

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**



**DETERMINACION DE DEOXINIVALENOL (DON) EN MAIZ (*Zea mays*)
MEDIANTE EL METODO DE INMUNOADSORCION ENZIMATICA (ELISA)
COMPETITIVO**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

LUIS OVALDO ALMAZAN ALVAREZ

HECTOR GIOVANNI MONTERROSA AGUILAR

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA

DICIEMBRE 2019

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

ING. FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIO

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

M.Sc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

Directora General de Procesos de Graduación

TRIBUNAL CALIFICADOR

ASESOR(A) DE AREA EN:

INDUSTRIA DE ALIMENTOS Y TOXICOLOGÍA:

MAE. Nancy Zuleyma González Sosa

**CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS Y
COSMÉTICOS:**

M.Sc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía

DOCENTE ASESOR

Lic. Juan Agustín Cuadra Sorto

AGRADECIMIENTOS

A directora general de procesos de graduación y Tribunal Calificador: M.Sc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez, MAE. Nancy Zuleyma González Sosa y M.Sc. Eliseo Ernesto Ayala Mejía por sus observaciones y recomendaciones en el desarrollo de nuestra investigación.

A nuestro Docente Asesor: Licdo. Juan Agustín Cuadra Sorto por su dedicación, su dirección, sus observaciones y recomendaciones durante todo el proceso de nuestro trabajo.

Al Laboratorio de Análisis Bromatológico por poner a disposición sus instalaciones, materiales y equipo para el desarrollo de la parte práctica de nuestra investigación.

DEDICATORIA

Agradezco principalmente a Dios todo poderos y a la santísima virgen maría por haberme permitido culminar mi carrera y por sus innumerables bendiciones en cada momento de mi vida.

Dedico este triunfo a mis papas, Roberto Almazán y Eliz del Carmen Álvarez por su apoyo incondicional en cada momento, por sus consejos y por estar en las situaciones que más lo necesitaba; a mis hermanos y hermanas principalmente a Dilma quien me brindo su ayuda desde el inicio de mi carrera y a quien hoy puedo decir misión cumplida. Los amo con todo mi corazón

Agradezco a mi compañero de tesis Héctor Monterrosa (pollo), con quien compartimos momentos difíciles durante la carrera, gracias por tu paciencia y por compartir tus conocimientos conmigo te deseo abundantes bendiciones en tu vida.

Así también agradezco a todas aquellas personas que fueron formando parte de este proceso entre ellas Karen Ferman, Mercedes Aquino, Norma Monroy, Héctor Monterrosa (pollo), Sonia Landaverde, Jorge Maldonado gracias por su amistad que Dios los bendiga siempre.

Luis Ovaldo Almazán Álvarez

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por permitirme culminar mi carrera, por siempre cuidarme y darme la sabiduría e inteligencia necesaria para poder vencer cualquier adversidad, por siempre sostener mi mano a pesar de todo, por bendecir mi vida y la de mi familia.

A mis padres Sandra Claribel Aguilar de Monterrosa y William Monterrosa por ser los mejores padres que Dios me pudo otorgar, por todo su apoyo, su comprensión, por todo su amor, por siempre animarme a seguir adelante y poder lograr esta meta, sin Dios y sin ellos esto no hubiera sido posible. A mi hermana Yesenia Claribel Monterrosa Aguilar, mis sobrinos Roberto Eduardo y Fernando Alberto por todo su amor, por ser un motor para mí. A mis demás familiares por todo su apoyo y comprensión.

A las chompipas (Karencita, Menshe, Normiya, Sonia), a mis amigos y compañeros que fueron parte de esta aventura, por su apoyo, por su ayuda, por siempre estar ahí cuando se necesitan, por aclararme todas las dudas, por todas esas carcajadas, por todos los momentos alegres y también tristes, gracias totales. A la familia Herrera-Vega por todo su apoyo han sido de bendición en mi vida.

A mi compañero de tesis Luis Almazán por ser parte de este viaje a veces alegre, a veces triste y muchas veces estresante, pero lo logramos, por aguantarme y mucho, por tenerme paciencia, por su dedicación a este trabajo, por compartir su conocimiento conmigo, éxitos y bendiciones en tu vida.

Héctor Giovanni Monterrosa Aguilar

INDICE

	Pág.
RESUMEN	
CAPITULO I	
1.0 INTRIDUCCION	xvi
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEORICO	20
3.1 MAIZ	20
3.1.1 VARIEDAD	20
3.2 MICOTOXINA	21
3.2.1 DEFINICION	21
3.3 DEOXINIVALENOL (DON)	23
3.3.1 CARACTERISTICAS DEL COMPUESTO	23
3.4 TOXICOLOGIA	26
3.4.1 TOXICOCINETICA	26
3.4.2 TOXICIDAD AGUDA Y SUBAGUDA	26
3.4.3 MECANISMO DE TOXICIDA	28
3.5 HUMEDAD	30
3.5.1 DEFINICION	30
3.5.2 HUMEDAD DEL MAIZ	32
3.6 INMUNOENSAYO	33
3.6.1 CLASES DE INMUNOENSAYOS	33

3.6.2	ENSAYO INMUNOADSORBENTE LIGADO A ENZIMAS (ELISA)	34
3.6.3	ELISA COMPETITIVO	35
CAPITULO IV		
4.0	DISEÑO METODOLOGICO	36
4.1	TIPO DE ESTUDIO	36
4.1.1	EXPLORATORIO	36
4.1.2	EXPERIMENTAL	36
4.1.3	TRANVERSAL	36
4.1.4	INVESTIGACION BIBLIOGRAFICA	36
4.1.5	INVESTIGACION DE CAMPO	37
4.2	HIPOTESIS	38
4.2.1	HIPOTESIS NULA	38
4.2.2	HIPOTESIS ALTERNATIVA	38
4.3	PARTE EXPERIMENTAL	39
4.3.1	TRATAMIENTO DE LA MUESTRA	39
4.3.2	DETERMINACION DE HUMEDAD, METODO AOAC 925.10	39
4.3.3	TRATAMIENTO DE LA MUESTRA PARA DETERMINACION DE DON	40
4.3.4	CUANTIFICACION DE DON POR EL METODO DE INMUNOADSORCION ENZIMATICA (ELISA), METODO DIRECTO	40
4.3.5	ANALISIS DE DATOS	42
CAPITULO V		
5.0	RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	46
5.1	LISTA DE CHEQUEO	46

5.1.1	DESCRIPCION DE PARAMETROS Y ESCALA DE RIESGO	47
5.1.2	CONDICIONES DE LOCAL	49
5.1.3	ALMACENAMIENTO DE MAIZ	50
5.1.4	LUGAR DE ALMACENAMIENTO	51
5.1.5	TIPO DE ACONDICIONAMIENTO	53
5.1.6	RIESGOS TOTALES	55
5.2	DETERMINACION DE HUMEDAD	56
5.3	DETERMINACION DE DON EN PPM	60
5.4	RELACION ENTRE PORCENTAJE DE HUMEDAD Y CONCENTRACION DE TOXINA	64
5.5	ANALISIS DE CONSUMO DIARIO PROMEDIO DE TOXINA POR UN SALVADOREÑO	65
5.5.1	CANTIDAD DE TOXINA PRESENTA EN ALICUOTA TOMADA	66
5.5.2	CANTIDAD DE TOXINA PRESENTE EN MUESTRA	66
5.5.3	CANTIDAD DE TOXINA PRESENTE EN CANTIDAD PROMEDIO DE CONSUMO DE MAIZ POR UN SALVADOREÑO	67
5.5.4	INGESTA DIARIA TOLERABLE (TDI) PARA UN SALVADOREÑO	67
CAPITULO VI		
6.0	CONCLUSIONES	68
CAPITULO VII		
7.0	RECOMENCACIONES	69
	BIBLIOGRAFIA	
	GLOSARIO	
	ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°

1. ESTRUCTURA QUIMICA DE DEOXINIVALENOL	24
2. METABOLISMO DE DON	27
3. REPRESENTACION GRAFICA DE CONDICIONES DE LOCAL	49
4. REPRESENTACION GRAFICA DE ALMACENAMIENTO DE MAIZ.	50
5. GRAFICA DE RIESGO DE LUGAR DE ALMACENAMIENTO	52
6. GRAFICA DE RIESGO DE TIPO DE ACONDICIONAMIENTO	54
7. REPRESENTACION DE ESCALDE DE RIESGOS TOTALES POR ESTABLECIMIENTO	55
8. GRAFICA DE DISPERSION DE %HUMEDAD VS MUESTRA	57
9. GRAFICA DE CONCENTRACION DE DON PPM VS MUESTRAS	61
10. CORRELACION ENTRE EL PORCENTAJE DE HUMEDAD Y CONCENTRACION DE TOXINA	64

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°

- | | |
|---|----|
| 1. METODOS MAS USADOS PARA LA DETERMINACION DE HUMEDAD | 30 |
| 2. NORMATIVA RTCA 65.05.53.10 INSUMOS AGROPECUARIOS, REQUISITOS PARA LA PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DE SEMILLA CERTIFICADA DE GRANOS BASICOS Y SOJA | 32 |

INDICE DE TABLAS

TABLA N°

1. PUNTAJE DE CRITERIOS EN BASE A ESCALA DE RIESGO	46
2. PUNTAJE DE RIESGO PARA CRITERIO DE LUGAR DE ALMACENAMIENTO	51
3. PUNTAJE DE RIESGO PARA CRITERIO DE TIPO DE ACONDICIONAMIENTO	53
4. CONTENIDO DE HUMEDAD EN MUESTRAS ANALIZADAS POR MERCADO	56
5. ESTADISTICAS DESCRIPTIVAS DE %HUMEDAD	58
6. RESULTADOS EN PPM DE DON EN MAIZ COMERCIALIZADO EN EL MERCADO COLON Y MERCADO CENTRAL	60
7. ESTADISTICAS DESCRIPTIVAS DE LA CONCENTRACION DE DON EN PPM	62
8. RESULTADOS DE PRUEBA DE TUKEY	64

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. ETIQUETA DE IDENTIFICACION DE MUESTRA
2. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA PARA DETERMINACION DE
DEOXINIVALENOL
3. DETERMINACION DE DEOXINIVALENOL POR EL METODO ELISA
COMPETITIVO
4. MINITAB 18
5. FORMATO DE LISTA DE CHEQUEO PARA IDENTIFICAR RIESGOS
6. DATOS BRUTOS DE LISTA DE CHEQUEO
7. ANALISIS DE RIESGO DE CADA PARAMETRO DE LISTA DE
CHEQUEO
8. ANALISIS DE VARIANZA

RESUMEN

En el presente trabajo se investigó la determinación de Deoxinivalenol (DON) mediante el método de inmunoadsorción enzimática (ELISA) competitivo, en maíz comercializado en el Mercado Colón y el Mercado Central del Municipio de Santa Ana.

Se realizó una investigación bibliográfica donde se estudiaron los conceptos referentes al análisis de Deoxinivalenol (DON), el porcentaje de humedad relativa que permite la proliferación de mohos productores de micotoxina y los límites de Deoxinivalenol (DON) establecidos por la Food and Agriculture Organization (FAO), así como el fundamento de las pruebas de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) y el efecto que esta presenta sobre la salud.

Se realizó un sondeo previo para determinar el número de establecimientos en cada mercado, en los cuales se realizó un muestreo aleatorio simple y a través de una lista de chequeo se determinó la información sobre las condiciones de almacenamiento del maíz (*Zea mays*).

El trabajo experimental se realizó en el periodo de agosto y septiembre del 2018 en el laboratorio de Análisis Bromatológico de la Facultad de Química y farmacia de la Universidad de El Salvador, analizando un total de veinte (20) muestras de maíz por duplicado a las cuales se les determino el porcentaje de humedad relativa y el contenido de Deoxinivalenol (DON) en ppm.

Los resultados se tabularon estadísticamente mediante la prueba de distribución T student y se compararon con los límites establecidos por la FAO, observándose que las muestras presentan valores de Deoxinivalenol (DON) muy por debajo de 0.75 ppm limite que establece la normativa.

El trabajo de investigación demostró que las muestras de maíz analizadas son aptas para el consumo humano y que el método ELISA para cuantificación de

micotoxinas, refleja resultados rápidos y confiables para la determinación de contaminantes producidos por mohos.

I. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial los cereales constituyen la base de la alimentación de las personas y los animales de ahí que cada vez se aumentan su producción. Con frecuencia los cereales se pueden contaminar con micotoxinas entre las que se encuentra Deoxinivalenol (DON) que pueden dañar la salud de la población.

Durante el desarrollo y crecimiento, los cultivos de maíz pueden presentar diversos peligros que son fácilmente detectados como son las sequías, las inundaciones, las plagas y otras que no son perceptibles por el ser humano como la contaminación por micotoxinas, comprometiendo la inocuidad del alimento.

Los granos de maíz pueden infectarse con diferentes hongos productores de micotoxinas (metabolitos secundarios), representando un peligro para la salud tanto de humanos como de animales.

Durante la etapa de producción del maíz, las condiciones climatológicas favorecen el desarrollo de mohos toxigénicos como el *Fusarium graminearum*, que es productor de la toxina *Deoxinivalenol* (DON) una micotoxina del grupo de los tricotecenos, una de las micotoxinas más difundidas de los cereales, que se puede encontrar en cereales de invierno y en granos de maíz. Se estima que el 25% de la producción mundial de alimentos es afectada por hongos productores de micotoxinas. La Deoxinivalenol (DON) ocasiona brotes de síndromes eméticos, náuseas, vómitos, dolores abdominales, diarrea, mareos y cefaleas. Investigaciones realizadas entre los años 2010 y 2013 sobre la contaminación de micotoxinas en cereales y subproductos de cereales, mostró que el maíz es el cultivo más contaminado en el mundo.

Por lo tanto la investigación pretendió cuantificar la presencia de DON en el grano de maíz (*Zea mays*), por el método de inmunoabsorción enzimática ELISA tipo competitivo, distribuido en los mercados Colón y Central de la ciudad de Santa

Ana ; donde se realizó un sondeo previo para determinar el número de establecimientos en cada mercado, en los cuales se realizó un muestreo aleatorio simple y a través de una lista de chequeo se determinó información sobre las condiciones de almacenamiento del maíz (*Zea mays*).

Uno de los factores que favorece la contaminación de micotoxinas en cereales es la humedad, por lo que se determinó el porcentaje de humedad presente en las muestras de maíz (*Zea mays*), según el método AOAC 925.10 se tomó el porcentaje de humedad relativa con un termohigrómetro en los establecimientos.

Las determinaciones de DON por el método de ELISA se analizaron por duplicado. Los datos se tabularon estadísticamente mediante la prueba de distribución T student comparando los resultados obtenidos con los límites de tolerancias permitidos por la FAO, en el que especifica que no debe ser mayor 750 mg/Kg, análisis de varianza ANOVA.

El muestreo se realizó en el mes de agosto de 2018 y las muestras se analizaron en el laboratorio de análisis Bromatológico de la facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- 2.1.1. Determinar Deoxinivalenol (DON) en el maíz (*Zea mays*) mediante el método de inmunoadsorción enzimática (ELISA) competitivo.

2.2 Objetivos específicos

- 2.2.1 Verificar las condiciones de almacenamiento del maíz (*Zea mays*) de los mercados en estudio mediante una lista de chequeo.
- 2.2.2 Calcular el contenido de humedad de las muestras de maíz (*Zea mays*) recolectadas en el mercado “Colón” y mercado “Central” de la ciudad de Santa Ana, Santa Ana
- 2.2.3 Analizar por el método de ELISA competitivo directo el contenido de Deoxinivalenol (DON) en el grano de maíz (*Zea mays*) recolectado.
- 2.2.4 Comparar los resultados obtenidos en cuanto al contenido de Deoxinivalenol con los límites establecidos por la FAO.
- 2.2.5 Utilizar el método estadístico T student, ANOVA y la prueba de Tuckey para el análisis de datos del porcentaje de humedad y la contaminación de DON.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. MAÍZ

El maíz (*Zea mays L.*) pertenece a la familia de las gramíneas, tribu maideas, y se cree que se originó en los trópicos de América Latina, especialmente los géneros *Zea*, *Tripsacum* y *Euchlaena*, cuya importancia reside en su relación fitogenética con el género *Zea*.

El maíz es el rubro de mayor importancia dentro de la canasta alimenticia básica de la población salvadoreña. Según FAO, el consumo per cápita por año es alrededor de 80.51 kilogramos en el área urbana y 127 kilogramos en el área rural, siendo de los mayores consumos del área centroamericana, pues el 95% de la producción lo utiliza para consumo humano. Según la Dirección General de Economía Agropecuaria (DGEA), durante el ciclo agrícola 2009-2010, la superficie sembrada con maíz fue de 374,128 manzanas (261,889 hectáreas) con una producción de más de 17 millones de quintales, y un rendimiento de 46.2 quintales por manzana. Bajo condiciones climáticas adecuadas o mediante el aporte del riego, el maíz es el más productivo de los cereales y la rentabilidad aumenta cuando se utilizan cultivares mejorados en condiciones favorables y manejo adecuado. (6)

3.1.1 VARIEDAD. (2)

El Gobierno de El Salvador, a través del Ministro de Agricultura y Ganadería (MAG) y del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (CENTA), entrega a los agricultores salvadoreños dos nuevas opciones para mejorar la producción de granos básicos y garantizar el alimento de las familias salvadoreñas, esta son las variedades de maíz: CENTA ASG y CENTA CS con alto potencial de rendimiento y calidad proteica.

En cambio, la variedad CENTA CS es un grano blanco con alta calidad proteica, que resalta su potencial de rendimiento de 88 quintales por manzana y su alta calidad nutricional en comparación a los maíces tradicionales.

El maíz común posee un 10.23% de proteína y el CENTA CS 10.34%; el maíz común tiene 0.04% de triptófano y el CENTA CS 0.09%; mientras que el índice de calidad de los maíces comunes es de 0.40 y el CENTA CS 0.89, datos obtenidos y comprobados a través de análisis nutricional del grano en el Laboratorio de Química Agrícola del CENTA; lo que lo hace un material biofortificado, es decir variedades más nutritivas que aportan mayor cantidad de nutrientes a la población.

El CENTA, desde el Programa de Granos Básicos, continúa investigando y desarrollando nuevas tecnologías resistentes al cambio climático, adaptándolas ante las nuevas inclemencias y variabilidades para reducir los impactos negativos que ataca al sector productivo, con el propósito de contribuir al aumento de la producción y productividad de los granos básicos, área estratégica contemplada en el Plan Quinquenal de Desarrollo 2014 – 2019.

3.2 MICOTOXINAS ⁽²⁴⁾

3.2.1 Definición

Según una definición reciente las micotoxinas son "metabolitos fúngicos cuya ingestión, inhalación o absorción cutánea reduce la actividad, hace enfermar o causa la muerte de animales (sin excluir las aves) y personas". Las micotoxinas suelen formarse al final de la fase exponencial o al principio de la fase estacionaria del crecimiento del moho. Las micotoxinas, que derivan de las palabras griegas *mikes* y *toxina*, que significa hongo y veneno respectivamente,

son compuestos que tienen lugar cuando la fase de crecimiento llega a su etapa final y durante la fase estacionaria. Son moléculas relativamente pequeñas ($PM < 700$).

La mayor parte de estos metabolitos secundarios se originan en la ruta policetónica. Las micotoxinas son un grupo heterogéneo de sustancias químicas que tienen efectos negativos agudos y/o crónicos sobre la salud de los seres humanos y de los animales.

Las micotoxinas se encuentran en diversos alimentos y piensos y se han relacionado con diversas enfermedades de animales y personas. La exposición a micotoxinas puede producir toxicidad tanto aguda como crónica, con resultados que van desde la muerte a efectos nocivos en los sistemas nervioso central, cardiovascular y respiratorio y en el aparato digestivo.

Las micotoxinas pueden también ser agentes cancerígenos, mutágenos, teratógenos e inmunodepresores. Actualmente está muy extendida la opinión de que el efecto más importante de las micotoxinas, particularmente en los países en desarrollo, es la capacidad de algunas micotoxinas de obstaculizar la respuesta inmunitaria y, por consiguiente, de reducir la resistencia a enfermedades infecciosas.

Las micotoxinas son objeto de interés mundial debido a las importantes pérdidas económicas que acarrearán sus efectos sobre la salud de las personas, la productividad de los animales y el comercio nacional e internacional. Por ejemplo, se ha calculado (Miller, comunicación personal), que en los Estados Unidos de América y el Canadá, las pérdidas anuales debidas a los efectos de las micotoxinas en las industrias forrajeras y ganaderas son del orden de 5 000 millones de dólares.

En los países en desarrollo, donde los alimentos básicos (como el maíz y el maní) son susceptibles de contaminación, la población se verá probablemente afectada

de forma significativa por la morbilidad y las muertes prematuras relacionadas con las micotoxinas.

3.3 Deoxinivalenol (DON). (28)

3.3.1 Características del compuesto

En la década del 50 el akababi o envenenamiento fúngico rojo (Red moldpoisoning) se registró en algunas áreas rurales de Japón y en el sur de Corea, permitiendo el inicio de la investigación sobre la causa de la enfermedad. La micotoxina responsable, Deoxinivalenol (DON), se aisló por primera vez por Morooka en 1973 denominándola toxina roja (red toxin). Yoshizawa, en 1973, dilucidó la estructura química y lo red denominó 4-deoxinivalenol; en el mismo año, Vesonder aisló el mismo compuesto como una sustancia emética presente en el maíz contaminado con *Fusarium graminearum*. Esta sustancia había causado rechazo del alimento y vómitos en cerdos, por lo que la denominó Vomitoxina. Entre los años 1980 y 1982, en el noreste de EEUU y en el este de Canadá se detectó trigo altamente contaminado con DON, este hallazgo llamó la atención de los investigadores hacia las micotoxinas de las especies del género *Fusarium*.

En la misma década se detectó un brote importante en el Valle de Cachemira (India) por el consumo de trigo contaminado con esta micotoxina, y realizando un estudio retrospectivo se observó que al menos 7.818 personas habían consumido este cereal contaminado, sin que haya sido encontrada documentación de fallecimientos. Los tricotecenos son una familia de sesquiterpenoides, la mayoría posee un núcleo tetracíclico con doble ligadura en el C-9,10 y un anillo epoxi en C-12,13. Los tricotecenos están divididos en cuatro grupos (A-B-C-D) de acuerdo a los grupos sustituyentes funcionales. El tipo B, al cual pertenece DON, tiene una función carbonilo en la posición C-8. Además, posee tres grupos OH y un

grupo ceto insaturado en posición α , β . Por lo tanto, el nombre químico es 12,13-epoxi-3 α ,7 β ,15-trihidroxi tricotec-9-ene-8-ona. Su peso molecular es de 296.3 g mol⁻¹, y corresponde a la fórmula molecular C₁₅H₂₀O₆. El DON cristaliza como agujas sin color con un punto de fusión de 151-153 °C, su rotación específica está determinada como $[\alpha]_{20 D}$: +6.35. El espectro UV no es muy característico, aunque la molécula posee una absorción a longitud UV de 254 nm (onda corta) debido a la función ceto insaturada en posición α , β .

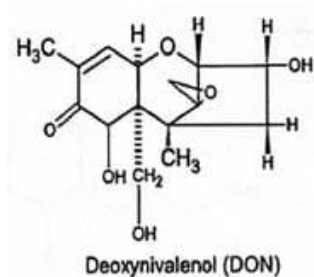


Figura N° 1 Estructura química de Deoxinivalenol (DON) (8).

El DON es relativamente soluble en agua y altamente soluble en solventes polares acuosos como metanol, acetonitrilo y acetato de etilo. En forma de polvo (cristales) o en solución es estable al aire, a la luz o a ambos. Esta micotoxina es estable a 121 °C, por 15 min a 1 atm (autoclave) y moderadamente estable a 180 °C; se logra una completa inactivación a 370 °C por 10 min o a 205 °C por 30 min.

Se mantiene estable bajo condiciones medianamente ácidas y la inactivación química del DON se logra con una solución de hipoclorito de sodio al 3-5%. El DON es una micotoxina perteneciente a un grupo de micotoxinas sesquiterpenoides, con actividad citotóxica, fitotóxica y antifúngica, denominado tricotecenos e incluido dentro del grupo B, estando ampliamente distribuida en todo el mundo.

Dentro de este grupo se encuentran otras micotoxinas como diacetoxiscirpenol (DAS), toxina T-2 y nivalenol (NIV), que fueron las primeras sustancias en ser estudiadas debido a que son fuertemente tóxicas y provocaron cuadros graves de toxicidad aguda. Sin embargo, en la actualidad, la micotoxina más relevante del grupo es el DON ya que se encuentra naturalmente en elevadas concentraciones y/o como contaminante de una gran variedad de sustratos en el mundo. Se ha detectado principalmente como contaminante de trigo, cebada, avena, centeno y maíz, que conforman las 2/3 partes de la producción mundial de cereales, y con menor frecuencia se encuentra contaminando arroz, sorgo y triticale.

La presencia de DON está asociada con la especie micotoxigénica *Fusarium graminearum*, estado teleomórfico *Gibberellazeae* en las áreas templadas y húmedas de cultivo (América del Norte, del Sur y China) y con, *F. culmorum*, en aquellas áreas donde prevalecen las condiciones ambientales frías (Finlandia, Francia, Polonia y Países Bajos). Las diferencias ecológicas podrían contribuir a la distribución de quimiotipos y por lo tanto a la caracterización regional de la contaminación de los granos. Estas especies son los agentes etiológicos de la enfermedad denominada “tizón de la espiga” o “fusariosis de la espiga de trigo” (fusarium head blight, FHB) y de la “podredumbre de la espiga de maíz” (gibberellaeart).

Existe una correlación directa entre la incidencia del FHB y la contaminación de trigo con DON. Asimismo, la presencia de esta enfermedad en los cultivos está fuertemente relacionada con la humedad existente durante el periodo de floración (antes) y con la duración del periodo de lluvias. La distribución geográfica de ambos agentes etiológicos depende de la temperatura: *F. graminearum* crece a una temperatura óptima de 25 °C y *F. culmorum* crece a una temperatura óptima de 21 °C.

3.4 TOXICOLOGÍA (28)

3.4.1 TOXICOCINÉTICA:

La absorción, distribución y eliminación del DON es rápida si es vía oral o parenteral, no existiendo evidencia de su acumulación en tejidos o su transmisión a los huevos o a la leche. El DON por una vía metabólica que involucra la pérdida de la función epoxi-O (de-epoxidación) da origen a un derivado denominado de-epoxi-deoxinivalenol. Este metabolito predomina en heces, orina y plasma de seres humanos y animales. También se ha detectado DON y/o sus metabolitos en carne, leche y huevos de animales de granja en niveles bajos. Por ejemplo, en cerdos se observó una rápida distribución en todos los tejidos después de una inyección intravenosa de DON equivalente a 1 mg/kg de peso corporal; en riñones e hígado se detectaron concentraciones de la micotoxina que correspondían con las encontradas en orina y bilis.

La vida media fue estimada en 3.9 horas, aunque DON pudo ser detectado después de 24 horas de administrada la micotoxina. Se ha visto que la presencia de DON en la dieta de ratones altera la absorción intestinal de nutrientes como por ejemplo azúcares y minerales cuando se administra la toxina en bajas dosis y por tiempo prolongado (exposición subcrónica).

3.4.2 Toxicidad aguda y subaguda. (28)

El DON produce exclusivamente toxicidad aguda y no se acumula en el organismo, los valores de DL 50 oral son de aproximadamente 78 a 46 mg/Kg de peso corporal en ratones.

Los síntomas de toxicidad aguda y subaguda de DON se caracterizan principalmente por vómitos (en cerdos ratas y ratones), rechazo de la comida (Síndrome Anoréxico), pérdida de peso y diarreas.

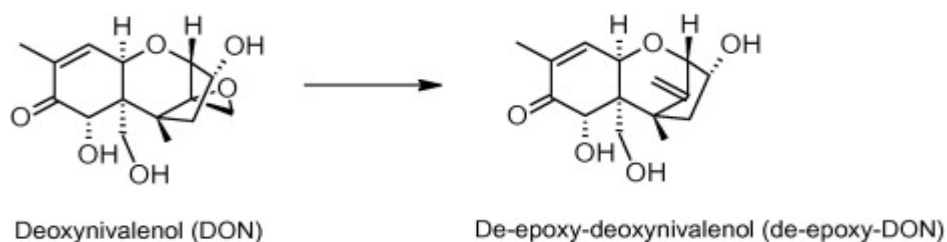


Figura N° 2 Metabolismo de DON cuando es ingerida

En cerdos la dosis mínima de toxina que produce vómitos o emesis es de 0.05-0.2 mg/Kg de peso corporal, mientras que dosis de 1 – 2 mg/Kg provocan anorexia.

En ratas y ratones dosis orales de 0,05-1 mg/Kg de peso corporal provocan emesis y el grado de vaciamiento gástrico está relacionado directamente con la concentración. El rechazo total de comida se ha observado con dosis de 1 mg/Kg de peso corporal.

La intoxicación con altas concentraciones de DON puede producir necrosis en tejidos tales como los del tracto gastrointestinal, médula ósea y tejidos linfoides. La presencia de importantes micotoxicosis en humanos relacionadas con la contaminación de alimentos con DON, ha sido citada en Japón y en otras partes del mundo.

En China, en 1984-1985 y en la India en 1987 se produjeron dos brotes de micotoxicosis en seres humanos relacionados con tricotecenos. El primero, con 463 casos, fue debido al consumo de productos elaborados a partir de maíz y trigo enmohecidos. Entre los 5 - 30 minutos después de la ingesta, los afectados presentaron los siguientes síntomas: náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea, malestar general y dolores de cabeza.

El DON fue detectado en un rango de 0.34 a 98.8 mg/Kg junto con Zearalenona en una concentración de 0.004 -0.587 mg/kg. También se vieron afectados animales de granja como cerdos y pollos.

En el segundo brote, que tuvo lugar en el valle de Cachemira (India), como consecuencia del consumo de pan elaborado con harina de trigo enmohecido, el 43.37% de los individuos afectados sufrieron dolor abdominal, irritación de garganta, diarrea, rectorragia (sangre en las heces) y vómitos. El periodo de incubación fue de 15 a 60 minutos después del consumo. Las micotoxinas involucradas en este brote fueron DON (0.35-8.38 mg/Kg), T-2 (0.55-0.8 mg/Kg).

3.4.3 Mecanismo de toxicidad. (28)

Los tricotecenos son las sustancias naturales más potentes conocidas que inhiben la síntesis de las proteínas. Los tejidos más afectados son las gónadas (división celular), los intestinos, la médula ósea y el tejido linfoide. Poseen toxicidad directa adjudicada a la presencia del grupo epoxi en su fórmula. En los estudios biológicos que se han realizado no se ha detectado que sean precursores de cáncer. En general, el DON inhibe la síntesis del ADN y ARN y la síntesis de proteínas a nivel ribosómico.

La micotoxina tiene un efecto hemolítico sobre los eritrocitos. En dosis agudas puede inducir vómitos (emesis) en cerdos mientras que en bajas concentraciones reduce el crecimiento y el consumo de alimento (anorexia). Ambos efectos, similares a los otros tricotecenos, pueden deberse a que afectan la actividad serotoninérgica en el sistema nervioso central o por la acción periférica sobre los receptores de serotonina. Se ha demostrado que el grupo B de tricotecenos produce daño físico en las membranas celulares provocando la lisis de los glóbulos rojos por efecto de exceso de micotoxina circulante y que el metabolismo de los tricotecenos se produce dentro de estas células. La cantidad de toxina

para producir lisis depende de la especie animal, siendo los cerdos los más susceptibles.

Los tricotecenos son reconocidos por inducir desórdenes hematológicos tales como neutropenia, trombopenia y anemia aplásica en humanos y animales. El DON sólo produce tales efectos en dosis muy elevadas.

El DON altera el funcionamiento del sistema inmunológico tanto en animales como en seres humanos. Se ha demostrado que aumenta la susceptibilidad a patógenos facultativos como *Listeria*. Se comprobó en estudios experimentales con animales de laboratorio el aumento de Inmunoglobulina A (IgA), tanto sérica como la de las células mesangiales, que provocan hematuria.

La enfermedad de Berger, que implica una desregulación de IgA en seres humanos, sólo se ha logrado reproducir en animales experimentales a través de la administración de DON, además, tiene la capacidad de alterar transitoriamente la expresión de citoquinas, las que son importantes para la regulación normal de muchas funciones inmunológicas.

El síndrome anoréxico en cerdos se produce por el efecto neurotóxico del DON. Con una dosis única de 0.25 mg/kg, por vía intravenosa, después de ocho días, se alteró la concentración de los neurotransmisores en el hipotálamo, en la corteza frontal y en el cerebelo.

La presencia de DON incrementa significativamente la concentración de serotonina (102-180% más que el control) pero no produce cambios significativos en la concentración de noradrenalina y dopamina.

En resumen, el DON influye en el metabolismo de las aminas biogénicas en el cerebro y podrían existir diferencias significativas intra especies. Basado en datos de exposición humana versus emesis, los seres humanos son probablemente

más sensibles a los efectos causados por DON según lo observado en los animales de experimentación.

3.5 HUMEDAD. ⁽¹⁴⁾

3.5.1 Definición

Cantidad de agua, vapor de agua o cualquier otro líquido que está presente en la superficie o el interior de un cuerpo o en el aire.

La determinación de humedad es un paso obligado en el análisis de alimentos. Es la base de referencia que permite: comparar valores; convertir a valores de humedad tipo; expresar en base seca y expresar en base tal como se recibió.

Por estas razones debe seleccionarse cuidadosamente el método a aplicar para la determinación de humedad en un alimento, ya que un mismo método no sirve para todos los alimentos.

En general, los más usados aplican un cierto grado de calor. El alimento sufre cambios que pueden afectar el valor obtenido como humedad. Se pierden compuestos volátiles junto con el agua, como alcohol, aceites esenciales y materia grasa.

Cuadro N°1. MÉTODOS MÁS USADOS PARA LA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Método	Temperatura °C	Tiempo	Limitaciones	Ventajas	Aplicaciones en Alimentos
Desecación por estufa	130±1° 105±1°	3 horas Peso constante± 5mg	-Destructivo -Pérdida de volátiles -No aplicable a alimentos azucarados, grasas o aceites volátiles	Rápido	-Semillas oleaginosas -Mayoría de alimentos

CUADRO N°1 CONTINUACIÓN

Desecación por estufa	60° a presión reducida		Lento Pérdida de volátiles	Método Universal	Alimentos azucarados Materias grasas Alimentos con aceites esenciales
	Variante de agregar arena tanto a 105° como 60° a presión reducida			Facilita la determinación Mayor superficie para la salida de la humedad general	Alimentos con contenido graso importante Alimentos en general
Horno microonda			Costo del equipo	Rápido	Alimentos, humedad alta y media
Karl Fisher			Costo del equipo	Rápido	Alimentos de muy baja humedad. Alimentos higroscópicos.
NMR			Costo del equipo necesita calibración	Rápido	Mayoría de los alimentos semillas.
Liofilización			Permanece agua residual costo del equipo	No altera el producto	Mayoría de los alimentos
Determinación con arrastre con xilolo tolueno (método Dean y stark)				Rápido. Determina sólo la humedad.	Alimentos con alto contenido de materias volátiles, pimentón, cebolla, margarina, mantequilla, manteca.

En el Cuadro N° 1 se encuentra un resumen de los métodos más usados para la determinación de humedad en alimentos, señalando brevemente sus ventajas, limitaciones y aplicaciones.

3.5.2 Humedad en el maíz ⁽¹⁴⁾

El grano llega a su madurez fisiológica cuando su contenido de humedad es alrededor del 37-38 por ciento. La cosecha mecanizada se puede comenzar cuando el grano tiene aproximadamente un 28% de humedad, no siendo recomendable que descienda a menos del 13% Arriba o abajo de estos límites, los granos se aplastan, se parten o pulverizan.

CUADRO N°2. NORMATIVA RTCA 65.05.53:10 INSUMOS AGROPECUARIOS. REQUISITOS PARA LA PRODUCCIÓN Y COMERCIALIZACIÓN DE SEMILLA CERTIFICADA DE GRANOS BÁSICOS Y SOYA₍₂₅₎

FACTOR	ESTÁNDAR
CAMPO	
Lote o área de producción	Nuevo
Anteras extendidas	50 mm
Plantas fuera de tipo	1/1000
Diferente tipo de mazorca	1/1000
Mazorcas con diferente color o textura	1/1000
LABORATORIO	
Semilla pura (mínimo)	98%
Materia inerte (máxima)	2%
Semillas de maleza	0
Semillas de otros cultivos	0
Germinación (mínimo)	85%
Humedad(máximo)	13%

3.6 INMUNOENSAYO ⁽³¹⁾

Origen Década 50 Cuantificación de AC (anticuerpos) en pacientes diabéticos con respuesta inmune a la insulina bovina. Se utilizó ¹³¹I para cuantificar la cantidad de insulina marcada unida a la inmunoglobulina. Luego se utilizó para la cuantificación de diversas hormonas. 1º técnica de inmunoensayo fue RIA.

Inmunoensayo es una prueba que usa complejos de anticuerpo y antígeno como medio para generar un resultado perceptible. Un complejo anticuerpo: antígeno también es conocido como inmuno-complejo. “Inmuno” se refiere a una respuesta inmunológica que hace que el cuerpo genere anticuerpos, y “ensayo” se refiere a una prueba. Entonces, un inmunoensayo es una prueba que utiliza inmunocomplejos cuando se unen los anticuerpos y los antígenos.

Los Inmunoensayos se diferencian de otros tipos de pruebas de laboratorio, como las pruebas colorimétricas, ya que usan complejos anticuerpo: antígeno para generar una señal que pueda medirse. En oposición, la mayoría de las pruebas de rutina de química clínica utilizan reacciones químicas entre el reactivo (solución de sustancias químicas u otros agentes) y la muestra para generar un resultado de la prueba.

3.6.1 CLASES DE INMUNOENSAYOS

1. Heterogéneos: Inmunoensayo que requiere la separación del antígeno libre y el enlazado antes de medir el antígeno marcado.
2. Homogéneos: Inmunoensayo que permite la medición directa del antígeno marcado sin separar el antígeno unido del antígeno libre. ⁽²²⁾

TÉCNICAS DE INMUNOENSAYO

-RIA: Radio Immune Assay

- EMIT: Enzyme – Multiplied Immunoassay
- FPIA: Fluorescence Polarization Immunoassay
- CEDIA: Cloned Enzyme Donor Immunoassay
- KIMS: Kinetic Interaction of Microparticles In Solution
- ELISA: Enzyme Linked Immunosorbent Assay. (22)

3.6.2 Ensayo Inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA). (9)

El ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática.

Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (Inmunoabsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

Los diferentes tipos de ELISA son los que se enumeran a continuación:

ANTICUERPOS MARCADOS:

- ELISA Directo
- ELISA Indirecto
- ELISA sándwich
- Doble (DAS)
- Heterólogo (HADAS)

ANTÍGENO MARCADO

- ELISA competitivo

3.6.3 ELISA Competitivo. (9)

Consta de las siguientes etapas:

1. Fijación al soporte insoluble de anticuerpos específicos del agente patógeno a detectar. Lavado para eliminar los anticuerpos fijados deficientemente o no fijados.
2. Adición en concentración conocida de una mezcla de antígenos del anticuerpo utilizado en el paso anterior, marcados con una enzima y antígenos desconocidos objeto de estudio. Paralelamente, añadir únicamente antígenos del anticuerpo usado en el paso anterior, marcados con una enzima. Lavar para eliminar los antígenos que no hayan reaccionado.
3. Adición de un substrato sobre el que sea capaz de actuar la enzima marcadora. Se puede parar la reacción si se desea.
4. Lectura visual o colorimétrica del producto final coloreado de ambas pruebas y comparar los resultados. Si las lecturas de ambas pruebas son análogas, el antígeno en estudio no tiene nada que ver con los anticuerpos empleados para tapizar el soporte.
Si hay diferencia en las lecturas de ambos pocillos, el antígeno objeto de estudio, está relacionado serológicamente con el anticuerpo empleado para tapizar el soporte y la diferencia de densidad óptica, es proporcional a la concentración del antígeno problema en la muestra.

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

4.1.1 Exploratorio: Esta investigación es un tema que en el país ha sido poco estudiado, y en la ciudad en donde se realizó el estudio no se reportan estudios previos, por lo que esta investigación puede ser un aporte a futuras investigaciones.

4.1.2 Experimental: Las muestras de maíz recolectadas se analizaron en el laboratorio utilizando el método de inmunoadsorción enzimática (ELISA) competitivo, comparando los resultados con las normativas vigentes.

4.1.3 Transversal: Debido a que se realizó en un periodo específico, determinando valores de porcentaje de humedad y concentración de toxina en un periodo establecido.

4.1.4 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Realizada a través de consultas en las siguientes bibliotecas:

- Benjamín Orozco, Facultad de Química y Farmacia Universidad de El Salvador.
- Alberto Masferrer, Facultad de Agronomía Universidad de El Salvador
- Central Universidad de El Salvador.
- Internet

4.1.5 INVESTIGACIÓN DE CAMPO

- **Universo:** Maíz blanco variedad CENTA CS para consumo humano comercializado en el municipio de Santa Ana

- **Muestra:** Maíz blanco variedad CENTA CS para el consumo humano comercializado en los mercados “Colón” y “Central” de la ciudad de Santa Ana.

Muestreo se realizó tomando en cuenta la cantidad de establecimientos que distribuyen el grano de maíz en cada mercado de la ciudad de Santa Ana. Para el muestreo se utilizaron materiales como bolsas herméticas con zíper, una cuchara metálica y etiquetas de identificación.

Las muestras se tomaron aplicando el Muestreo Aleatorio simple y al azar, ya que no se tuvo la certeza de tener acceso total o restringido a los lugares de almacenamiento.

Se tomaron 10 muestras de los establecimientos del mercado Colón y 10 muestras de los establecimientos del mercado Central, obteniéndose un total de 20 muestras ⁽¹⁾ para el análisis, se tomaron 50 g de muestra en los diferentes establecimientos

Debido a que son pocos los establecimientos que distribuyen maíz blanco CENTA CS se aplicó para el muestreo el método “t-student” el cual se aplica cuando el tamaño de la muestra es pequeño estableciendo un total de muestra no mayor a 30.

La dispensación de la muestra fue solicitada a cada uno de los encargados de los establecimientos, a los cuales se les proporciono una bolsa hermética para colocar en cada una 50 g de muestra que es pesada y luego se identificaron con una viñeta conteniendo la información de cada muestra (ver anexo N°1).

4.2 HIPÓTESIS

4.2.1 Hipótesis nula

- 4.2.1.1 Las muestras de maíz (*Zea mays*), obtenidas de los mercados del municipio de Santa Ana contienen un porcentaje de humedad menor comparado a la normativa el cual establece que no debe ser mayor al 13%, lo que favorece a la contaminación con Deoxinivalenol (DON).
- 4.2.1.2 Las muestras de Maíz (*Zea mays*), obtenidos de los mercados del municipio de Santa Ana no sobrepasan los límites de 0.75 ppm de Deoxinivalenol (DON), declarados por la FAO.

4.2.2 Hipótesis alternativa

- 4.2.2.1 Las muestras de maíz (*Zea mays*), obtenidas de los mercados del municipio de Santa Ana contienen un porcentaje de humedad mayor comparado a la normativa el cual establece que no debe ser mayor al 13%, lo que favorece a la contaminación con Deoxinivalenol (DON).
- 4.2.2.2 Las muestras de Maíz (*Zea mays*), obtenidos de los mercados del municipio de Santa Ana sobrepasan los límites de Deoxinivalenol (DON), declarados por la FAO siendo este valor de 0.75 ppm.

4.3 PARTE EXPERIMENTAL:

4.3.1 TRATAMIENTO DE LA MUESTRA (ver anexo N°2)

1. Homogenizar 50 g de muestra
2. Triturar los 50 g de muestra con un molino eléctrico, lo más finamente posible para liberar la toxina que pudiese estar presente dentro y fuera del grano
3. Haciendo uso de un mesh de 45 µm tamizar las muestras trituradas
4. Tomar la cantidad necesaria para el análisis de humedad y la determinación de DON

4.3.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD, METODO AOAC 925.10

1. Pesar cápsula de porcelana en balanza y anotar el peso.
2. Pesar 5 g de Muestra (Maíz triturado) en balanza analítica.
3. Colocar la muestra en estufa a 105 °C durante dos horas y treinta minutos.
4. Sacar muestra de la estufa y colocarla en un desecador y dejar enfriar por treinta minutos.
5. Pesar en balanza analítica.
6. Repetir procedimiento hasta obtener 0.005 g de diferencia.

Cálculo:

$$\%HUMEDAD = \frac{A - B}{A} \times 100$$

Donde:

A = masa inicial, en gramos de la muestra.

B = masa, en gramos del producto seco.

4.3.3 Tratamiento de muestra para determinación de DON. ⁽²¹⁾ (ver anexo N°2):

1. Pesar 10 g de muestra en balanza analítica triturada y tamizada.
2. Transferir la muestra a un Erlenmeyer de 150 ml
3. Adicionar 100 ml de Agua Destilada
4. Agitar vigorosamente durante tres minutos
5. Filtrar el extracto vertiendo al menos 5 ml a través de un filtro Whatman N°1
6. Muestra está lista para análisis

4.3.4 Cuantificación de DON por el método de Inmunoadsorción Enzimática (ELISA), Competitivo. ⁽²²⁾

El ELISA se basa en el uso de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, de forma que los conjugados resultantes tengan actividad tanto inmunológica como enzimática. Al estar uno de los componentes (antígeno o anticuerpo) marcado con una enzima e insolubilizado sobre un soporte (Inmunoadsorbente) la reacción antígeno-anticuerpo quedará inmovilizada y, por tanto, será fácilmente revelada mediante la adición de un sustrato específico que al actuar la enzima producirá un color observable a simple vista o cuantificable mediante el uso de un espectrofotómetro o un colorímetro.

Los reactivos que se utilizan para el análisis son: el conjugado que sirve para fijar la toxina al pocillo con revestimiento de anticuerpo, el sustrato que activara la enzima produciendo una coloración azul (más intensidad de color indica menos concentración de toxina) y la solución red stop que se utiliza para detener la reacción.

Límite de detección del Kit Veratox para Vomitoxina: 0.1 ppm (ver anexo N°3)

PROCEDIMIENTO:

1. Retirar un pocillo de mezcla marcado de rojo por cada muestra más cuatro pocillos para cada uno de los controles. Colocar en soporte de pocillos.
2. Retirar la misma cantidad de pocillos con revestimiento de anticuerpos
3. Agitar cada reactivo
4. Agregar 100 μ L de conjugado a cada pocillo marcado en rojo
5. Agregar 100 μ L de estándares y muestras a pocillos marcados en rojo como se describe a continuación:
0 5 10 15 S₁ S₂ ... (hasta completar el número de muestras a examinar)
6. Mezclar el líquido de los pocillos pipeteando hacia arriba y hacia abajo tres veces con pipeta multicanal. Transferir 100 μ L a los pocillos con revestimiento de anticuerpo.
7. Mezclar los pocillos de diez a veinte segundos deslizando el soporte hacia atrás y hacia adelante, dejar reposar por 5 minutos.
8. Vaciar los pocillos con revestimientos de anticuerpos. Lavarlos con 300 μ L de agua destilada o desionizada (repetir cinco veces).
9. Verter sustrato en cubeta de reactivo identificada
10. Ambientar pipeta multicanales con sustrato y luego pipetear 100 μ L y añadir a cada pocillo.

11. Mezclar los pocillos de diez a veinte segundos deslizando el soporte hacia atrás y hacia adelante, reposar por 5 minutos.
12. Verter solución Red Stop en cubeta de reactivo identificada.
13. Ambientar pipeta multicanales con Red Stop y pipetear 100 μL , añadir a cada pocillo, mezclar deslizando la base hacia atrás y hacia adelante.
14. Pasar una toalla o un paño seco en el fondo de los pocillos, leer el resultado en un lector de pocillos utilizando un filtro de 630 nm. Eliminar burbujas de aire.
15. Realizar cálculos con lector de microplacas. (ver anexo N°3)

4.3.5 ANÁLISIS DE DATOS

ANALISIS DE DATOS DE HUMEDAD

Del universo en estudio se analizarán 20 muestras. Seguidamente a los valores de Humedad determinados se les aplicó la prueba de hipótesis t student para una muestra ⁽¹⁸⁾

Hipótesis nula H_0 : $\mu < 13\%$

Hipótesis alterna H_1 : $\mu > 13\%$

Se trabajó con un nivel de significancia de 0.05 para el cual si el valor $P > 0.05$ se aceptará la hipótesis nula.

Se debe tener en cuenta que los datos para ser analizados mediante la t student deben cumplir con la condición de normalidad, con un nivel de significancia de 0.05 en la cual:

Hipótesis nula H_0 : Los datos siguen una distribución normal.

Hipótesis alterna H_1 : Los datos no siguen una distribución normal.

Si el valor de p es mayor que 0.05 entonces se aceptará la hipótesis nula y se procede con la prueba t de student.

Posteriormente teniendo el promedio de Humedad de cada mercado se realizó un análisis de varianza mediante ANOVA ⁽¹⁶⁾. Si el valor obtenido de $P < 0.05$ se acepta la hipótesis nula con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales.

Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Al menos una de las medias es diferente.

En caso de que se cumpla la hipótesis alterna la información se agrupará utilizando la prueba de Tukey ⁽¹⁸⁾ para comparaciones por parejas con un nivel de confianza de 95%.

Todos los análisis se realizaron en el software estadístico Minitab 18

ANALISIS DE DATOS PARA CONCENTRACION DE DON

Del universo en estudio se analizaron 20 muestras y el análisis se realizó por duplicado, obteniéndose luego las estadísticas descriptivas básicas. Seguidamente a los valores de DON determinados en cada muestra se les aplicó la prueba de hipótesis t student para una muestra ⁽¹⁸⁾, ya que se trabajó con una muestra pequeña de la cual no se conoce la desviación típica poblacional comparando la media de la población estudiada con el valor del límite de DON establecido por la FAO para maíz (*Zea mays*).

Hipótesis nula H_0 : $\mu < 0.75$ ppm

Hipótesis alterna H_1 : $\mu > 0.75$ ppm

Se trabajó con un nivel de significancia de 0.05 para el cual si el valor P es mayor que 0.05 se acepta la hipótesis nula.

Se debe tener en cuenta que los datos para ser analizados mediante la t de student deben cumplir con la condición de normalidad (datos no atípicos), mediante estadístico descriptivo, con un nivel de significancia de 0.05 en la cual:

Hipótesis nula H_0 : Los datos siguen una distribución normal.

Hipótesis alterna H_1 : Los datos no siguen una distribución normal.

Si el valor de p es mayor que 0.05 entonces se acepta la hipótesis nula y se procede con la prueba t de student.

Posteriormente teniendo el promedio de DON de cada mercado se realizó un análisis de varianza mediante ANOVA₍₁₇₎ en la que se realizó una prueba de hipótesis para conocer si las medias de las poblaciones estudiadas son iguales ya que compara las varianzas de los mercados analizados y determina si son parte de una población que tiene características similares o pertenecen a diferentes poblaciones con características diferentes. Si el valor obtenido de P es menor a 0.05 se acepta la hipótesis nula con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales.

Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Al menos una de las medias es diferente.

En caso de que se cumpla la hipótesis alterna la información se agrupa utilizando la prueba de Tukey₍₁₈₎ para comparaciones por parejas con un nivel de confianza de 95%.

El análisis estadístico se realizó con la finalidad de obtener datos que nos permitan analizar la relación que tiene el porcentaje de humedad con la concentración de toxina presente en las muestras de maíz (*Zea mays*).

Todos los análisis se realizaron en el software estadístico Minitab 18 (anexo N°7)

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 LISTA DE CHEQUEO

Se realizó un sondeo previo para obtener el número de establecimientos que comercializan maíz, obteniendo en el Mercado Colón cuatro establecimientos los cuales son: Bendición de Dios, Tienda Lizbeth, El Ángel y Tienda Carolina y del Mercado Central tres establecimientos los cuales son: El Portal, Súper Tienda León de Judá y Los Hermanos, luego se estructuró una lista de chequeo (ver anexo N°5) con el propósito de evaluar los parámetros que permitan la contaminación por mohos productores de toxinas, obteniendo información sobre el nivel de riesgo que pueden encontrarse (ver anexo N°5, ver anexo N°6).

Tabla N°1 PUNTAJE DE CRITERIOS EN BASE A ESCALA DE RIESGO BAJO, MEDIO Y ALTO ⁽³⁾

Escala	Riesgo	Criterio
1	Bajo	Condiciones que presentan poca exposición del maíz a factores ambientales, evitando el riesgo de contaminación por mohos productores de toxina
2	Medio	Condiciones que afectan indirectamente la inocuidad del maíz que se comercializa y que presenta un riesgo de contaminación con mohos productores de toxinas
3	Alto	Condiciones que afectan directamente la calidad del maíz y presentan una alta posibilidad de contaminación con mohos productores de toxinas, exponiendo la salud de los consumidores.
Valores mayores a 3, corresponden a sumatorias de riesgo		

Fuente: elaboración propia en base a revisión de Guía Técnica de Buenas prácticas de acondicionamiento de semillas de granos básicos; Infraestructura, y equipamiento y criterios personales en base a observación de establecimientos.

5.1.1 DESCRIPCION DE PARAMETROS Y ESCALA DE RIESGO

En el parámetro en estudio de Condiciones del Lugar, se evaluaron tres criterios los cuales son: buen estado, regular y en mal estado.

Para el criterio de buen estado en la escala de riesgo se considera que el riesgo es bajo (con una ponderación de 1) ya que el local presenta condiciones de infraestructura adecuadas tales como techo, piso y paredes en buen estado que favorece al buen almacenamiento del maíz.

Para el criterio de regular, en la escala de riesgo se considera un riesgo medio (con una ponderación de 2) debido a que el local puede presentar condiciones de infraestructura poco deterioradas, pero no afecta la calidad del maíz durante su almacenamiento.

El criterio mal estado, en la escala de riesgo se considera un riesgo alto (con una puntuación de 3) ya que las condiciones de infraestructura del local no cumplen con los requisitos mínimos para el almacenamiento del maíz, tales como condiciones del techo, piso y paredes totalmente deteriorado que faciliten la contaminación del cereal con mohos productores de toxinas.

Para el parámetro de Almacenamiento de Maíz, se evaluaron tres criterios los cuales son: Saco de Nailon, Saco de Mezcal y en Contenedores (estos podrían ser ya sea de metal, madera o de plástico).

Para el criterio de Saco de nailon, en la escala de riesgo se considera como un riesgo bajo (con una puntuación de 1) ya que por el material del cual está fabricado el saco la exposición a la humedad es mínima por lo que la probabilidad de contaminación de mohos por aumento de la humedad en el cereal almacenado disminuye.

Para el criterio de almacenado en contenedores de madera, este se considera un riesgo medio (con una puntuación de 2) ya que se expone a factores

ambientales tales como partículas de polvo, humedad del ambiente que pueden ser causa de deterioro y contaminación del maíz si se almacena por un tiempo prolongado.

El criterio de almacenado en saco de mezcal, se considera un riesgo alto (con una puntuación de 3) ya que por el material que está hecho favorece a la acumulación de humedad aumentando la probabilidad de crecimiento de mohos productores de toxina en el maíz almacenado.

En cuanto al parámetro de Lugar de Almacenamiento, se evaluaron tres criterios los cuales son:

Almacenado en Bodega, que se considera como el de riesgo bajo (con una ponderación de 1) ya que se encuentra aislado, en condiciones adecuadas de iluminación, temperatura y humedad apropiados para el almacenamiento del maíz

Almacenado en pasillos se considera como el de riesgo medio (con una ponderación de 2) ya que se puede ver afectado por distintos factores que puedan afectar de manera indirecta la calidad y la inocuidad del cereal almacenado

Almacenado cerca de la Calle presenta el riesgo alto (con una ponderación de 3) ya que se ve expuesto a factores ambientales de manera directa tales como polvo, humedad, temperaturas contaminantes ambientales, manipulación inadecuada que pueden favorecer al crecimiento de mohos productores de toxina en maíz.

El último parámetro evaluado fue el de Tipo de acondicionamiento, en el cual se evaluaron tres criterios los cuales son:

Acondicionado en tarima que representa un riesgo bajo (con una ponderación de 1) ya que cumple con las especificaciones de almacenamiento al no estar en

contacto directo con el suelo evitado así que el cereal absorba humedad y mantenga las características de calidad e inocuidad.

Estibados se considera un riesgo medio (con una ponderación de 2) ya que el estar uno sobre otro por un tiempo prolongado puede favorecer al aumento de la humedad y podría verse afectada la calidad del cereal por contaminación.

Acondicionado en el suelo se considera como riesgo alto (con una ponderación de 3) debido al contacto directo con una superficie que favorece el aumento de la humedad, incrementando potencialmente la probabilidad de contaminación del maíz por mohos productores de toxinas.

5.1.2 CONDICIONES DE LOCAL

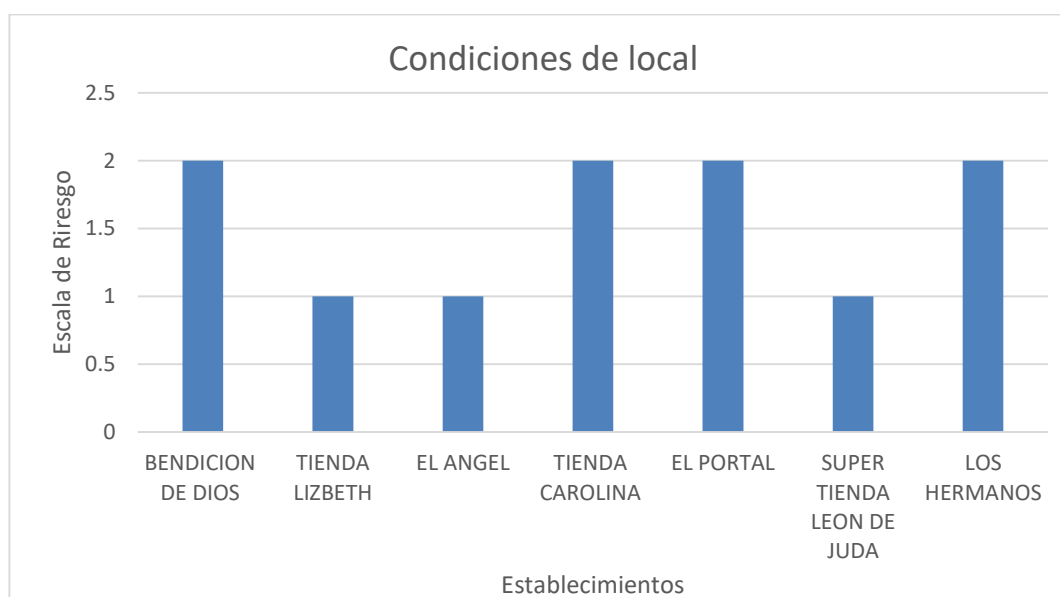


Figura N°3 Representación gráfica de Condiciones de Local por Establecimiento

Los establecimientos que comercializan maíz necesitan cumplir condiciones de infraestructura que garantice la calidad durante el periodo de almacenamiento del maíz que se comercializa. De los establecimientos del Mercado Colon, tienda

Lizbeth, el Ángel, tienda Carolina presentan condiciones de local en buen estado, propicio para el almacenamiento de maíz, mientras que el establecimiento Bendición de Dios presenta condiciones como suelo deteriorado, acumulación de agua cerca del maíz almacenado favoreciendo potencialmente la contaminación con hongos productores de micotoxinas.

De los establecimientos del Mercado Central, el Portal, Súper Tienda León de Judá, cuentan con infraestructura adecuada para para almacenamiento, mientras que el establecimiento los Hermanos presente condiciones del piso deteriorado que permite el acumulo de polvo e insectos que puedan conllevar a la contaminación del maíz almacenado.

5.1.3 ALMACENAMIENTO DE MAIZ

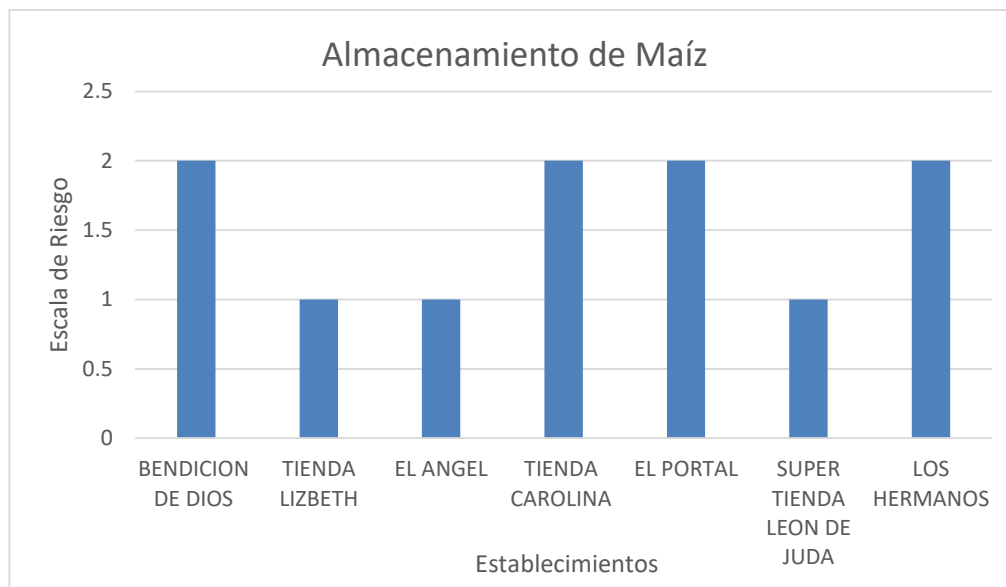


Figura N°4 Representación gráfica de Almacenamiento de Maíz por Establecimiento

La infección por hongos y la formación de micotoxinas puede ocurrir en el campo, así como durante el almacenamiento, se observó durante la recolección de

muestras los diversos contenedores donde se almacena el maíz que se comercializa en los establecimientos del Mercado Colón y el Mercado Central del Municipio de Santa Ana.

De los establecimientos del Mercado Colón, Bendición de Dios, tienda Lizbeth, el Ángel, almacenan el maíz en sacos de nailon, siendo el recipiente de nailon el contenedor más apropiado debido a la poca exposición que este permite, disminuyendo la probabilidad de contaminación de maíz ocasionado por factores ambientales, mientras que en la tienda Carolina se almacena en un contenedor de madera abierto teniendo altas probabilidades de contaminación por hongos productores de toxinas.

De los establecimientos del Mercado Central, el Portal, Súper tienda León de Judá, los Hermanos, se observó que el maíz se almacena en sacos de nailon por lo que su probabilidad de contaminación por hongos ocasionado por factores ambientales es baja.

5.1.4 LUGAR DE ALMACENAMIENTO

Tabla N°2 PUNTAJE DE RIESGO PARA CRITERIO DE LUGAR DE ALMACENAMIENTO POR ESTABLECIMIENTO

ESCALA DE RIESGOS	
Establecimiento	Lugar de almacenamiento
Bendición De Dios	5
Tienda Lizbeth	3
El Ángel	4
Tienda Carolina	3
El Portal	2
Súper Tienda León De Judá	2
Los Hermanos.	2
Valores mayores a 3, corresponden a sumatorias de riesgo de cada parámetro.	

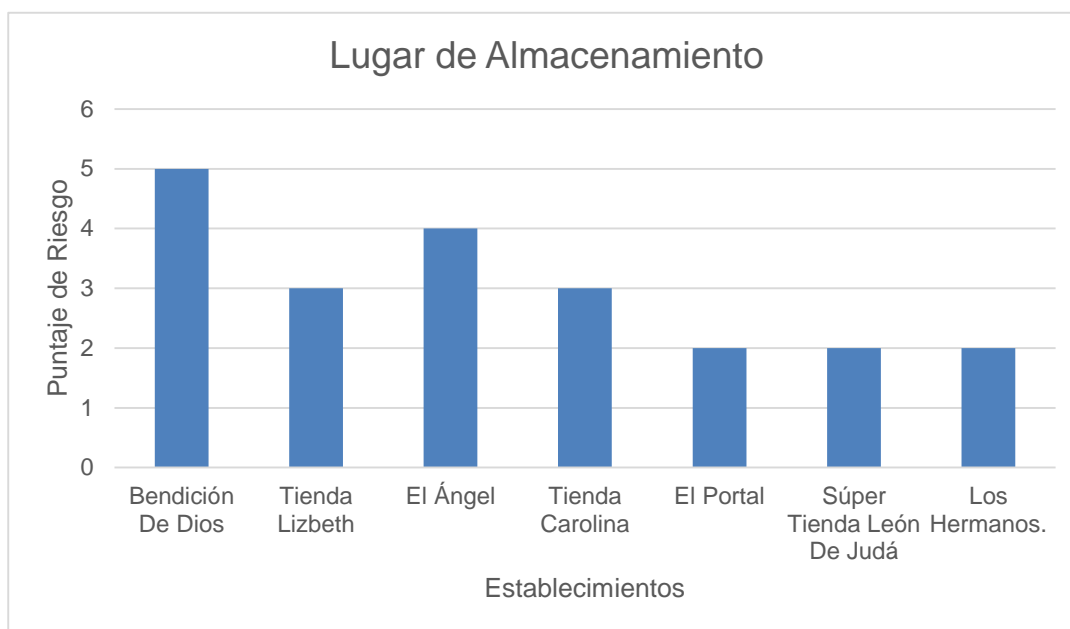


Figura N°5 Gráfica de Riesgo de Lugar de Almacenamiento por Establecimiento

En la figura N°3 representación gráfica del puntaje de riesgo de los establecimientos, a partir de esto obtenemos:

Bendición de Dios: es el establecimiento que presenta un mayor puntaje de riesgo, este se obtiene de la sumatoria de dos parámetros, los cuales son almacenamiento cerca de la calle (con un puntaje de tres) y almacenamiento en pasillo (con un puntaje de dos), por lo que el riesgo de contaminación del maíz es mayor ya que se encuentra expuesto a factores ambientales.

Tienda El Ángel: presenta un puntaje de riesgo con un valor de cuatro, esto debido también a la sumatoria de dos parámetros, los cuales son almacenamiento en bodega (con un puntaje de uno) y almacenamiento cerca de la calle (con un puntaje de tres), aunque el maíz es almacenado en bodega, siempre se ve expuesto a contaminación cuando este es colocado cerca de la calle para su comercialización.

Tienda Lizbeth: presenta un puntaje de riesgo de tres, por ser la sumatoria de dos parámetros, los cuales son almacenado en pasillos (con un puntaje de dos) y almacenado en bodega (con un puntaje de uno), el riesgo de contaminación por factores ambientales es menor que en el caso de los establecimientos anteriores.

Tienda Carolina: presenta un puntaje de riesgo de tres, solo es el puntaje de un parámetro el cual es almacenado cerca de la calle (puntaje de tres), se considera el parámetro de mayor riesgo en este criterio, ya que es en el cual el maíz se encuentra expuesto a más factores ambientales que podrían influir en su contaminación, ya que la temperatura varía y la humedad relativa también.

El Portal, Súper Tienda León de Judá y Los Hermanos: estos tres establecimientos presentan un puntaje de riesgo de tres, es el puntaje del parámetro almacenado en pasillos (puntaje de tres), considerado un riesgo intermedio.

5.1.5 TIPO DE ACONDICIONAMIENTO

Tabla N°3 PUNTAJE DE RIESGO PARA CRITERIO DE MODO DE ALMACENAMIENTO

ESCALA DE RIESGOS	
Establecimiento	Tipo de Acondicionamiento
Bendición De Dios	5
Tienda Lizbeth	5
El Ángel	5
Tienda Carolina	3
El Portal	5
Súper Tienda León De Judá	3
Los Hermanos.	3
Valores mayores a 3, corresponden a sumatorias de riesgo de cada parámetro.	

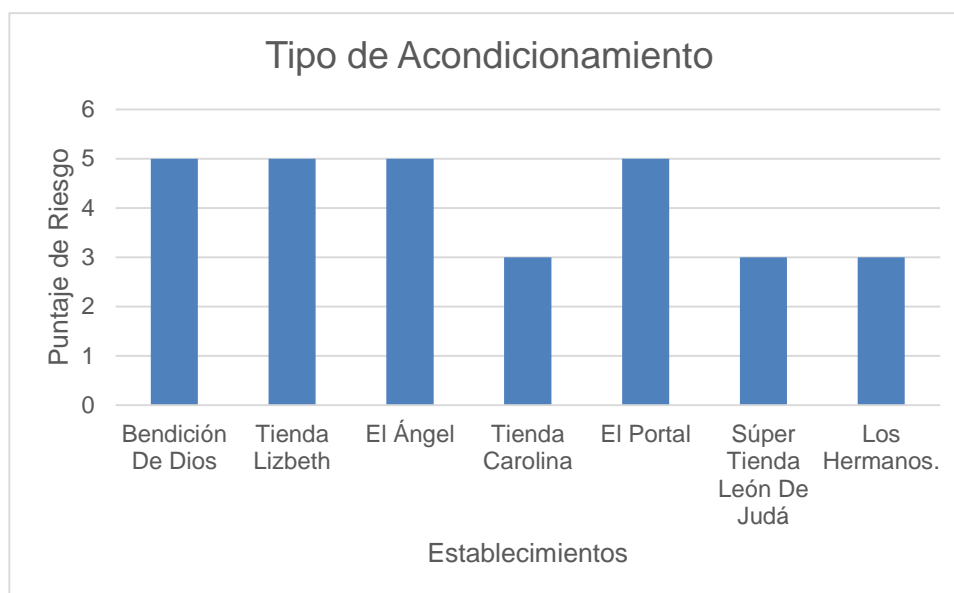


Figura N°6 Gráfica de Riesgo de Tipo de Acondicionamiento por Establecimiento

En la figura N°6 representación gráfica de puntaje de riesgo del criterio Tipo de Acondicionamiento, obtenemos:

Bendición de Dios, Tienda Lizbeth, El Ángel y El portal: presentan un puntaje de cinco, el cual se debe a una sumatoria de dos parámetros los cuales son Estibado (puntaje de dos) y en el Suelo (puntaje de tres), son los establecimientos que presentan un mayor puntaje de riesgo debido a que estos parámetros son los que se consideran en un riesgo intermedio (estibado) ya que al estar un saco sobre otro, puede aumentar la humedad entre ellos y riesgo alto (suelo), ya que al estar en contacto con este la humedad aumenta, y la contaminación por otros agentes puede ser mayor, ya sea por roedores o insectos. El establecimiento Bendición de Dios, presenta mayor riesgo ya que el suelo está deteriorado y con fuga de agua.

Tienda Carolina, Súper Tienda León de Judá y Los Hermanos: presentan un puntaje de tres, el cual es debido al parámetro de Acondicionado en el Suelo, en los tres establecimientos presentan el criterio de mayor puntaje, lo cual podría

favorecer al crecimiento de mohos, ya que al estar en contacto con el suelo la humedad puede ser mayor en el fondo del saco.

5.1.6 RIESGOS TOTALES



Figura N°7 Representación de Riesgos totales por establecimiento

La figura N°7 es la representación gráfica de los riesgos totales para cada uno de los establecimientos, estos riesgos totales son las sumatorias de cada uno de los riesgos de los parámetros que se establecieron en la lista de chequeo. A partir de esto obtenemos que el establecimiento Bendición de Dios, es el que presenta mayor riesgo de contaminación ya que su suelo es deteriorado,

presenta acumulación de agua, el maíz se encuentra cerca de la calle y en el suelo todo esto hace que su puntaje sea mayor, por su parte el establecimiento Súper Tienda León de Judá es el que representa el menor puntaje en la escala de riesgo total, por lo cual es el establecimiento con las mejores condiciones de comercialización del maíz.

Se puede determinar que, haciendo una comparación entre mercados, los establecimientos del mercado Colón son los que presentan un mayor puntaje de escala de riesgos totales en comparación a los establecimientos del mercado Central.

5.2 DETERMINACION DE HUMEDAD

Tabla N° 4: CONTENIDO DE HUMEDAD EN MUESTRAS ANALIZADAS POR MERCADO

Mercado	Muestra	Peso crisol	peso crisol+ muestra	peso de muestra	peso muestra seca	%HUMEDAD
Colon	MC001	38.3855	42.808	5.0027	4.4225	11.5977372
	MC002	38.0287	42.4509	5.008	4.4222	11.6972843
	MC003	38.364	42.8103	5.0444	4.4463	11.8567124
	MC004	38.6528	43.0848	5.0252	4.432	11.8045053
	MC005	37.9018	42.3138	5.0144	4.412	12.0134014
	MC006	40.7063	45.0946	5.0368	4.4225	12.1962357
	MC007	40.2868	44.7574	5.0775	4.4706	11.9527326
	MC008	38.6463	43.036	5.0465	4.3897	13.0149609
	MC009	39.845	44.2207	5.0089	4.3757	12.6414981
	MC010	38.618	43.027	5.0577	4.409	12.8259881
Central	MCE001	36.1321	40.63	5.062	4.4979	11.1438167
	MCE002	40.2604	44.7401	5.0494	4.4797	11.2825286
	MCE003	40.7748	45.2072	5.0175	4.4324	11.6611858
	MCE004	40.1262	44.599	5.0565	4.4728	11.5435578
	MCE005	21.9422	26.396	5.0557	4.4538	11.9053741
	MCE006	27.1802	31.6718	5.0487	4.4916	11.0345237
	MCE007	43.4205	47.9325	5.0444	4.512	10.554278
	MCE008	46.9474	51.4384	5.0481	4.491	11.0358353
	MCE009	43.8536	48.3479	5.0433	4.4943	10.8857296
	MCE010	59.6378	64.0804	5.016	4.4426	11.4314195
Límite máximo de humedad= 13%						

En la tabla N°4, se presentan los resultados de la determinación de humedad de cada una de las muestras recolectadas de los mercados y se observa que la mayoría de muestras analizadas se encuentran entre los valores del 10% al 12% y estos valores están por debajo del límite establecido por el RTCA que es de 13%, a excepción de una muestra del mercado colón codificada como MC008, la cual presenta un porcentaje de humedad de 13.01 % el cual se considera un valor aceptable ya que no es un valor que no varía significativamente del valor establecido por el RTCA 65.05.53:10 INSUMOS AGROPECUARIOS. REQUISITOS PARA LA PRODUCCION Y COMERCIALIZACION DE SEMILLA CERTIFICADA DE GRANOS BASICOS Y SOJA.

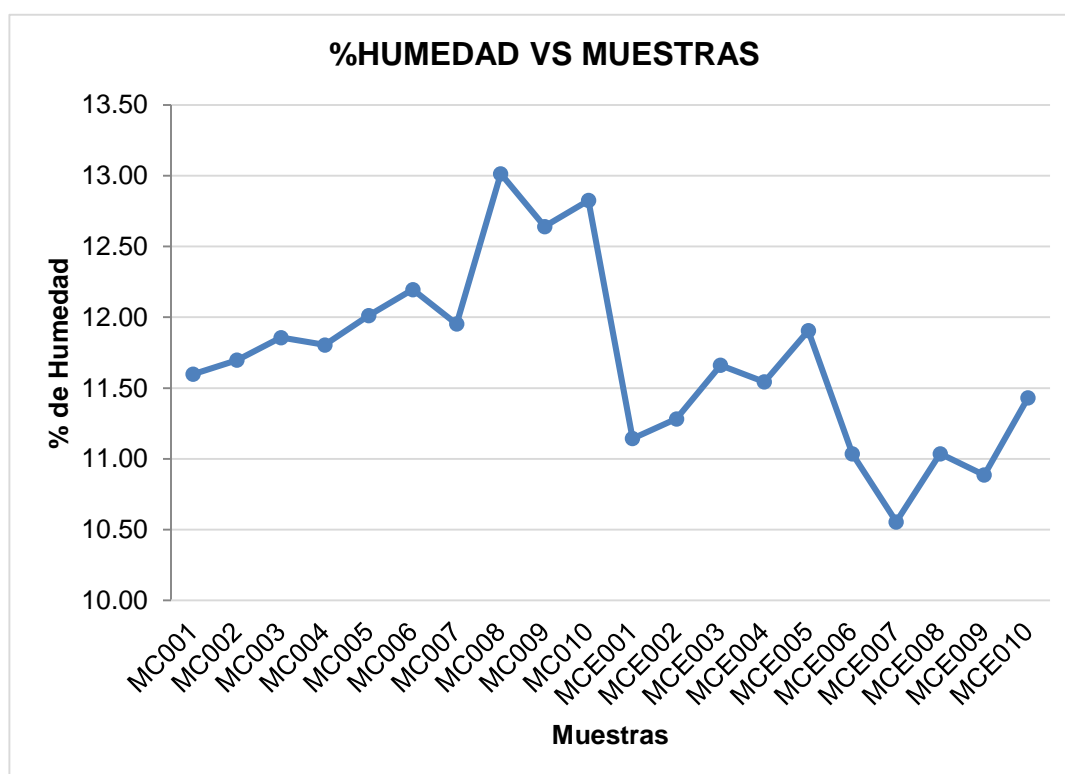


Figura N°8 Gráfica de dispersión de %humedad vs muestras

Se observa en la figura N°8, que los valores de humedad de las muestras oscilan entre el 10% al 12% siendo la muestra MC008 la única que presenta un valor del 13%, que presenta mayor probabilidad de contaminación, y valores de humedad

del 10% podrían ser más susceptibles a daños físicos (porosidad del grano) como las muestras MCE007 y MCE009 al ser comparadas con el límite establecido por el RTCA del 13%.

Se aplicó el análisis estadístico para comparar contra una muestra, el porcentaje de humedad presente aplicando t student, donde se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula H_0 : Todas las muestras de maíz (*Zea mays*), obtenidas de los mercados del municipio de Santa Ana contienen un porcentaje de humedad menor comparado a la normativa.

Hipótesis alterna H_1 : Las muestras de maíz (*Zea mays*), obtenidos de los mercados del municipio de Santa Ana contienen un porcentaje de humedad mayor comparado a la normativa, lo que favorece la contaminación con Deoxinivalenol (DON).

Nivel de confianza: 95%

α : 0.05(5%)

PRUEBA T DE UNA MUESTRA: %HUMEDAD

Tabla N°5 ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS DE %HUMEDAD

N	Media	Desviación Estándar	Error estándar de la media	Límite inferior de 95% para μ
20	11.704	0.642	0.143	11.456

μ : media de %Humedad

Prueba

Hipótesis nula	$H_0: \mu = 13$	Valor T	Valor p
Hipótesis alterna	$H_1: \mu > 13$	-9.03	1.000

Como el valor de p es mayor a 0.05 se acepta la hipótesis nula, reconociendo que todas las muestras de maíz (*Zea mays*), obtenidas de los mercados del municipio de Santa Ana contienen un porcentaje de humedad menor comparado a la normativa.

Se aplicó el análisis estadístico mediante el método ANOVA para poder comprobar la existencia o no de diferencia significativa entre cada uno de los mercados, en donde se plantean las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Nivel de confianza: 95%

α : 0.05 (5%)

Análisis de Varianza (ver anexo N°8)

Fuente	Valor p
%Humedad	1.000

El valor de P es mayor a 0.05 por lo tanto se acepta la hipótesis nula, reconociendo que las medias son iguales y no existe una diferencia significativa entre ellas, lo que significa que no se cuenta con suficiente evidencia para rechazar la hipótesis de que las medias del Mercado Colón y Mercado Central

son iguales. Por lo tanto, no se procede a su análisis mediante la prueba de Tukey.

5.3 DETERMINACION DE DON EN PPM

Tabla N° 6 Resultados en ppm de DON en maíz comercializado en los mercados Colón y Central

MERCADO	MUESTRA	RESULTADOS ppm	MERCADO	MUESTRA	RESULTADOS ppm
COLÓN	MC001	0.1	CENTRAL	MCE001	0
	MC001.1	0.1		MCE001.1	0
	MC002	0.1		MCE002	0.1
	MC002.1	0.1		MCE002.1	0.1
	MC003	0.1		MCE003	0.1
	MC003.1	0.1		MCE003.1	0.1
	MC004	0.1		MCE004	0.1
	MC004.1	0.1		MCE004.1	0.1
	MC005	0.1		MCE005	0.1
	MC005.1	0.1		MCE005.1	0.1
	MC006	0.1		MCE006	0.1
	MC006.1	0.1		MCE006.1	0.1
	MC007	0.1		MCE007	0
	MC007.1	0.1		MCE007.1	0
	MC008	0.1		MCE008	0.1
	MC008.1	0.1		MCE008.1	0.1
	MC009	0.1		MCE009	0.1
	MC009.1	0.1		MCE009.1	0.1
	MC010	0.1		MCE010	0.1
	MC010.1	0.1		MCE010.1	0.1

En la tabla N°6, se observan los resultados de DON en ppm obtenidos en cada lectura de las muestras analizadas y su respectiva replica de los cuales ninguno sobrepasa los límites de tolerancia establecidos por FAO que es de 0.75 ppm

para dicho contaminante en granos de maíz para consumo humano, siendo el valor más alto obtenido en el análisis 0.1 ppm, en la mayoría de muestras de ambos mercados y el valor más bajo de 0 ppm en 2 muestras del mercado Central las cuales son MCE001 y MCE007, debido a que el límite de detección es de 0.1 ppm no se puede asegurar que el valor obtenido en dichas muestras sea de 0.0 ya que pudiesen tenerse valores menores a 0.1 que no pudieron ser detectados y/o cuantificados por el equipo.

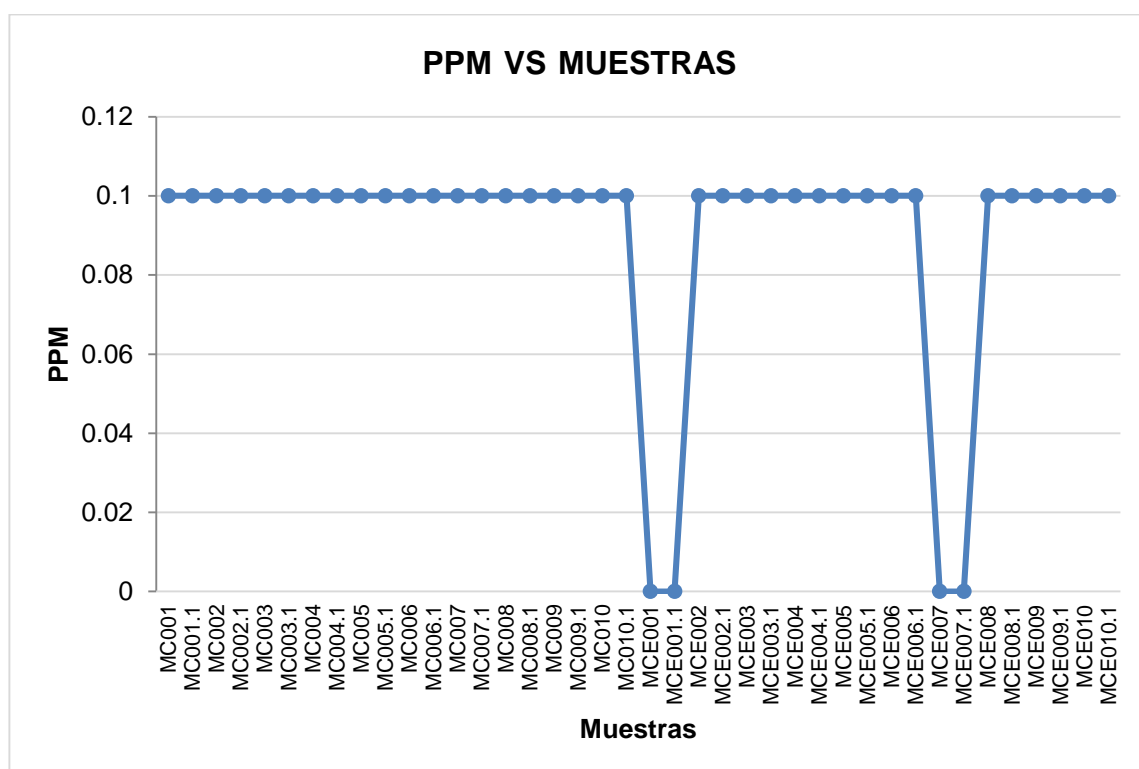


Figura N°9 Gráfica de Concentración de DON ppm vs muestras

En la figura N°9 se puede observar los valores obtenidos en ppm de DON en cada una de las muestras, donde se muestra una tendencia del valor de 0.1 ppm para la mayoría de las muestras donde solo dos muestras presentaron resultados de 0 ppm.

Se aplicó el análisis estadístico para comparar contra una muestra la concentración de toxina DON presente en las muestras aplicando t student, donde se plantean las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula H_0 : Las muestras de Maíz (*Zea mays*), obtenidos de los mercados del municipio de Santa Ana no presentan contaminación por la micotoxina Deoxinivalenol (DON).

Hipótesis alterna H_1 : Todas las muestras de maíz (*Zea mays*), obtenidas de los mercados del municipio de Santa Ana sobrepasan los límites de Deoxinivalenol (DON), declarados en la normativa

Nivel de confianza: 95%

α : 0.05(5%)

PRUEBA T DE UNA MUESTRA: PPM

Tabla N°7 ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS DE CONCENTRACIÓN DE DON EN PPM

N	Media	Desviación Estándar	Error estándar de la media	Límite inferior de 95% para μ
40	0.09000	0.03038	0.00480	0.08191

μ : media de ppm

Prueba

Hipótesis nula H_0 : $\mu = 0.75\text{ppm}$ Valor p

Hipótesis alterna H_1 : $\mu > 0.75\text{ppm}$ 1.000

Como el valor de p es mayor a 0.05, se admite la hipótesis nula, aceptando que las muestras de Maíz (*Zea mays*), obtenidos de los mercados del municipio de Santa Ana no presentan contaminación por la micotoxina Deoxinivalenol (DON).

Se aplicó el análisis estadístico mediante el método ANOVA para poder comprobar la existencia o no de diferencia significativa entre cada uno de los mercados, en donde se plantean las siguientes hipótesis.

Hipótesis nula: Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna: No todas las medias son iguales

Nivel de confianza: 95%

α : 0.05 (5%)

Análisis de Varianza (ver anexo N°8)

Fuente	Valor p
Concentración	0.016
De toxina (ppm)	

El valor de P es menor a 0.05 por lo tanto se admite la hipótesis alterna, aceptando que las medias no son iguales y existe una diferencia significativa entre ellas.

Método de Tukey

Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%

Tabla N°8 RESULTADOS PRUEBA DE TUCKEY

Mercados	N	Media	Agrupación	
MC	20	0.1000	A	
CE	20	0.07500		B

Las medias que no comparten una letra en la agrupación, son significativamente diferentes, en la tabla N°8 se observa que las medias del Mercado Colón y Mercado Central del Municipio de Santa Ana tiene una diferencia significativa al no compartir una misma letra, lo que significa que se tiene la suficiente evidencia para confirmar esto, debido a que en el mercado central hay dos muestras las cuales su concentración fue de 0 ppm.

5.4 RELACION ENTRE PORCENTAJE DE HUMEDAD Y CONCENTRACION DE TOXINA

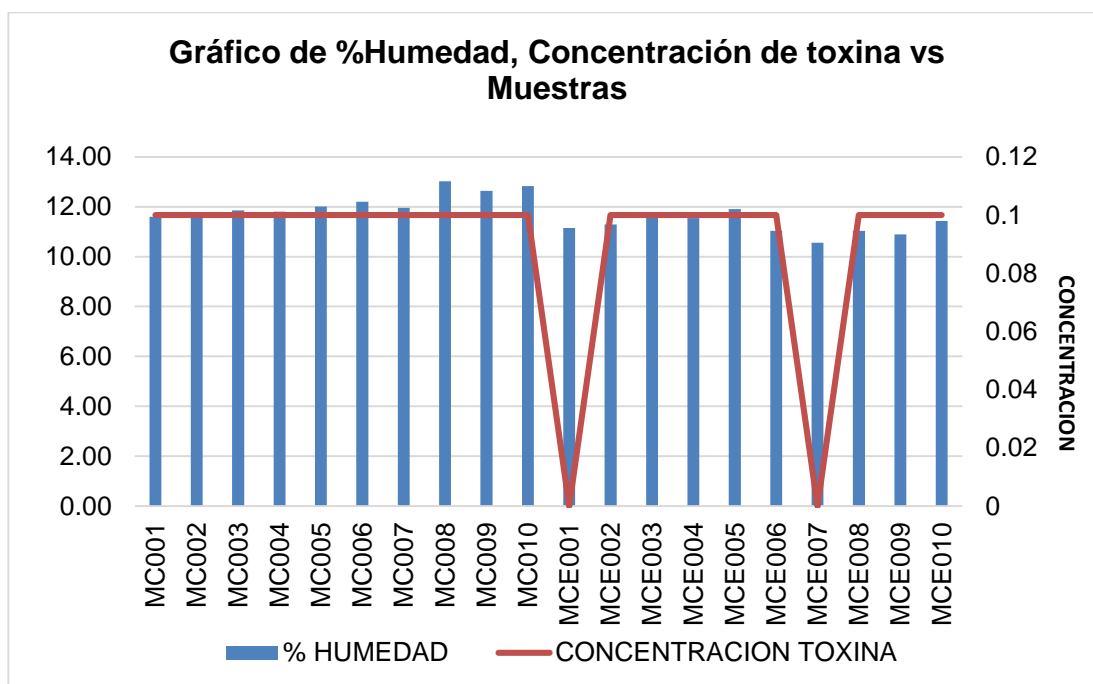


Figura N°10 Relación entre el Porcentaje de humedad y Concentración de toxina.

En la figura N°10 se observa la relación entre el porcentaje de humedad obtenido en cada muestra con los valores de DON en ppm, donde la muestra MC008 presenta un valor de Porcentaje de Humedad de 13% y una concentración de 0.1 ppm de DON, y la muestra MCE007 presenta un valor de Porcentaje de Humedad de 10% y una concentración de 0 ppm de DON por lo que se observa que la relación entre el porcentaje de humedad y la concentración de toxina es directamente proporcional, ya que a mayor humedad mayor concentración de toxina y a menor humedad en la muestra, menor concentración de toxina.

5.5 ANÁLISIS DE CONSUMO DIARIO PROMEDIO DE TOXINA POR UN SALVADOREÑO

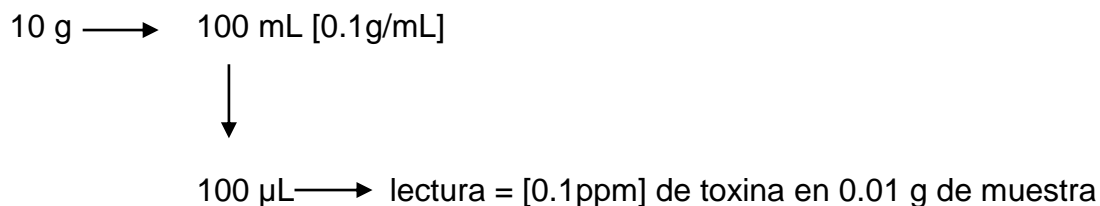
En base a los resultados obtenidos en el estudio, se considera necesario conocer la ingesta diaria de toxina de un salvadoreño, comparándola con la Ingesta Diaria Tolerable (TDI por sus siglas en inglés) establecida por el JEFCA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios).

Ejemplo para el cálculo de la ingesta diaria de toxina de un salvadoreño se procedió a:

Se tomaron al azar 10 g de muestra triturada, los que se disolvieron en un volumen de 100 mL de agua destilada, obteniendo una concentración de 0.1 g/mL.

De esta solución se tomó una alícuota de 100 μ L a los que se les realizó el tratamiento para cuantificación de DON por el Método ELISA Competitivo (ver anexo N°3) obteniendo una lectura de 0.1 ppm de toxina en la muestra.

Esquema de dilución para lectura del análisis



Cantidad de muestra es de 0.01 g = 1×10^{-5} kg

5.5.1 Cantidad de toxina presente en alícuota tomada:

Si la concentración es de 0.1 ppm esto equivale a tener 0.1 mg/Kg, entonces deseamos saber la cantidad de miligramos contenidos en nuestra muestra de lectura y se procede a:

$$\text{mg de toxina en muestra} = \frac{(\text{kg de muestra}) * (\text{mg de toxina en peso muestra})}{(1 \text{ kg})}$$

$$\text{mg de toxina en muestra} = \frac{(0.00001 \text{ kg}) * (0.1 \text{ mg})}{(1 \text{ kg})}$$

$$\text{mg de toxina en muestra} = 0.000001 \text{ mg}$$

5.5.2 Cantidad de toxina presente en muestra:

Tomando en cuenta esto, se desea saber cuántos mg de toxina se encuentran en los 10 g de muestra que se recolectaron para el análisis, entonces:

$$\text{mg de toxina en muestra} = \frac{(\text{g de muestra}) * (\text{mg de toxina en peso muestra})}{(\text{mg peso muestra})}$$

$$\text{mg de toxina en muestra} = \frac{(10 \text{ g}) * (0.000001 \text{ mg})}{(0.01 \text{ g})}$$

mg de toxina en muestra=0.001

5.5.3 Cantidad de toxina presente en cantidad promedio de consumo de maíz por un salvadoreño

De acuerdo al Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá en el estudio de análisis de la situación alimentaria en El Salvador, se plantea que un salvadoreño come en promedio 200 g de maíz al día ⁽¹⁶⁾, si se calcula la cantidad de toxina que se consume diariamente se obtiene:

$$\text{mg de toxina consumida} = \frac{(\text{g de maiz consumido}) * (\text{mg de toxina en muestra})}{(\text{g de muestra})}$$

$$\text{mg de toxina en muestra} = \frac{(200 \text{ g}) * (0.001 \text{ mg})}{(10 \text{ g})}$$

mg de toxina en muestra=0.0200 mg=20.0 µg

5.5.4 Ingesta Diaria Tolerable (TDI) para un salvadoreño

El TDI Establecido es de 1µg/Kg de peso corporal, entonces calculando para el peso promedio de un salvadoreño (80 Kg) se obtiene:

$$\text{TDI} = \frac{20.0 \text{ µg}}{80.0 \text{ Kg}} = 0.25 \text{ µg/Kg}$$

Se obtiene que el consumo de µg/kg de toxina de la población salvadoreña está por debajo de lo establecido por JEFCA (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios) que es de 1µg/Kg, lo cual indica que el consumo promedio diario de DON, no representa un riesgo a la salud de la población.

VI. CONCLUSIONES

1. De los establecimientos del mercado Colón y el mercado Central del municipio de Santa Ana, de los cuales se tomaron muestras, todos presentaron condiciones de almacenamiento inadecuadas tales como condiciones del local en mal estado, almacenamiento en sacos abiertos expuestos al ambiente, cerca de la calle, estibados en el suelo y a temperaturas elevadas.
2. Ninguna de las muestras analizadas del Mercado Colón y Mercado Central del municipio de Santa Ana presentó valores de DON superiores al límite establecido por la FAO (Food and Agriculture Organization) que es de 0.75 ppm.
3. En el análisis de porcentaje de humedad determinado fue menor al 13% en un 95% de las muestras recolectadas, lo cual no favorece la proliferación de micotoxinas.
4. En el 90% de las muestras analizadas se detectó la presencia de DON, ya que el límite de detección es de 0.1ppm
5. En un 10% de muestras no se detectó la presencia de DON, sin embargo, no se puede aseverar que esta no se encuentre presente ya que no se pudo cuantificar, debido a que el límite de cuantificación del método es de 0.5 ppm

VII. RECOMENDACIONES

1. Al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) que elabore reglamentos que establezcan los límites de tolerancia máximos permisibles para micotoxinas en granos de maíz y en otros cereales para consumo humano en el país y a su vez que velen por el fiel cumplimiento de los mismos.
2. Al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) que realice un monitoreo continuo de las condiciones de almacenamiento del maíz para consumo humano comercializado en los mercados de nuestro país.
3. Al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) establezca investigaciones futuras para establecer la prevalencia o no de micotoxinas en los granos y así evitar posibles intoxicaciones.
4. A los establecimientos que distribuyen maíz en el mercado Central y mercado Colón, verifiquen las condiciones de temperatura y porcentaje de humedad relativa en las cuales se almacena y comercializa el maíz, para evitar posibles contaminaciones con hongos.
5. Al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y Ministerio de Salud (MINSAL), que desarrollen proyectos enfocados a la concientización de los agricultores sobre los riesgos que conlleva la contaminación de los cereales con micotoxinas y la importancia de su monitoreo.
6. A futuros investigadores, realizar la determinación de DON con un número mayor de muestras, triturando el maíz y utilizando un método más sensible que posea un rango mayor de detección como lo podría ser HPLC ya que es capaz de detectar trazas; comparándolo con otros métodos de detección.

BIBLIOGRAFIA

1. Acuña, J. (2002). Control de Calidad, un enfoque integral y estadístico, Tercera Edición páginas 63-34, Cartago: Editorial Tecnológica de Costa Rica.
2. Álvarez, E. (2018), Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal, recuperado de www.centa.gob.sv/2015/gobierno-libera-dos-nuevas-variedades-de-maiz-centa-asg-y-centa-cs/
3. Bonilla Bird, N. (2014). Guía Técnica Buenas prácticas de acondicionamiento de semillas de granos básicos; Infraestructura, y equipamiento. Página 100.
4. Bruegel P, (2003). Mycotoxins, Risks in plant, Animal, and Human Systems. Council for Agricultural Science and Technology. 15-150
5. CENTA ASG y CENTA CS. (2015). recuperado el 22 de abril 2018, de <https://www.centa.gob.sv/2015/gobierno-libera-dos-nuevas-variedades-de-maiz-centa-asg-y-centa-cs/>
6. CODEX ALIMENTARIUS, (2007). cereales, legumbres, leguminosas y productos proteicos vegetales, Primera edición 47-54.
7. Ecuatoriana, N.T. (2013). NTE INEN-ISO 6540:2013, Maíz. Determinación del contenido de humedad (en granos molidos y granos enteros).

8. ELIKA: Ficha Deoxinivalenol Alimentación Animal, recuperado de http://www.elika.net/es/fichas_sustancias_indeseables.asp?id_cat=4
9. ELISA, Protocolos y Técnicas, Cultek. Recuperado de www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-protocolos.pdf
10. FAO/WHO. Technical Report Series 959. Evaluation of certain contaminants in food. JEFCA 72.
11. Inmunoensayo (2010). Recuperado de www.u-cursos.cl/faciqyf/2010/1/FBQI5103/1/material_docente/bajar?id...
12. Introducción a los Inmunoensayos, (2016). Recuperado de www.alergomed.org/uploads/1/0/0/2/10021998/lectura_prctica_-_inmunoensayos_1.pdf
13. Introducción a Minitab, (2017). by Minitab Inc. Recuperado de www.minitab.com/uploadedFiles/Documents/gettingstarted/MinitabGettingStarted_ESMX.pdf
14. Maíz. Determinación del contenido de humedad (en granos molidos y granos enteros) norma técnica ecuatoriana NTE INEN-ISO 6540:2013.
15. MARN. (2015) Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales, Boletín Climatológico Mensual.
16. Menchú, M. T, H. Méndez (2011) Análisis de la Situación Alimentaria en El Salvador. Guatemala: INCAP

17. Minitab 18. (2017), Análisis de la varianza Recuperado de Soporte de Minitab 18:
<https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-how-to/modeling-statistics/anova/supporting-topics/basics/what-is-anova/>
18. Minitab. (2017). Evaluación de datos normales recuperado de Soporte de Minitab 18:
<https://support.minitab.com/es-mx/minitab/18/help-and-howto/statistics/basic-statistics/supporting-topics/normality/what-to-do-with-nonnormal-data/>
19. Minitab. (2017). Tipos de pruebas t, recuperado, de Soporte de Minitab 18:
<https://support.minitab.com/esmx/minitab/18/helpandhowto/statistics/basic-statistics/supporting-topics/tests-of-means/types-of-t-tests/>
20. Mycotoxins. (January 2003). Risks in Plant, Animal and Human Systems. Council for Agricultural Science and Technology. Ames, IOWA, N° 139.
21. Neogen Corporation 2012, Mycotoxin Handbook, Aflatoxin, Deoxynivalenol (DON), Fumonisin, Ochratoxin, T-2/HT-2 toxins, Zearalenone, 3rd Edition
22. Neogen Corporation 2007, Natural toxins, Veratox^R for Don 5/5
23. Pereira V, Fernandez J and Cunha S, (2014). Mycotoxins in cereals and related foodstuffs: A review on occurrence and recent methods of analysis., Trends in Food Science & Technology.
24. Piñeiro M, Nagler M, Coker R, Nicolaidis R, Wareing P y Myhara R. (1996) Manual Sobre la Aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC) en la Prevención y Control de las Micotoxinas.
<http://www.fao.org/docrep/005/y1390s/y1390s00>

25. RTCA. Reglamento Técnico Centroamericano. Insumos agropecuarios. Requisitos para la producción y comercialización de semilla certificada de granos básicos y soja
26. Reyes w, Isaías H, Rojo F, Jiménez C, Palacios E, Hernández J, Ramírez A (2008), Incidencia de hongos y micotoxinas en el ensilaje de maíz en el estado de Jalisco, México 182-185
27. Soluciones ELISA, Protocolos y Técnicas, Cultek. Recuperado de www.cultek.com/inf/otros/soluciones/Soluciones-ELISA-protocolos.pdf
28. Vega Jiménez, C. (2011), Cuantificación de Micotoxinas más frecuentes en granos de maíz comercializados para el consumo humano en los mercados: Central de San Salvador, Mejicanos y San Miguelito 21-29
29. Velázquez Reyes. W. P., Espinoza. V. H., Rojo F., Jiménez Plasencia. C., Palacios. E., Hernández Góbora. J., Ramírez Álvarez. A. (2008) Incidencia de hongos y micotoxinas en el ensilaje de maíz en el estado de Jalisco, México.
30. Viswanath P. (2012), FAO/WHO Technical Report Series 959. JEFCA 72. Evaluation of certain contaminants in food, recuperado de <http://www.ijmr.org.in/text.asp?2012/135/5/795/97772>
31. Zúñiga E. (2019), Inmunoensayo. Recuperado de www.u-cursos.cl/faciqyf/2010/1/FBQI5103/1/material_docente/bajar?id.

GLOSARIO

CAMBIO CLIMÁTICO: se define como la variación en el estado del sistema climático, durante periodos de tiempo suficientemente largos hasta alcanzar un nuevo equilibrio. ⁽¹⁵⁾

DEOXINIVALENOL(DON):es un tricoteceno tipo B, un epoxi-sesquiterpenoide. Esta micotoxina ocurre predominantemente en granos y lo forman los hongos del género *Fusarium*. ⁽⁸⁾

ELISA: es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color. ⁽⁹⁾

FUSARIUM: es un extenso género de hongos filamentosos ampliamente distribuido en el suelo y en asociación con plantas. Las principales toxinas producidas por estas especies de *Fusarium* son *fumonisin*as, *tricotecenos* y *zearalenona*. ⁽²⁸⁾

MICOTOXINA: son compuestos tóxicos producidos de forma natural por algunos tipos de mohos. ⁽²⁸⁾

RIESGO: es la probabilidad que suceda algún tipo de daño frente a una situación peligrosa. ⁽²⁰⁾

TRICOTECENO: micotoxina producida por especies de *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichoderma*, *Trichotheceum*, *Cephalosporium*, *Verticimonosporium* y *Stachybotrys*. ⁽²⁸⁾

ANEXOS

ANEXO N°1

<p>MUESTRA N°: _____</p> <p>MERCADO: _____</p> <p>ESTABLECIMIENTO: _____</p> <p>FECHA: _____</p>
--

Figura N° 9 Etiqueta de identificación de muestra

ANEXO N° 2

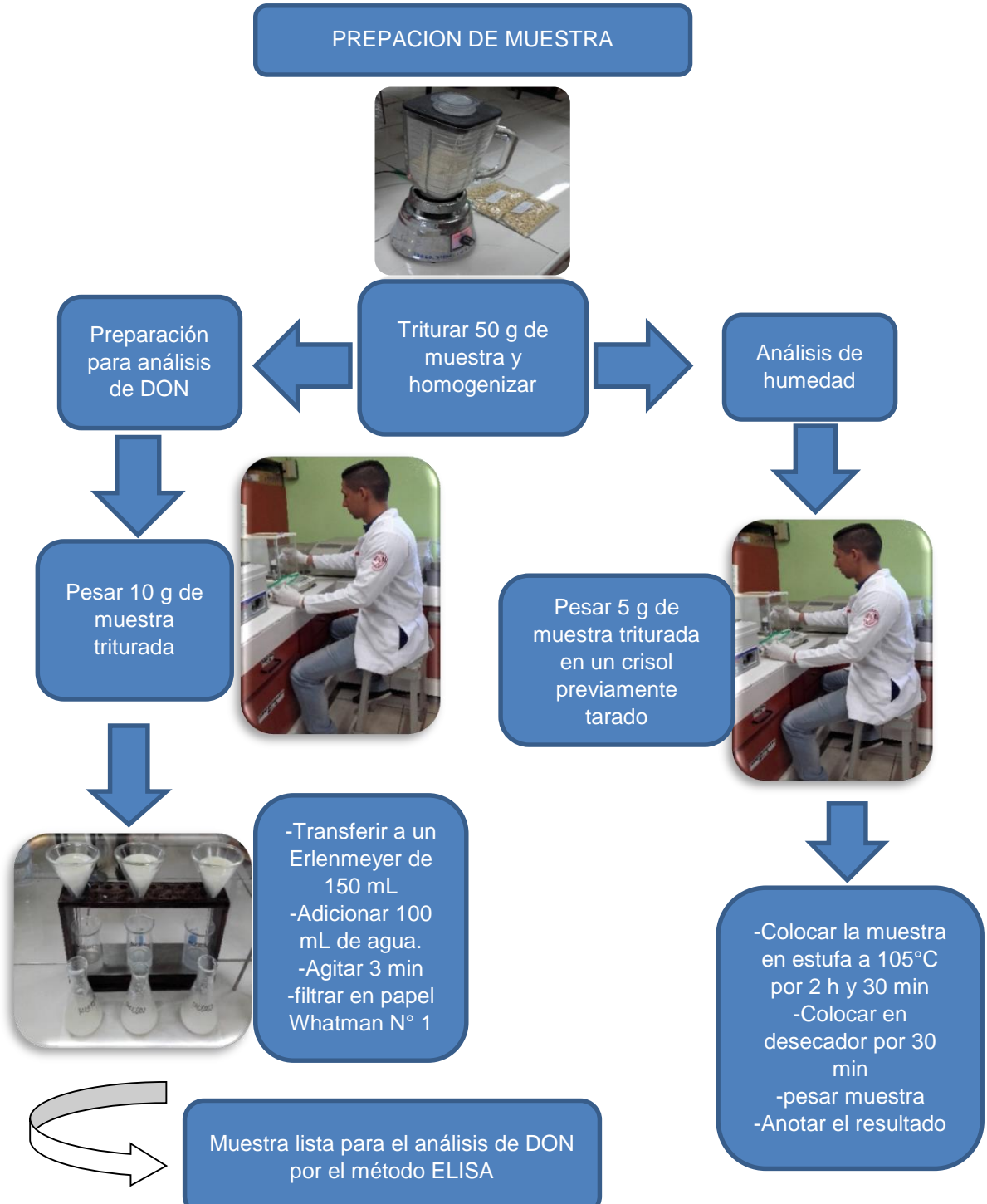
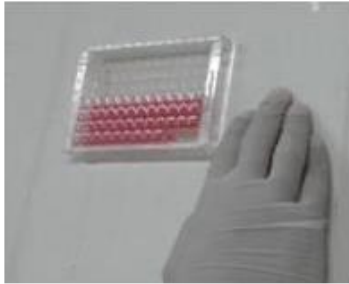
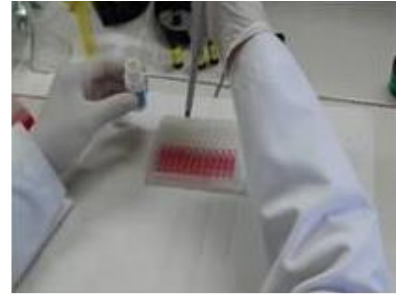


Figura N° 10 Esquema de tratamiento de la muestra para determinación de Deoxinivalenol

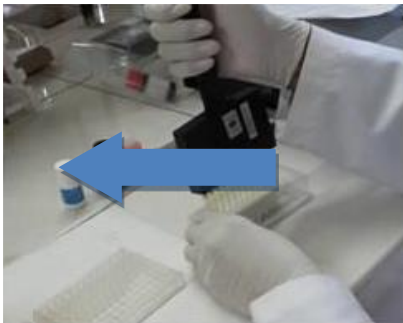
ANEXO N° 3
DETERMINACION DE DEOXINIVALENOL POR EL METODO ELISA
COMPETITIVO



Retirar un pocillo marcado en rojo para cada muestra y colocar en soporte para pocillos



Agregar 100 μL de conjugado a cada pocillo marcado en rojo



Mezclar el líquido de los pocillos pipeteando hacia arriba y hacia abajo tres veces con pipeta multicanal. Transferir 100 μL a los pocillos con revestimiento de anticuerpo

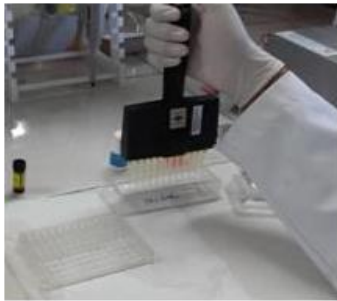


Agregar 100 μL de estándares y muestras a pocillos marcados en rojo

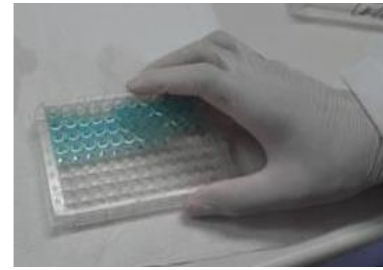


Vaciar los pocillos con revestimientos de anticuerpos. Lavarlos con 300 μL de agua destilada o desionizada (repetir cinco veces)

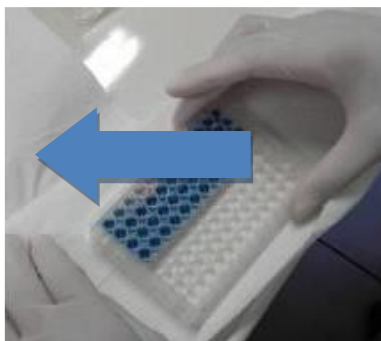
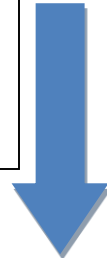
Figura N°11 Esquema de determinación de DON mediante Método ELISA competitivo



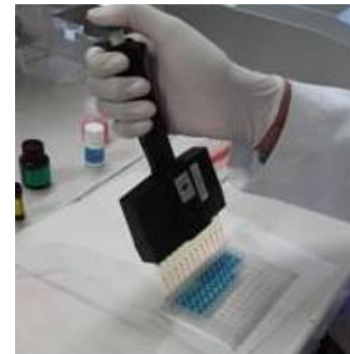
Pipetear 100 μ L de sustrato y añadir a cada pocillo



Mezclar los pocillos de diez a veinte segundos deslizando el soporte hacia atrás y hacia adelante, reposar por cinco minutos



Pasar una toalla o un paño seco en el fondo de los pocillos



Pipetear 100 μ L de solución red stop, añadir a cada pocillo y mezclar deslizando la base hacia atrás y hacia adelante



Leer el resultado en un lector de pocillos utilizando un filtro de 630 nm. Eliminar las burbujas de aire.

Realizar cálculos con lector de microplacas.

Figura N°11 Continuación.

ANEXO N°4

MINITAB 18

MINITAB 18 ⁽⁹⁾

Herramienta estadística de fácil manejo, muy enfocada al análisis de datos y mejora de productos y servicios para implementar proyectos de control de calidad y Six Sigma (seis sigmas).

Minitab ofrece herramientas precisas y fáciles de usar para aplicaciones estadísticas generales y muy especialmente para control de calidad.

Minitab Statistical Software es el único paquete que ofrece todos los métodos estadísticos adecuados:

- Estadística básica y avanzada
- Regresión y ANOVA
- SPC
- DOE - Diseño de experimentos
- Gage R&R
- Minitab Análisis de fiabilidad
- Tamaño de muestra y capacidad
- Series temporales y predicción
- Potente importación, exportación y manipulación de datos
- Lenguaje de macros.

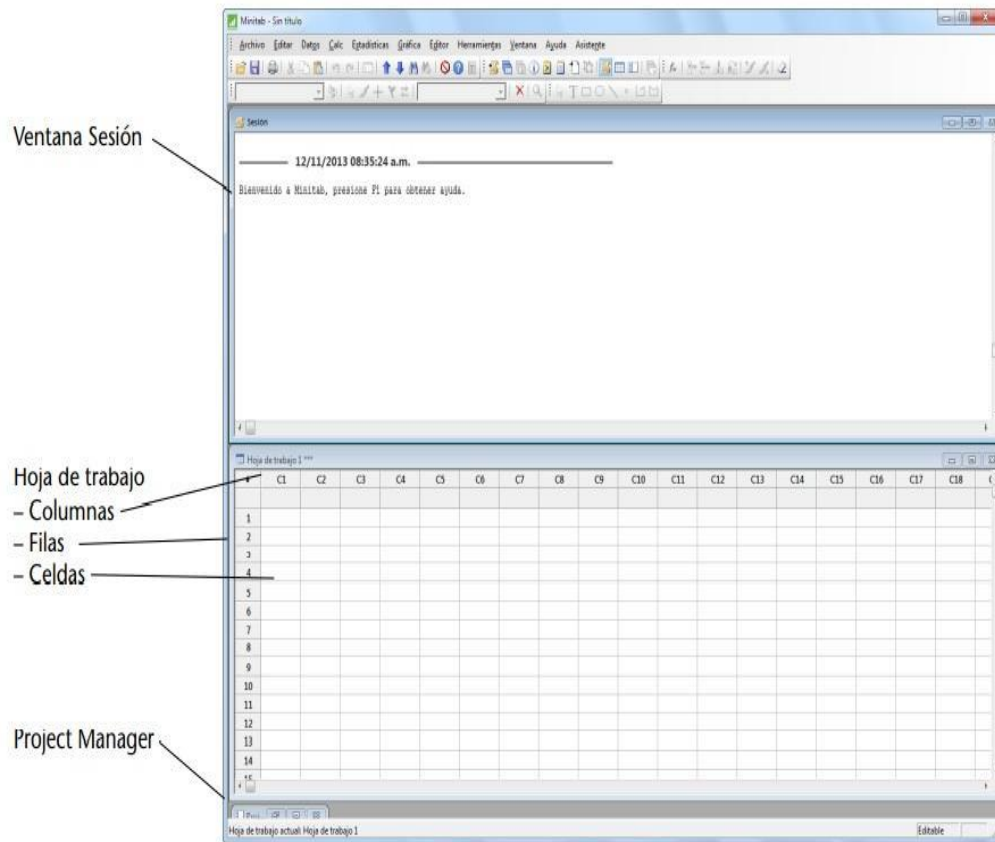


FIGURA N°12 Pantalla de inicio Minitab 18

ANEXO N°5



 UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA 		
LISTA DE CHEQUEO PARA DETERMINAR LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO DEL MAIZ		
LISTA DE CHEQUEO		
NOMBRE DEL ESTABLECIMIENTO	ACCESO TOTAL <input type="checkbox"/> ACCESO LIMITADO <input type="checkbox"/>	
MERCADO		
CONDICIONES DEL LOCAL	BUENO <input type="checkbox"/> REGULAR <input type="checkbox"/> MAL ESTADO <input type="checkbox"/>	CARACTERISTICAS:
ALMACENAMIENTO DEL MAIZ	SACO DE MEZCAL <input type="checkbox"/> SACO DE NAILON <input type="checkbox"/> CONTENEDORES <input type="checkbox"/>	CARACTERISTICAS:
LUGAR DE ALMACENAMIENTO	BODEGA <input type="checkbox"/> CERCA DE LA CALLE <input type="checkbox"/> PASILLOS <input type="checkbox"/>	CARACTERISTICAS:
MODO DE ALMACENAMIENTO	ESTIBADO <input type="checkbox"/> TARIMA <input type="checkbox"/> EN EL SUELO <input type="checkbox"/>	CARACTERISTICAS:
HUMEDAD RELATIVA	_____	ESPECIFICACION: Humedad relativa (HR) inferior a 70% 25°C de temperatura ambiente
TEMPERATURA	_____	

FIGURA N°13 FORMATO DE LISTA DE CHEQUEO PARA IDENTIFICAR RIESGOS

ANEXO N°6

**CUADRO N°3 RESULTADOS DE LISTA DE CHEQUEO PARA LA
VERIFICACION DE CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO
DE MAIZ EN LOS ESTABLECIMIENTOS**

Establecimiento	Condiciones del local			Almacenamiento de maíz			Lugar de Almacenamiento			Modo De Almacenamiento			Condiciones	
	Bueno	Regular	Malo	Saco de Nailon	Contenedores	Saco De Mezcal	Bodega	Pasillo	Cerca De La Calle	Tarima	Estibado	Suelo	%HR	T°C*
BENDICION DE DIOS		X		X				X	X		X	X	41	32.6
TIENDA LIZBETH	X			X			X	X			X	X	42	31.6
EL ANGEL	X			X			X		X		X	X	37	34.5
TIENDA CAROLINA		X			X				X			X	40	30
EL PORTAL		X		X				X			X	X	40	32
SUPER TIENDA LEON DE JUDA	X			X				X				X	49	30.9
LOS HERMANOS		X		X				X				X	48	30.1

ANEXO N°7
CUADRO DE ANALISIS DE RIESGO POR PARAMETRO

CUADRO N°4 DE ANALISIS DE RIESGO POR PARAMETRO

	Especificación	Escala	Riesgo	
Condiciones del lugar	Bueno	1	Bajo	El riesgo es bajo debido a que el local presenta condiciones de infraestructura adecuadas tales como techo, piso y paredes en buen que favorece al buen almacenamiento del maíz
	Regular	2	Medio	Se considera un riesgo medio debido a que el local puede presentar condiciones de infraestructura poco deterioradas, pero no afecta la calidad del maíz durante su almacenamiento.
	Malo	3	Alto	El riesgo es alto ya que las condiciones de infraestructura del local no cumplen con los requisitos mínimos para el almacenamiento del maíz, tales como condiciones del techo, piso y paredes totalmente deteriorado que faciliten la contaminación del cereal con mohos productores de toxinas.
Almacenamiento	Saco de nailon	1	Bajo	El riesgo es bajo debido a que por el material del saco la exposición a la humedad es mínima por lo que la probabilidad de contaminación de mohos por aumento de la humedad en el cereal almacenado disminuye
	Contenedores	2	Medio	Se considera de riesgo medio ya que se expone a factores ambientales tales como partículas de polvo, humedad del ambiente que pueden ser causa de deterioro y contaminación del maíz si se almacena por un tiempo prolongado
	Saco de mezcal	3	Alto	El riesgo de contaminación es alto ya que por el material que está hecho favorece a la acumulación de humedad aumentando la probabilidad de crecimiento de mohos productores de toxina en el maíz almacenado.

CUADRO N°4 CONTINUACIÓN

Lugar de almacenamiento	Bodega	1	Bajo	Se considera de bajo riesgo ya que se encuentra aislado, en condiciones adecuadas de iluminación, temperatura y humedad apropiados para el almacenamiento del maíz.
	Pasillos	2	Medio	El riesgo es medio debido a que se puede ver afectado por distintos factores que puedan afectar de manera indirecta la calidad y la inocuidad del cereal almacenado.
	Cerca de la calle	3	Alto	Se considera de riesgo es alto debido a que se ve expuesto a factores ambientales de manera directa tales como polvo, humedad, temperatura, contaminantes ambientales, manipulación inadecuada que pueden favorecer al crecimiento de mohos productores de toxina en maíz
Modo de almacenamiento	Tarima	1	Bajo	El riesgo es bajo ya que cumple con las especificaciones de almacenamiento al no estar en contacto directo con el suelo evitado así que el cereal absorba humedad y mantenga las características de calidad e inocuidad.
	Estibado	2	Medio	Se considera de riesgo medio debido a que el estar uno sobre otro por un tiempo prolongado puede favorecer al aumento de la humedad y podría verse afectada la calidad del cereal por contaminación.
	Suelo	3	Alto	El riesgo es alto debido al contacto directo con una superficie que favorece el aumento de la humedad, incrementando potencialmente la probabilidad de contaminación del maíz por mohos productores de toxinas

ANEXO N°8
ANALISIS DE VARIANZA

TABLA N°9 ANÁLISIS DE VARIANZA %HUMEDAD

Fuente	GL	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	Valor F	Valor p
%Humedad	1	0.00000	0.000000	0.00	1.000
Error	16	3.73862	0.233664		
Total	17	3.73862			

TABLA N°10 ANÁLISIS DE VARIANZA PPM DON

Fuente	GL	Suma de Cuadrados.	Media de Cuadrados	Valor F	Valor p
Concentración De toxina (ppm)	1	0.006250	0.006250	6.33	0.016
Error	38	0.037500	0.000987		
Total	39	0.043750			