31	6,30	6,31	0,0	0	0,0	630	450	520	0	0	0	100	120	100	
a <sub>1</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub>	2,00	1,98	2	6,33	6,31	6,33	1,1	1,0	1,1	380	280	220	0	0	0	0	0	0	

**Resultados a los 45 días de haber almacenado la pasta de maní.**

TRATAMIENTOS	HUMEDAD (%)			pH			AFLATOXINAS (ppb)			AEROBIOS TOTALES (ufc/gr ó cm)			COLIFORMES TOTALES (ufc/gr ó cm)			HONGOS Y LEVADURAS (ufc/gr 'o cm)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
<b>a<sub>0</sub>b<sub>2</sub>c<sub>0</sub></b>	1,40	1,58	1,40	6,26	6,27	6,26	0	0	0	300	320	323	225	250	230	250	250	250
<b>a<sub>0</sub>b<sub>2</sub>c<sub>1</sub></b>	1,57	1,54	1,5	6,29	6,28	6,28	0,7	1	0,7	225	230	325	10	10	10	0	0	0
<b>a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>c<sub>0</sub></b>	1,59	1,50	1,50	6,29	6,28	6,28	0,1	0,1	0,1	657	580	723	250	250	250	150	230	250
<b>a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>c<sub>1</sub></b>	1,67	1,59	1,50	6,28	6,29	6,29	0,3	0,3	0,3	280	321	282	0	0	0	0	0	0

**Anexo 4.** Diagrama de proceso para la elaboración de la pasta de maní.

**Figura 1.** Diagrama de proceso para la elaboración de la pasta de maní.



**Anexo 5.** Modelo matemático utilizado para obtener las fuentes de variación en el Método de Conservación de la Pasta de Maní.

$$Y_{ijk_l} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \lambda_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\lambda)_{ik} + (\beta\lambda)_{jk} + (\alpha\beta\lambda)_{ijk} + \varepsilon_{ijk_l}$$

**Dónde:**

$Y_{ijk}$  = El modelo total de una observación

$\mu$  = Media de una población

$\alpha_i$  = Efecto de los niveles del factor A.

$\beta_j$  = Efecto de los niveles del factor B.

$\lambda_k$  = Efecto de los niveles del factor C.

$(\alpha\beta)_{ij}$  = Efecto de la interacción entre los niveles del factor A por los niveles del factor B.

$(\alpha\lambda)_{ik}$  = Efecto de la interacción entre los niveles del factor A por los niveles del factor C.

$(\beta\lambda)_{jk}$  = Efecto de la interacción entre los niveles del factor B por los niveles del factor C.

$(\alpha\beta\lambda)_{ijk}$  = Efecto de la interacción entre los niveles del factor A por los niveles del factor B y por los niveles del factor C.

$\varepsilon_{ijk}$  = Efecto aleatorio (error experimental).

## **Anexo 6. Reglamento Técnico MERCOSUR sobre límites máximos de aflatoxinas admisibles en leche, maní y maíz**

### **REGLAMENTO TÉCNICO MERCOSUR SOBRE LÍMITES MÁXIMOS DE AFLATOXINAS ADMISIBLES EN LECHE, MANÍ Y MAÍZ**

#### **1. ALCANCE**

##### **1.1. Objetivo**

El presente Reglamento establece los límites máximos admisibles de aflatoxinas en leche fluida, leche en polvo, maní, maní en pasta, maíz en grano y harina o sémola de maíz para consumo humano, así como los planes de muestreo y métodos de análisis correspondientes.

##### **1.2. Ámbito de aplicación**

El presente Reglamento se aplica a leche fluida, leche en polvo, maní, maní en pasta, maíz en grano y harina o sémola de maíz comercializados en el territorio de los Estados Partes, entre ellos y las importaciones extrazonas.

#### **2. REFERENCIAS**

**2.1** "Sampling plans for aflatoxin analysis in peanuts and corn", FAO Food and Nutrition Paper 55, 1993.

**2.2** Association of Official Analytical Chemists. 1990 "Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists", 15 th ed.

**2.3** Norma FIL-IDF 50 B 1985 "Métodos de muestreo para leche y productos lácteos".

**2.4** Norma ISO 950: 1979 "Cereal - Sampling (as grain)".

2.5 Waltking, A.E. 1980. "Sampling and Preparation of Samples of Peanut Butter for Aflatoxin Analysis". J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63: 103 - 106.

### 3. REQUISITOS

#### LIMITES MÁXIMOS ADMISIBLES DE CONCENTRACIÓN DE AFLATOXINAS ALIMENTO AFLATOXINA LÍMITE

ALIMENTO	AFLATOXINA	LÍMITE
4. Leche		
4.1. Leche fluida	M1	0,5 µg/L
4.2. Leche en polvo	M1	5,0 µg/kg
5. Maíz		
5.1. Maíz en grano B1+B2+G1+G2 20 µg/kg (entero, partido, aplastado, mondado)	B1+B2+G1+G2	20 µg/kg
5.2. Harinas de sémolas de maíz		
6. Maní		
6.1. Maní B1+B2+G1+G2 20 µg/kg (sin descascarar, descascarados, crudo o tostado)		
6.2. Maní en pasta ( pasta de maní o manteca de maní)	B1+B2+G1+G2	20 µg/kg

### 7. MÉTODOS DE MUESTREO

#### 7.1. Leche

Para la recolección de muestras de leche en polvo y leche fluida se utilizará la norma FILIDF 50 B: 1985 "Métodos de muestreo para leche y productos lácteos" y/o sus actualizaciones. Las muestras de leche fluida o en polvo serán

subdivididas en un mínimo de tres submuestras. Las submuestras de leche fluida se conservarán congeladas; las submuestras de leche en polvo se almacenarán en envases no permeables, a humedad relativa máxima de 60% y temperatura máxima de 25° C. El tamaño de la alícuota de leche en polvo para análisis será 25 g (en lugar de los 5 g indicados en el procedimiento AOAC 980.21, 1990) los que serán disueltos en 250 ml y homogeneizados; de esta suspensión se tomará una alícuota de 50 ml y se continuará como se indica en el procedimiento citado.

## **7.2. Maíz y Maní**

Los planes de muestreo de maíz y de maní se basarán en las recomendaciones de "Sampling plans for aflatoxin analysis in peanuts and corn", FAO Food and Nutrition Paper 55, 1993 y se utilizará la norma de muestreo ISO 950: 1979 "Cereal - Sampling (as grain)". La muestra de maíz para laboratorio (de 5 kg) será molida a malla 20 en su totalidad, homogeneizada y posteriormente submuestreada en un mínimo de tres partes. Podrá tomarse una cuarta submuestra para análisis de rutina.

La muestra de maní para laboratorio (de 5 kg) será transformada en una pasta homogénea o molida a malla 14, en su totalidad, homogeneizada y posteriormente dividida en un mínimo de tres partes. Podrá tomarse una cuarta submuestra para análisis de rutina. Las muestras y submuestras de maní y maíz recogidas serán almacenadas en envases de papel, algodón u otro material a humedad relativa máxima de 60% y temperatura máxima de 25° C.

## **7.3. Harina de Maíz**

Para producto envasado: Se compondrá una muestra por lote de 50 toneladas o menor. Se recogerá al azar un número de unidades igual a la raíz cuadrada del número de bultos que componen el lote o el 1 % (uno por ciento) de los mismos, optándose por el menor de ellos. Cuando el número de unidades calculado sea fraccionario, se tomará el número entero superior. De cada una de las unidades se extraerá un mínimo de 50 g. Estas alícuotas se

homogeneizarán y al menos 300 g se dividirán en tres submuestras. Podrá tomarse una cuarta submuestra para análisis de rutina.

Para producto a granel: Se procederá como se indicó en el párrafo 4.2. para maíz a granel.

#### **7.4. Maní en Pasta (pasta de maní o manteca de maní)**

Se utilizará el procedimiento de muestreo descrito en la referencia (2.5).

### **8. MÉTODOS DE ANÁLISIS**

#### **5.1. Métodos de Análisis de Referencia**

**5.1.1. Leche.-** Para la determinación de aflatoxina M1 en leche fluida y leche en polvo se utilizará el procedimiento AOAC 980.21, publicado en la referencia (2.2) y/o sus respectivas actualizaciones. El control de las soluciones estándares se hará según el procedimiento AOAC 970.44 y 971.22, de la misma publicación.

**5.1.2. Maíz.-** Para la determinación de aflatoxinas totales (B1+B2+G1+G2) en maíz y en harina o sémola de maíz, se utilizará el procedimiento AOAC 968.22, citado en la referencia (2.2) y/o sus respectivas actualizaciones. El control de las soluciones estándares se hará según el procedimiento AOAC 970.44 y 971.22, de la misma publicación.

**5.1.3. Maní.-** Para la determinación de aflatoxinas totales (B1+B2+G1+G2) en maní y pasta de maní, se utilizará el procedimiento AOAC 970.45 publicado en la referencia (2.2) y/o sus respectivas actualizaciones. El control de las soluciones estándares se hará según el procedimiento AOAC 970.44 y 971.22, de la misma publicación.

**5.2. Métodos de Análisis de Rutina.-** Para la determinación de aflatoxinas en leche fluida y leche en polvo, maíz, harina de maíz, maní y pasta de

maní, se utilizarán los procedimientos de rutina usuales en cada país, que estén validados internacionalmente.

## **9. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO DE LOTE**

- 9.1.** Si en el análisis de la primera submuestra de maíz, harina de maíz, maní o pasta de maní, el resultado es igual o menor que 20 µg/kg de aflatoxinas totales, se aceptará el lote. Si el resultado del análisis es superior a 20 µg/kg de aflatoxinas totales, se rechazará el lote.
- 9.2.** Si en el análisis de la primera submuestra de leche, el resultado es igual o menor que 0,5 µg/L de aflatoxina M1 para leche fluida o de 5,0 µg/kg de aflatoxina M1 para leche en polvo se aceptará el lote. Si el resultado del análisis es superior a los valores mencionados, se rechazará el lote.
- 9.3.** En el caso de que el lote fuera rechazado en el primer análisis, a requerimiento de la parte interesada, el laboratorio que realizó el primer análisis, efectuará el análisis a la segunda submuestra, en presencia de los peritos técnicos indicados por las partes interesadas.
- 9.4.** . En caso de haber discordancia entre los resultados analíticos de la primera y de la segunda submuestra, podrá ser realizado por el mismo laboratorio, el análisis de la tercer submuestra, siendo su resultado inapelable.
- 9.5.** En el análisis de la segunda y tercera submuestra se adoptarán los mismos criterios de aceptación o rechazo de lote establecidos en los numerales 6.1 y 6.2 de esta Resolución.

**Anexo 7.** Normas microbiológicas colombianas.







**Anexo 8.** Fotos del proceso de elaboración de la pasta de maní.

**Figura 2.** Recepción de la materia prima.



**Figura 3.** Selección y pesado de la materia prima.



**Figura 4. Tostado**



**Figura 5. Descascarillado y pelado**



**Figura 6. Molido**



**Figura 7. Pesado de ingredientes (sorbato de potasio y sal).**



**Figura 8.** Mezclado de ingredientes.



**Figura 9.** Pesado, envasado y rotulado.



**Figura 10.** Almacenado a 27° C y 8° C

