



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**  
**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS**  
**Y BIOTECNOLOGÍA**



**CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

---

**Tema:** Efecto del ozono en la vida útil de pre mezclas farináceas

---

Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Este trabajo forma parte de los proyectos de investigación: “Desarrollo de un prototipo de mezcla farinácea libre de gluten para pastelería, utilizando cultivos andinos tradicionales infrutilizados”, aprobado por el H. Consejo Universitario con resolución 0193-CU-P-2018 y coordinado por Diego Salazar, M.Sc y “Desarrollo de productos alimenticios libres de trigo y gluten a partir de cultivos andinos infrutilizados y residuos agroindustriales” financiado por SENESCYT a través de la convocatoria INEDITA 2018 y coordinado por Mirari Arancibia, Ph.D.

**Autora:** Paola Mishell Chuquilla Toaquiza

**Tutora:** PhD. Mirari Yosune Arancibia Soria

**Ambato - Ecuador**

**Enero 2020**

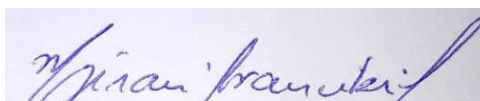
## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

**PhD. Mirari Yosune Arancibia Soria**

### **CERTIFICA:**

Que el presente trabajo de titulación ha ido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 12 de diciembre del 2019



**PhD. Mirari Yosune Arancibia Soria**

C.I. 180214246-1

**TUTORA**

## **DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD**

Yo, Paola Mishell Chuquilla Toaquiza, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



---

Paola Mishell Chuquilla Toaquiza

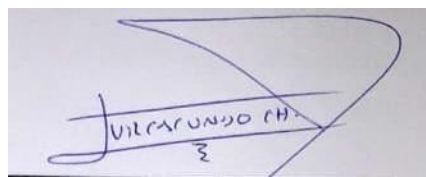
C.I. 050426761-8

**AUTORA**

## **APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO**

Los suscritos Docentes Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'VILCARRUNDO CH.' with a large flourish above it.

Presidente de Tribunal de Grado

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'CARLOS ALBERTO RODRIGUEZ MEZA'.

PhD. Carlos Alberto Rodriguez Meza

C.I. 180216650-2

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'DIEGO MANOLO SALAZAR GARCÉS'.

Diego Manolo Salazar Garcés, MSc.

C.I. 180312429-4

Ambato, 14 de enero de 2020

## **DEREHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo su reproducción parcial o total dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



---

Paola Mishell Chuquilla Toaquiza

C.I. 050426761-8

**AUTORA**

## AGRADECIMIENTO

*A las personas más importantes en mi vida mis padres y hermanos, con sus consejos y palabras de aliento me acompañaron durante el largo camino hasta lograr que mi meta se cumpla. Ustedes son mi ejemplo a seguir, mi fortaleza y mi guía.*

*A Dios por sus bendiciones y permitirme alcanzar una meta más.*

*A la Universidad Técnica de Ambato y a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología por compartir sus conocimientos y formar personas de bien. De forma especial a la Dra. Mirari Arancibia y el Ing. Diego Salazar por los conocimientos impartidos y por ser quienes lograran que este trabajo se realice con éxito.*

*A Mary, Vero, Kathy y Kary con quien compartí muchos años de amistad a lo largo de la carrera, y a mi amiga y compañera de tesis Vane por tu amistad, ayuda y apoyo en este largo camino, logramos alcanzar nuestro objetivo.*

*Finalmente agradezco a una persona muy importante en mi vida quien ha sido mi gran apoyo y consejero, por acompañarme todo momento y animarme a continuar a pesar de todo, Cris V.*

## DEDICATORIA

*Dedico todo el esfuerzo a mis padres Eduardo y América que son los protagonistas de mis triunfos, por dedicarme su tiempo, su amor, su apoyo y por creer todo momento en mí. Gracias por guiarme siempre a la estrella más alta y lograr que se cumpla un objetivo más.*

*A mis hermanos Andrés y Paquito por motivarme a seguir mis sueños, por depositar toda su confianza en mí, y por sus palabras de aliento en los momentos difíciles.*

*¡He logrado una meta más por y para ustedes!*

*Los amo con toda mi vida.*

## INDICE GENERAL

PORTADA.....	i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR .....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA .....	vii
INDICE GENERAL.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS .....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT .....	xv
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1.    Antecedentes Investigativos .....	1
1.1.1.    Harina.....	1
1.1.2.    Harina de raíces y tubérculos .....	1
1.1.3.    Deterioro de harinas .....	3
1.1.4.    Calidad microbiológica .....	5
1.1.5.    Microflora de harinas .....	5
1.1.6.    Factores contaminantes en raíces y tubérculos .....	5
1.1.7.    Agentes oxidantes y microbianos en harinas .....	6
1.1.8.    Ozono .....	6



1.1.9.	Actividad oxidante del ozono.....	7
1.1.10.	Actividad antimicrobiana del ozono .....	7
1.1.11.	Ozono en harinas.....	7
1.2.	Hipótesis .....	8
1.2.1.	Hipótesis Nula ( $H_0$ ):.....	8
1.2.2.	Hipótesis Alternativa ( $H_a$ ):.....	8
1.3.	Señalamiento de Variables .....	8
1.3.1.	Variable Independiente .....	8
1.3.2.	Variable Dependiente.....	9
1.4.	Objetivos.....	9
1.4.1.	Objetivo General .....	9
1.4.2.	Objetivos Específicos.....	9
CAPÍTULO II .....		10
METODOLOGÍA .....		10
2.1.	Materiales .....	10
2.1.1.	Obtención de la materia prima .....	10
2.1.2.	Obtención de harina .....	10
2.1.3.	Formulación de pre mezclas.....	10
2.2.	Métodos .....	10
2.2.1.	Tratamiento con ozono.....	10
2.2.2.	Envasado y almacenamiento .....	11
2.2.3.	Análisis Microbiológico.....	11
2.2.4.	Análisis Fisicoquímicos .....	11
2.2.5.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	13
CAPÍTULO III.....		15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		15
3.1.	Análisis y discusión de los resultados .....	15

3.1.1. Análisis fisicoquímico.....	15
1.4.3. 3.1.2. Análisis microbiológico .....	20
3.2. Verificación de hipótesis .....	23
CAPÍTULO IV .....	24
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	24
4.1. Conclusiones.....	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25
ANEXOS .....	31

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Variables independientes de estudio	9
<b>Tabla 2.</b> Formulación de pre mezclas farináceas	10
<b>Tabla 3.</b> Factores y niveles de estudio del diseño experimental AxBxC	13
<b>Tabla 4.</b> Combinaciones experimentales AxBxC	14
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de acidez expresados en Ácido láctico de pre mezclas tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días	16
<b>Tabla 6.</b> Resultados de pH en pre mezclas tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días	17
<b>Tabla 7.</b> Resultados de humedad de pre mezclas tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días	18
<b>Tabla 8.</b> Resultados de color (L*, a*, b*, C*, °H) de pre mezcla 1 tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días	20
<b>Tabla 9.</b> Resultados de color (L*, a*, b*, C*, °H) de pre mezcla 2 tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días	20

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Camote morado ( <i>Ipomea batata</i> )	2
<b>Figura 2.</b> Oca ( <i>Oxalis tuberosa</i> )	2
<b>Figura 3.</b> Mashua ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> )	3
<b>Figura 4.</b> Achira ( <i>Canna indica</i> )	3
<b>Figura 5.</b> Recuentos microbianos de pre mezcla 1 y pre mezcla 2 <b>(a)</b> <i>Staphylococcus aureus</i> <b>(b)</b> aerobios mesófilos <b>(c)</b> aerobios termófilos <b>(d)</b> enterobacterias y <b>(e)</b> mohos y levaduras y tratadas con 20, 200 ppm y sin ozono almacenada durante 90 días	23
<b>Figura 6.</b> Aplicación de ozono en pre mezclas farináceas	30

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1.</b> Determinación de humedad	12
<b>Ecuación 2.</b> Determinación de acidez titulable	12
<b>Ecuación 3.</b> Determinación de cromaticidad (C*)	13
<b>Ecuación 4.</b> Determinación del ángulo Hue (°H)	13

## RESUMEN

Actualmente, la industria alimentaria se ha enfocado a la búsqueda de nuevos métodos de conservación que impliquen contrarrestar el uso de conservantes químicos, enfatizando la seguridad alimentaria y calidad de los alimentos. El presente trabajo empleó un tratamiento de ozono (20 y 200 ppm), poco convencional en la industria de la harina, sobre pre mezclas de cultivos andinos como camote (*Ipomea batata*), oca (*Oxalis tuberosa*), mashua (*Tropaeolum tuberosum*) y achira (*Canna indica*), para evaluar la eficiencia del mismo mediante controles microbiológicos y análisis fisicoquímicos durante 4, 30, 60 y 90 días de almacenamiento. En cuanto a parámetros fisicoquímicos entre los tratamientos de 20 y 200 ppm de ozono no hubo diferencia significativa en las pre mezclas, por otro lado, no hubo efecto del ozono sobre el contenido de humedad. Así mismo, los resultados indican que a una concentración de 200 ppm de ozono se obtuvo mayor reducción microbiana durante los primeros días de almacenamiento, *Staphylococcus aureus* presentó una disminución logarítmica de 0,25 y 0,8 para la pre mezcla 1 y 2 respectivamente, aerobios termófilos una reducción de 1,17 y 1,30 unidades logarítmicas para pre mezcla 1 y 2 respectivamente, aerobios mesófilos reducciones de 0,6 y 0,5 unidades logarítmicas en la pre mezcla 1 y 2, y para enterobacterias una disminución de 0,46 y 0,45 unidades logarítmicas para la pre mezcla 1 y 2 respectivamente en relación al control. Con respecto a mohos y levaduras no se observaron diferencias significativas a 20 y 200 ppm en ninguna pre mezcla con el control.

**Palabras claves:** Harinas, ozono, cultivos andinos, conservantes, control microbiológico, análisis fisicoquímicos.

## ABSTRACT

Currently, the food industry has focused on the search for new conservation methods that involve reducing the use of chemical food preservatives, emphasizing food safety and food quality. The present work used an ozono treatment (20 and 200 ppm), unconventional in the flour industry, on pre mixtures of Andean crops such as sweet potatoe (*Ipomea batata*), oca (*Oxalis tuberosa*), mashua (*Tropaeolum tuberosum*) and achira (*Canna indica*), to evaluate its efficiency through microbiological controls and physicochemical analysis for 4, 30, 60 and 90 days in storage. Regarding physicochemical parameters between the treatments of 20 and 200 ppm of ozone there was no significant difference in the pre mixtures, on the other hand, there was no effect of ozone on the moisture content. Likewise, the results indicate that at a concentration of 200 ppm of ozone, a greater microbial reduction was obtained during the first days of storage, *Staphylococcus aureus* showed a logarithmic decrease of 0,25 and 0,8 for pre mixtures 1 and 2 respectively, thermophilic aerobes a reduction of 1,17 and 1,30 logarithmic units for pre mixtures 1 and 2 respectively, mesophilic aerobes of 0,6 and 0,5 logarithmic units in pre mixtures 1 and 2, and for enterobacteria a decrease of 0,46 and 0,45 logarithmic units for pre mixtures 1 and 2 respectively in relation to the control. Regarding molds and yeasts, no were observed significant differences at 20 and 200 ppm in any pre mixtures with the control.

**Keywords:** Flour, ozone, Andean crops, food preservatives, microbiological control, physicochemical analysis.

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes Investigativos

#### 1.1.1. Harina

El termino harina hace referencia al polvo fino que se obtiene a partir de cereales principalmente trigo o productos deshidratados y molidos ricos en almidón y en otros componentes como azúcares, proteínas, minerales y vitaminas (Romero de la Hoz & Tuiran Prado, 2017). Una harina de calidad está determinada por el contenido de proteínas (gluten), puesto que esta determina en gran medida las características tecnológicas ya sea para elaboración de pan o productos de pastelería o repostería (Osborne, 2009).

#### 1.1.2. Harina de raíces y tubérculos

De acuerdo con el concepto expresado por (FAO, 1995), son consideradas como harinas compuestas es decir que no contienen trigo, únicamente contiene raíces o tubérculos con o sin una proteína suplementaria (Elías, 1996). Una vez eliminada el agua, las raíces y tubérculos andinos (RTAs) comienzan a cobrar mayor importancia, el contenido de fibra alimentaria, almidón y carbohidratos de sus harinas presentan un valor más importante que en los productos sin procesar, considerándose como alimentos energéticos (Fairlie, Bermúdez, & Holle, 1999).

Aptas para el uso en la industria alimentaria, su principal característica es la ausencia de gluten (CIP, 1995). Las harinas compuestas se han desarrollado como respuesta al creciente costo del trigo y como medida para preservar tradiciones culinarias en las regiones, entre sus usos se incluyen en la producción de pastas, tortillas y alimentos suplementarios (González Toro, 2012), y productos como sopas deshidratadas y snacks, siendo una alternativa a mejorar el valor nutritivo de los alimentos (Medina Condo, Thaquima, & Kasandra, 2018).

#### **Harina de camote (*Ipomoea batatas.*)**

El camote es aprovechado en forma de harina por su capacidad de almacenamiento y con el fin de aumentar su valor nutritivo, es empleada en la industria alimentaria en



productos como sopas, salsas y snacks. Se debe tomar en cuenta que no contiene gluten. (Zhindon Zapata, 2013) [ENREF 53](#)

La harina de camote consta de una actividad de agua ( $a_w$ ) de 0,26 y una humedad de 6,14%. (Poveda, Del, Granados, & Gabriela, 2016). De igual forma, una acidez de 0.04, pH de 5.5, y contenido de ceniza de 0.76 (Pérez & Pacheco de Delahaye, 2005).



**Figura 1.** Camote morado (*Ipomea batata*)

#### **Harina de oca (*Oxalis tuberosa*)**

Conocido como “Kcaya”, al producto deshidratado y secado al sol. La oca presenta varias formas de transformación, una de ellas es en harina con el fin de conservarse por tiempos prolongados (Palate Amaguaña, 2012).

Ha sido considerada en el uso de panadería con el 10% de sustitución y en galletas con un 40% de sustitución de harina de trigo. El valor nutritivo de la harina de oca presenta valores de fibra 2.49%, grasas 0.52%, ceniza 4,23% y humedad de 6.30%; mientras que para pH y acidez presenta valores de 6,03 y 0,18% respectivamente (Meza & Cancho Mallma, 2017) [ENREF 32](#)



**Figura 2.** Oca (*Oxalis tuberosa*)

#### **Harina de mashua (*Tropaeolum tuberosum*)**

Una forma común de conservación de mashua ha sido mediante su deshidratación y transformación en harina (Jacobsen, Mujica, & Ortiz, 2003) [ENREF 22](#)

Las propiedades de la harina de mashua presentan, una humedad de 13.80%, proteína 10.40%, ceniza 5.68% y carbohidratos totales 62,18% (Guerra Ludeña, 2014). Mientras que, presenta un porcentaje de acidez de 0,05% y pH de 4,71 (Medina Condo et al., 2018) [ENREF 31](#)



**Figura 3.** Mashua (*Tropaeolum tuberosum*)

### **Harina de achira (*Canna indica*)**

La achira es una planta rica en almidón y su rendimiento está relacionado a su madurez. Presenta propiedades más apropiadas a resistencia en procesos de industrias en relación a otros almidones que se derivan de otras fuentes cereales (Torres Alberca, 2015).

La harina de achira presenta un alto contenido de almidón (71,1 a 81,3%), una humedad de 13 - 23%, proteína 0,18 - 71% y grasa 0,048 - 0,09% (Caicedo, 2003). Por otro lado un pH de 6,53, acidez 0,02% y humedad de 7,12 (Cáceres, 2019).



**Figura 4.** Achira (*Canna indica*)

### **1.1.3. Deterioro de harinas**

Existen diferentes factores extrínsecos e intrínsecos que inciden con el deterioro de las harinas (Oré Areche, 2015).

## Parámetros extrínsecos

- **Capacidad de retención de agua:** Cuando el agua se adhiere a la superficie de los gránulos de almidón, llevándole al hinchamiento de poros.
- **Humedad del medio ambiente:** Las harinas son muy higroscópicas, durante el proceso de almacenamiento puede alterarse fácilmente. Con el aumento de humedad la contaminación bacteriana es fácil de instaurarse. Además, se verá favorecida la actividad enzimática dando como resultado aumento en la acidez, enranciamiento y enmohecimiento. (Holguin Bedoya, Yeneris, & Paola, 2019).
- **Temperatura:** Altas temperaturas favorecen el enranciamiento, formándose ácidos grasos libres de cadena corta y con ellos mal olor y sabor.
- **Almacenamiento inadecuado:** Puede propiciar el crecimiento bacteriano, hace referencia a la humedad del producto, temperatura y humedad relativa del ambiente y condiciones sanitarias del ambiente.

## Parámetros intrínsecos

- **Actividad de agua:** Los microorganismos requieren de agua para metabolizar nutrientes y eliminar desechos celulares, por ello la actividad de agua es indispensable para la proliferación bacteriana y llevar a cabo reacciones de deterioro. (Otavalo Quito & Mogrovejo Loza, 2018) [ENREF 40](#)

La calidad microbiológica de la harina está asociada principalmente a su actividad de agua, la mayoría de microorganismos necesitan alta actividad de agua para su desarrollo sin embargo, una baja actividad de agua no asegura la ausencia de los mismos (Parker, 2005).

- **pH:** Las bacterias tienen un rango neutro de crecimiento entre 6.6 a 7.5. Mientras que, las levaduras se desarrollan en medios ácidos inferiores a 3.5.
- Se debe tomar en cuenta que micronutrientes como sales y minerales también son aprovechados junto con los almidones, azúcares y compuestos

nitrogenados por microorganismos. (Barrios Simon & Chavez Santos, 2016). [ENREF 4](#)

#### **1.1.4. Calidad microbiológica**

La aceptabilidad de un producto se basa principalmente a la ausencia o presencia de microorganismos, cantidad y sus toxinas, existen dos grupos de microorganismos indicadores de calidad en alimentos que son:

- Indicadores de alteración del producto: aerobios mesófilos, mohos, levaduras y coliformes totales.
- Indicadores de higiene; coliformes fecales, *E. coli*, *Enterococcus* y *Salmonella spp.* (Otavalo Quito & Mogrovejo Loza, 2018),

#### **1.1.5. Microflora de harinas**

Las harinas en general presentan una actividad de agua muy baja que dificulta el desarrollo microbiano, sin embargo los procesos de molienda, al igual que las manipulaciones sometidas a la harina y el contacto con el ambiente produce recontaminación del producto, una flora de harina está constituida principalmente por esporos de *Bacillus*, coliformes, y numerosas esporas de mohos (Anderson & Calderón, 1999). Además de levaduras, bacterias aerobias y en ocasiones *Salmonella* (Leonor Carrillo, Audisio, & Bejarano, 2007).

De acuerdo al contenido de agua que presente la harina, las levaduras se adaptan a  $a_w > 0,85$ ; hongos filamentosos  $a_w > 0,80$  y otros extremadamente tolerantes a actividades de agua muy bajas  $a_w = 0,60$  (Parker, 2005). Una característica de estos microorganismos es ser xerófilos, es decir que son capaces de crecer rápidamente bajo condiciones de sequedad o capacidad de desarrollarse en  $a_w$  inferiores a 0,85; dependiendo también del valor nutritivo de la matriz (Andino & Castillo, 2010).

#### **1.1.6. Factores contaminantes en raíces y tubérculos**

Existen varios microorganismos que tienen la capacidad de sobrevivir a procesos como desinfección y multiplicarse durante su almacenamiento (Otavalo Quito & Mogrovejo Loza, 2018). Los factores a considerar son:

- **Suelo:** Los tubérculos al ser productos provenientes del suelo presentan microorganismos contaminantes pertenecientes a la flora natural en la que se encontraba, entre ellos están mohos y levaduras; así como puede existir coliformes y enterococos (Anderson & Calderón, 1999).
- **Almacenamiento:** El almacenamiento común de raíces y tubérculos consiste en el apilamiento del producto a la intemperie, generando mayores pérdidas por la acción de hongos, bacterias e insectos que deterioran el producto cosechado y por ende los subproductos (De Icochea, 1997).
- **Heridas y magulladuras:** En tubérculos recién cosechados y los que van a ser almacenados provoca infección y contaminación de hongos principalmente del género *Fusarium* (Acuña, 1994).

#### 1.1.7. Agentes oxidantes y microbianos en harinas

Una forma de controlar el número de microorganismos de las harinas de cereales es mediante blanqueadores. (Carrillo, 2007)

El uso de agentes oxidantes y blanqueadores tienen el fin de acelerar su maduración natural y mejorar las condiciones de masa destinada a panadería, además de actuar como antimicrobianos. Entre ellos se encuentran el peróxido de calcio, peróxido de benzoílo, propionato de calcio, sorbato y ácido ascórbico; el cloro es un agente oxidante muy fuerte que destruye pigmentos de la harina. Muchas harinas son tratadas con cloro o dióxido de cloro gaseoso para mejorar la calidad de pasteles, sin embargo, genera sustancias cloradas indeseables. (László et al., 2008) [ENREF 7](#)

#### 1.1.8. Ozono

El ozono es considerado un potente oxidante reconocido como seguro (GRAS) por la FDA para el uso auxiliar de procesamiento de alimentos (Gaou et al., 2005). El ozono ( $O_3$ ) es una molécula triatómica altamente inestable que al degradar actúa como agente oxidante muy eficaz en la destrucción de microorganismos (Güzel-Seydim & Bever Jr, 2004). La particularidad del ozono es su descomposición en tiempos cortos a oxígeno molecular sin dejar residuos (vida media de 20 a 50 minutos) (Sandhu, Manthey, & Simsek, 2011).

### **1.1.9. Actividad oxidante del ozono**

En los últimos años ha sido utilizado como un agente oxidante en diferentes aplicaciones alimentarias por tener efectos letales no térmicos en los microorganismos mediante el daño que produce en la membrana celular, el tratamiento se considera una técnica de procesamiento de alimentos ecológica y rentable (Sui et al., 2016). El ozono tiene un potencial de oxidación más alto que el del cloro y el peróxido de hidrogeno, siendo el oxidante más fuerte actualmente disponible para aplicaciones alimentarias (Chawla, Kasler, Sastry, & Yousef, 2012),. La efectividad de éste depende se la cantidad aplicada pero más del ozono residual en el medio; si se aplica en un entorno alimentario que son ricos en materia orgánica, éste reacciona con todos los compuestos. Por ello cuando la demanda de ozono del medio aumenta la cantidad requerida para la inactivación microbiana o la degradación de residuos incrementará. (Karaca & Velioglu, 2007) [ENREF 23](#)

Se debe tomar en cuenta que al ser un oxidante fuerte no es compatible con materiales de equipos de uso común en la industria y puede causar corrosión en el equipo existente. (Chawla et al., 2012) [ENREF 10](#)

### **1.1.10. Actividad antimicrobiana del ozono**

El ozono actúa sobre componentes esenciales de las paredes celulares de microorganismos como lípidos, enzimas, proteínas y ácidos nucleicos. Cuando gran parte de la barrera de la membrana se destruye, da como resultado la fuga del contenido celular y lisis de la célula. (Mahapatra, Muthukumarappan, & Julson, 2005) [ENREF 29](#)

Al ser un fuerte antimicrobiano de amplio espectro actúa contra bacterias, hongos, virus, protozoos y esporas fúngicas. Sin embargo, se debe tomar en cuenta la matriz alimentaria sobre la que actúa debido a la presencia de componentes del medio que demandan ozono. (Khadre, Yousef, & Kim, 2001).

### **1.1.11. Ozono en harinas**

La aplicación de ozono ha sido estudiada en harinas de cereales principalmente en harina de trigo, diversos estudios sobre la ozonización de la harina de trigo dan como resultado un producto final de mejor calidad desde el punto de vista comercial y tecnológico (Paes, Faroni, dos Santos, & Urruchi, 2010). Li et al. (2013) , realizaron

un estudio sobre muestras de harina de trigo y encontraron una disminución inmediata de microorganismos después del tratamiento con ozono y durante el almacenamiento.

## 1.2. Hipótesis

### 1.2.1. Hipótesis Nula ( $H_0$ ):

La aplicación de diferentes concentraciones de ozono no incide en las propiedades fisicoquímicas y calidad microbiológica de pre mezclas farináceas.

### 1.2.2. Hipótesis Alternativa ( $H_a$ ):

La aplicación de diferentes concentraciones de ozono incide en las propiedades fisicoquímicas y calidad microbiológica de pre mezclas farináceas.

## 1.3. Señalamiento de Variables

### 1.3.1. Variable Independiente

- Pre mezcla farinácea.
- Concentración de ozono
- Días de evaluación.

**Tabla 1.** Variables independientes de estudio

<b>Formulación de pre mezcla</b>	<b>P<sub>1</sub>: Pre mezcla (camote, mashua, achira)</b> <b>P<sub>2</sub>: Pre mezcla (oca, mashua, achira)</b>
<b>Concentración de ozono</b>	<b>C:</b> Sin ozono - Control <b>O<sub>20</sub>:</b> Ozono 20 ppm <b>O<sub>200</sub>:</b> Ozono 200 ppm
<b>Días de evaluación</b>	Día 4 Día 30 Día 60 Día 90

### **1.3.2. Variable Dependiente**

- Propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, color, humedad).
- Análisis microbiológico (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella shigella*, *Enterobacteriaceae*, mohos y levaduras y Aerobios mesófilos y termófilos).

## **1.4.Objetivos**

### **1.4.1. Objetivo General**

Determinar el efecto del ozono sobre la calidad microbiológica de pre mezclas farináceas.

### **1.4.2. Objetivos Específicos**

- Evaluar la calidad microbiológica de pre mezclas farináceas tratadas con ozono a 20 y 200 ppm.
- Evaluar las características fisicoquímicas de pre mezclas farináceas tratadas con ozono a 20 y 200 ppm.
- Determinar el tiempo de vida útil de pre mezclas farináceas con ozono en relación a su calidad microbiológica y propiedades fisicoquímicas.



## CAPÍTULO II.

### METODOLOGÍA

#### 2.1. Materiales

##### 2.1.1. Obtención de la materia prima

Los cultivos de camote (*Ipomoea batatas*), oca (*Oxalis tuberosa*), mashua (*Tropaeolum tuberosum*) y achira (*Canna edulis*) fueron adquiridos en mercados locales de Ambato y Patate provincia de Tungurahua.

##### 2.1.2. Obtención de harina

Las raíces y tubérculos fueron lavados, secados y troceados uniformemente con un espesor de 2 – 3 mm aproximadamente. Con ayuda de un secador de bandejas (GANDER MTN) a 60 °C fueron deshidratadas por 24 horas hasta humedad constante y finalmente, el producto seco fue molido en un molinillo (Daewoo).

##### 2.1.3. Formulación de pre mezclas

La formulación utilizada en cada pre mezcla fue:

**Tabla 2.** Formulación de pre mezclas farináceas

Pre mezcla 1		Pre mezcla 2	
Componente	Porcentaje (%)	Componente	Porcentaje (%)
Camote	45	Oca	45
Achira	10	Achira	45
Mashua	45	Mashua	10
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>TOTAL</b>	<b>100</b>

#### 2.2. Métodos

##### 2.2.1. Tratamiento con ozono

Cada pre mezcla fue expuesta a ozono gaseoso en concentraciones de 20 y 200 ppm, por un minuto con ayuda de un matraz kitasato, para ello se utilizó un generador de ozono (ANSEROS MONITOR MP, Alemania). Y la concentración del gas fue medida

en forma continua mediante un analizador de ozono (ANSEROS MONITOR MP, Alemania).

### **2.2.2. Envasado y almacenamiento**

La harina fue clasificada por pre mezcla de harina y concentración de ozono, y fueron colocadas en fundas plásticas con cierre hermético. Se almacenó durante 4, 30, 60 y 90 días a temperatura ambiente ( $16 \pm 1^\circ\text{C}$ ) con una humedad relativa de  $45 \pm 1\%$  hasta su análisis.

### **2.2.3. Análisis Microbiológico**

Para la caracterización microbiológica, se colocó 10 gramos de muestra en bolsas estériles (Seward, Stomacher Bags) con 90 ml de agua peptonada para su homogenización con ayuda de un Stomacher (Seward, Stomacher) durante un minuto y se realizaron diluciones seriadas. La siembra para *Enterobacteriaceae* se realizó en doble capa con agar bilis rojo violeta glucosa, VRBG (Acumedia, EEUU) con una incubación a  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas; para recuento de aerobios mesófilos y termófilos se realizó siembra en superficie en placas con agar plate count agar, PCA (Merck, Germany) incubándose a  $37^\circ\text{C}$  y  $50^\circ\text{C}$  respectivamente por 24 horas; para recuento de mohos y levaduras se realizó en placas con agar papa dextrosa, PDA (Difco, France) con una incubación a  $25^\circ\text{C}$  por 5 días; el recuento de *Staphilococcus aureus* se realizó en placas con agar Baird Parker con telurito (Difco, France) incubándose a  $30^\circ\text{C}$  por 48 horas, para recuento de salmonella se realizó en placas con agar *Salmonella Shigella, SS* (Acumedia, EEUU) a una temperatura de incubación de  $37^\circ\text{C}$  por 24 horas y para recuento de *Bacillus cereus* se realizó en placas con agar selectivo *Bacillus cereus* (Acumedia, EEUU) y se incubó a  $37^\circ\text{C}$  por 48 horas. Los análisis fueron realizados por duplicado, los resultados fueron expresados como el logaritmo de Unidades Formadoras de Colonias por gramo (log UFC/g).

### **2.2.4. Análisis Fisicoquímicos**

#### **Humedad**

Para la determinación de humedad, se basó en la metodología de la AOAC 930.15. Se colocó 2 gramos de harina en una cápsula vacía previamente tarada y pesada, se colocó en una estufa a  $130^\circ\text{C}$  por 24 horas. Finalizado el proceso se colocó en un desecador

hasta peso constante. Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados fueron expresados en porcentaje. El porcentaje se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\%H = \left( \frac{(w1-w2)}{Pm} \right) * 100 \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde:

**W1:** Peso de la muestra + cápsula antes de la estufa (g).

**W2:** Peso de la muestra + cápsula después de la estufa (g).

**Pm:** Peso de la muestra (g).

## pH

Para la determinación de pH se basó en la (NTE INEN 526 (2012)). Se colocó en un vaso de precipitación 10 gramos de la muestra en 100 ml de agua destilada, se dejó en reposo y decantó el líquido. Con la ayuda de un potenciómetro (METTLER TOLEDO) se introdujo los electrodos en el vaso de la muestra, teniendo en cuenta que no exista contacto con las paredes del recipiente ni con partículas sólidas. El análisis de pH se realizó por triplicado.

## Acidez Titulable

Para la determinación de acidez se basó en la Norma AOAC 939.05, con ayuda de un titulador automático (METTLER TOLEDO). Se pesó 10 gramos de muestra y se añadió 90 ml de agua destilada para su homogeneización, los análisis se realizaron por triplicado en cada tratamiento. La acidez expresada como porcentaje de ácido tartárico se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$\%AcidezTitulable = \frac{V(NaOH)*N(NaOH)*F}{Pm} * 100 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde:

**V<sub>(NaOH)</sub>:** Volumen gastado de Hidróxido de Sodio (ml).

**N<sub>(NaOH)</sub>:** Normalidad de NaOH (0,1 N).

**Factor predominante:** Ácido tartárico, 0.075

**Pm:** Peso de la muestra

## Color

La determinación de color se realizó con un colorímetro (LOVIBOND COLOR). Se evaluaron parámetros de Luminosidad ( $L^*$ ), rojo/verde ( $a^*$ ), amarillo /azul ( $b^*$ ). Cada tratamiento fue colocado en cajas Petri y se realizó 10 mediciones en un mismo punto de referencia por triplicado. Cromaticidad (C) y ángulo Hue ( $^{\circ}H$ ) se calcularon mediante las siguientes ecuaciones:

$$C = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

$$^{\circ}H = \text{Arctan}\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad \text{(Ecuación 4)}$$

Dónde:

$a^*$ = rojo/verde

$b^*$ = amarillo/azul

### 2.2.5. Diseño experimental y análisis estadístico

Se aplicó un diseño experimental con arreglo factorial  $A \times B \times C$  con sus respectivos niveles, y se obtuvieron 24 tratamientos con 3 repeticiones. El análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de Tukey fueron analizados mediante el programa estadístico Statgraphics, tomando en cuenta una significancia del 95% para la comparación de medias. Los factores y niveles de estudio fueron los siguientes:

**Tabla 3.** Factores y niveles de estudio del diseño experimental  $A \times B \times C$

FACTORES	NIVELES
<b>Factor A: Pre mezcla farinácea</b>	$a_0$ : Pre mezcla 1 (camote, mashua y achira) $a_1$ : Pre mezcla 2 (oca, mashua y achira)
<b>Factor B: Concentración de ozono</b>	$b_0$ : sin ozono $b_1$ : 20 ppm de ozono $b_2$ : 200 ppm de ozono
<b>Factor C: Días de evaluación</b>	$c_0$ : 4 días $c_1$ : 30 días $c_2$ : 60 días $c_3$ : 90 días

**Tabla 4.** Combinaciones experimentales AxBxC

<b>COMBINACIONES</b>		
1	<b>a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub></b>	Pre mezcla 1, sin ozono, 4 días
2	<b>a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub></b>	Pre mezcla 1, sin ozono, 30 días
3	<b>a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub></b>	Pre mezcla 1, sin ozono, 60 días
4	<b>a<sub>0</sub>b<sub>0</sub>c<sub>3</sub></b>	Pre mezcla 1, sin ozono, 90 días
5	<b>a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub></b>	Pre mezcla 1, 20 ppm, 4 días
6	<b>a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub></b>	Pre mezcla 1, 20 ppm, 30 días
7	<b>a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub></b>	Pre mezcla 1, 20 ppm, 60 días
8	<b>a<sub>0</sub>b<sub>1</sub>c<sub>3</sub></b>	Pre mezcla 1, 20 ppm, 90 días
9	<b>a<sub>0</sub>b<sub>2</sub>c<sub>0</sub></b>	Pre mezcla 1, 200 ppm, 4 días
10	<b>a<sub>0</sub>b<sub>2</sub>c<sub>1</sub></b>	Pre mezcla 1, 200 ppm, 30 días
11	<b>a<sub>0</sub>b<sub>2</sub>c<sub>2</sub></b>	Pre mezcla 1, 200 ppm, 60 días
12	<b>a<sub>0</sub>b<sub>2</sub>c<sub>3</sub></b>	Pre mezcla 1, 200 ppm, 90 días
13	<b>a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>0</sub></b>	Pre mezcla 2, sin ozono, 4 días
14	<b>a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>1</sub></b>	Pre mezcla 2, sin ozono, 30 días
15	<b>a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>2</sub></b>	Pre mezcla 2, sin ozono, 60 días
16	<b>a<sub>1</sub>b<sub>0</sub>c<sub>3</sub></b>	Pre mezcla 2, sin ozono, 90 días
17	<b>a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>0</sub></b>	Pre mezcla 2, 20 ppm, 4 días
18	<b>a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>1</sub></b>	Pre mezcla 2, 20 ppm, 30 días
19	<b>a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>2</sub></b>	Pre mezcla 2, 20 ppm, 60 días
20	<b>a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>c<sub>3</sub></b>	Pre mezcla 2, 20 ppm, 90 días
21	<b>a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>c<sub>0</sub></b>	Pre mezcla 2, 200 ppm, 4 días
22	<b>a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>c<sub>1</sub></b>	Pre mezcla 2, 200 ppm, 30 días
23	<b>a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>c<sub>2</sub></b>	Pre mezcla 2, 200 ppm, 60 días
24	<b>a<sub>1</sub>b<sub>2</sub>c<sub>3</sub></b>	Pre mezcla 2, 200 ppm, 90 días

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Análisis y discusión de los resultados

##### 3.1.1. Análisis fisicoquímico

Los porcentajes de acidez expresados porcentaje de ácido tartárico se reporta en la tabla 5, existe diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre pre mezclas predominando la acidez de la pre mezcla 1 con un valor entre 1,16% a 1,30% debida a un mayor contenido de mashua en su formulación y valores entre 0,81 a 0,80 para la pre mezcla 2. Los valores de acidez para cada harina constituyente son 1,03% (harina de mashua), 0,25% (harina de camote), 0,24% (harina de oca) y 0,5% (harina de mashua) (Ocaña Palacios, 2019).

Se observa que existen cambios significativos en ambas pre mezclas con tratamiento frente al control a partir del día 30. Durante el tiempo de almacenamiento al día 90 se evidenció un aumento de acidez de 1,22% a 1,30% en la pre mezcla 1 a 20 y 200 ppm de ozono respecto al control. La acidez en las harinas se debe a la presencia de ácidos grasos, una elevación se debe al contenido de humedad y/o acción microbiana (Mindiolaza Medina, 2016). La acidez es un valor inversamente proporcional al pH, a medida que el ozono oxida la harina se van formando ácidos grasos lo que resulta un aumento de acidez (Marston, Khouryieh, & Aramouni, 2015). Por otro lado, a medida que la harina envejece su acidez tiende a aumentar, pudiendo las harinas muy viejas sobrepasar el porcentaje máximo de harinas sanas (Torpoco Vivas, 2014).

**Tabla 5.** Porcentaje de acidez expresados en Ácido láctico de pre mezclas tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días

		ACIDEZ (% AC. TARTÁRICO)			
		Días de evaluación			
		Día 4	Día 30	Día 60	Día 90
<b>Pre mezcla 1</b>	<b>P<sub>1</sub>C</b>	1,25±0,004 <sup>A;a;y</sup>	1,17±0,003 <sup>A;a;x</sup>	1,21±0,024 <sup>A;a;xy</sup>	1,21±0,022 <sup>A;a;xy</sup>
	<b>P<sub>1</sub>O<sub>20</sub></b>	1,22±0,024 <sup>A;a;x</sup>	1,19±0,016 <sup>A;a;x</sup>	1,22±0,006 <sup>A;a;x</sup>	1,30±0,006 <sup>A;b;y</sup>
	<b>P<sub>1</sub>O<sub>200</sub></b>	1,25±0,018 <sup>A;a;x</sup>	1,16±0,010 <sup>A;a;x</sup>	1,23±0,007 <sup>A;a;x</sup>	1,30±0,003 <sup>A;b;y</sup>
<b>Pre mezcla 2</b>	<b>P<sub>2</sub>C</b>	0,82±0,115 <sup>B;a;x</sup>	0,84±0,008 <sup>B;b;x</sup>	0,87±0,004 <sup>B;b;x</sup>	0,78±0,037 <sup>B;a;x</sup>
	<b>P<sub>2</sub>O<sub>20</sub></b>	0,81±0,060 <sup>B;a;x</sup>	0,81±0,000 <sup>B;a;x</sup>	0,88±0,003 <sup>B;b;x</sup>	0,90±0,000 <sup>B;b;x</sup>
	<b>P<sub>2</sub>O<sub>200</sub></b>	0,87±0,012 <sup>B;a;y</sup>	0,83±0,01 <sup>B;ab;xy</sup>	0,83±0,005 <sup>B;a;x</sup>	0,85±0,012 <sup>B;ab;x</sup>

Pre mezcla 1 (camote, mashua, achira), Pre mezcla 2 (oca, mashua, achira), C20 (Pre mezcla 1, 20 ppm de ozono), P1C200 (Pre mezcla 1, 200 ppm de ozono), Control P1 (Pre mezcla 1, sin ozono), P2C20 (Pre mezcla 2, 20 ppm de ozono), P2C200 (Pre mezcla 2, 200 ppm de ozono) y Control P2 (Pre mezcla 2, sin ozono).

Letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas <sup>A, B</sup> “pre mezclas”, letras minúsculas <sup>a, b</sup> “concentración de ozono” y letras <sup>x, y, z</sup> “días de evaluación”, evaluadas con la prueba Tukey a un nivel de confianza del 95%.

En la tabla 6 se puede observar que los valores de pH muestran diferencia significativa entre pre mezclas, dada por el contenido de pH que caracteriza a cada harina. Los valores de pH para la harina de oca, achira, mashua y camote son 6.35; 6.05; 5.88 y 5.85 respectivamente (Ocaña Palacios, 2019). La pre mezcla 2 presenta valores superiores con un pH que oscilan entre 6,4 en relación a la pre mezcla 1 con un pH que oscila entre 6.1, esto se atribuye a que en la pre mezcla 2 predominan las harinas de oca y achira.

El pH se mantuvo constante durante el tiempo de almacenamiento de las pre mezclas. En la pre mezcla 2 al día 90, el pH disminuyó de 6,43 a 6,36 para ambas concentraciones de ozono. Lee, Kim, Kwak, Lim, and Kim (2017), mencionan que el pH disminuye gradualmente con el tiempo de exposición de ozono. Un estudio realizado por Li et al. (2013) , reporta que el tratamiento de harina de trigo con exposición de ozono mayor a los 15 minutos fue más significativa la disminución de pH (de 6,04 para 0 minutos a 5,78 para 15 minutos). El descenso en harina de trigo está asociada a la variación en la composición de aminoácidos y grupos hidroxilo de almidón y principalmente resulta de la oxidación de los triacilglicerol para liberar ácidos grasos (Sui et al., 2016). [ENREF 48](#)

**Tabla 6.** Resultados de pH en pre mezclas tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días

		PH			
		Días de evaluación			
		Día 4	Día 30	Día 60	Día 90
Pre mezcla 1	<b>P<sub>1</sub>C</b>	6,11±0,000 <sup>A;b;x</sup>	6,14±0,021 <sup>A;a;x</sup>	6,13±0,007 <sup>A;a;x</sup>	6,11±0,000 <sup>A;a;x</sup>
	<b>P<sub>1</sub>O<sub>20</sub></b>	6,08±0,007 <sup>A;a;x</sup>	6,09±0,007 <sup>A;a;x</sup>	6,10±0,014 <sup>A;a;x</sup>	6,09±0,007 <sup>A;a;x</sup>
	<b>P<sub>1</sub>O<sub>200</sub></b>	6,10±0,007 <sup>A;ab;x</sup>	6,13±0,007 <sup>A;a;x</sup>	6,12±0,007 <sup>A;a;x</sup>	6,10±0,014 <sup>A;a;x</sup>
Pre mezcla 2	<b>P<sub>2</sub>C</b>	6,45±0,007 <sup>B;a;x</sup>	6,43±0,021 <sup>B;a;x</sup>	6,44±0,021 <sup>B;a;x</sup>	6,41±0,000 <sup>B;a;x</sup>
	<b>P<sub>2</sub>O<sub>20</sub></b>	6,43±0,014 <sup>B;b;x</sup>	6,43±0,021 <sup>B;a;x</sup>	6,44±0,014 <sup>B;a;x</sup>	6,36±0,000 <sup>B;b;y</sup>
	<b>P<sub>2</sub>O<sub>200</sub></b>	6,42±0,000 <sup>B;b;z</sup>	6,40±0,007 <sup>B;a;y</sup>	6,41±0,007 <sup>B;a;yz</sup>	6,37±0,007 <sup>B;b;y</sup>

Pre mezcla 1 (camote, mashua, achira), Pre mezcla 2 (oca, mashua, achira), C20 (Pre mezcla 1, 20 ppm de ozono), P1C200 (Pre mezcla 1, 200 ppm de ozono), Control P1 (Pre mezcla 1, sin ozono), P2C20 (Pre mezcla 2, 20 ppm de ozono), P2C200 (Pre mezcla 2, 200 ppm de ozono) y Control P2 (Pre mezcla 2, sin ozono).

Letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas <sup>A, B</sup> “pre mezclas”, letras minúsculas <sup>a, b</sup> “concentración de ozono” y letras <sup>x, y, z</sup> “días de evaluación”, evaluadas con la prueba Tukey a un nivel de confianza del 95%.

En la tabla 7 se reportan los resultados de humedad que oscilan entre 12% y 11% para la pre mezcla 1 y pre mezcla 2 respectivamente. Los valores se encuentran dentro de los límites de calidad establecidos para mezclas secas para pastelería (humedad >14,5%) (NTE INEN 3084, 2015). Los resultados evidencian que existe un mayor porcentaje de humedad en la pre mezcla 1, esto debido a que existe un mayor porcentaje de harina de mashua (45%) y camote (45%), mientras que las harinas que predominan la pre mezcla 2 son harinas de oca (45%) y achira (45%), siendo la humedad de estos menores. Un estudio realizado por Ocaña Palacios (2019), sobre la caracterización físico química de cultivos andinos, menciona que el porcentaje de humedad más representativas fueron en las harinas de mashua (18,85%) y oca (15,66%); y presentó valores para achira (5,99%) y camote (6.54%).

Por otro lado, no se observa efecto de los tratamiento con ozono sobre la humedad de las pre mezclas, estos resultados se relacionan con los estudiados por Li et al. (2012), donde señalan que el tratamiento de 200 ppm de ozono no tuvo efecto distintivo en la capacidad de absorción de agua en la harina de trigo. En ambas pre mezclas existe un aumento de humedad a partir del día 30 para los dos tratamientos con ozono de 12,13 a 12,38 (pre mezcla 1) y 10,84 a 11,75 (pre mezcla 2), posiblemente atribuido a las condiciones de almacenamiento y al manejo de las muestras durante los análisis. Además, al día 4 y 90 no se observó diferencia significativa por lo que se deduce que las muestras almacenadas adecuadamente y sin contacto con el aire pueden durar más del tiempo de estudio.



Van Hal (2000) menciona que, aunque las harinas son menos vulnerables al deterioro, tienen la capacidad de absorber la humedad del ambiente. Así mismo, el tipo de empaque es un factor a considerar para alargar el tiempo de vida útil, una harina de camote empacada en bolsas de polietileno no presentó deterioro durante 5 a 7 meses.

**Tabla 7.** Resultados de humedad de pre mezclas tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días

		<b>HUMEDAD</b>			
		<b>Días de evaluación</b>			
		<b>Día 4</b>	<b>Día 30</b>	<b>Día 60</b>	<b>Día 90</b>
Pre mezcla 1	<b>P<sub>1</sub>C</b>	12,16±0,003 <sup>A;a;x</sup>	12,21±0,048 <sup>A;a;x</sup>	12,94±0,228 <sup>A;a;y</sup>	12,81±0,248 <sup>A;a;xy</sup>
	<b>P<sub>1</sub>O<sub>20</sub></b>	12,13±0,047 <sup>A;a;x</sup>	13,38±0,008 <sup>A;b;y</sup>	13,39±0,226 <sup>A;b;y</sup>	12,68±0,140 <sup>A;a;z</sup>
	<b>P<sub>1</sub>O<sub>200</sub></b>	12,22±0,030 <sup>A;a;x</sup>	13,32±0,100 <sup>A;b;y</sup>	13,47±0,233 <sup>A;ab;y</sup>	12,37±0,181 <sup>A;a;x</sup>
Pre mezcla 2	<b>P<sub>2</sub>C</b>	10,93±0,267 <sup>B;a;xy</sup>	10,57±0,194 <sup>B;a;x</sup>	11,48±0,222 <sup>B;a;y</sup>	11,11±0,005 <sup>B;a;xy</sup>
	<b>P<sub>2</sub>O<sub>20</sub></b>	10,84±0,188 <sup>B;a;x</sup>	11,75±0,161 <sup>B;b;y</sup>	11,57±0,095 <sup>B;a;y</sup>	11,15±0,170 <sup>B;a;xy</sup>
	<b>P<sub>2</sub>O<sub>200</sub></b>	10,83±0,025 <sup>B;a;x</sup>	11,72±0,132 <sup>B;b;z</sup>	11,53±0,059 <sup>B;a;z</sup>	11,24±0,115 <sup>B;a;y</sup>

Pre mezcla 1 (camote, mashua, achira), Pre mezcla 2 (oca, mashua, achira), C20 (Pre mezcla 1, 20 ppm de ozono), P1C200 (Pre mezcla 1, 200 ppm de ozono), Control P1 (Pre mezcla 1, sin ozono), P2C20 (Pre mezcla 2, 20 ppm de ozono), P2C200 (Pre mezcla 2, 200 ppm de ozono) y Control P2 (Pre mezcla 2, sin ozono).

Letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas <sup>A, B</sup> “pre mezclas”, letras minúsculas <sup>a, b</sup> “concentración de ozono” y letras <sup>x, y, z</sup> “días de evaluación”, evaluadas con la prueba Tukey a un nivel de confianza del 95%.

Un atributo de calidad importante en este tipo de harinas es el color, que afecta la comercialización y aceptabilidad de los productos alimenticios elaborados. (Van Hal, 2000). Obadi et al. (2018) , observó cambios en el color de la corteza de un pan elaborado con harina ozonizada de marrón a blanco, debido a la oxidación de azúcares reductores por ozono evitando la reacción de reducción entre glucosa y grupos amino que causa la coloración oscura. Wang et al. (2016), menciona que el ozono podría usarse como alternativa a blanqueador químico e impartir una apariencia más comercialmente aceptable.

Los resultados obtenidos de color (L\*, a\*, b\* C\*, °H) se presentan en las tablas 8 y 9. Los valores muestran diferencia significativa (p < 0,05) entre pre mezclas a excepción de hue (°H), es decir todos los tratamientos tienden a tonos amarillentos.

Los colores de las harinas que constituyen cada pre mezcla difieren en los resultados. La pre mezcla 2 mostró una luminosidad (L\*) significativamente alta respecto a la pre mezcla 1, lo que resulta un aspecto más blanco y brillante a causa de la harina de oca

(L\* de 69,004). Mientras que, para la pre mezcla 1 se obtuvo un valor de L\* camote de 64,18 (Ocaña Palacios, 2019). El tratamiento de ozono en ambas pre mezclas y durante los días de evaluación evidencian cambios menores pero significativos, incremento de L\* y disminución de a\* y b\* respecto al control, lo que demuestra aumento en la blancura mientras disminuye su amarillez y enrojecimiento.

Un comportamiento similar reportó (Lee et al., 2017), en el que harinas de trigo tratadas con ozono mostraron disminución para los valores de a\* (7,83 a 6,62) y b\* (7,83 a 6,62) gradualmente con el tiempo de exposición (0 a 15 minutos). Los dobles enlaces conjugados de pigmentos carotenoides son susceptibles a la oxidación por gas ozono llevando a una disminución de los valores de b\* (Sandhu et al., 2011). Van Hal (2000), indica que el contenido de almidón tiene un efecto protector contra la decoloración del beta caroteno en los alimentos deshidratados, ya que el almidón actúa como una barrera contra el ataque oxidativo.

**Tabla 8.** Resultados de color (L\*, a\*, b\*, C\*, °H) de pre mezcla 1 tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días

		COLOR Pre mezcla 1			
		Días de evaluación			
		Día 4	Día 30	Día 60	Día 90
<b>P<sub>1</sub>C</b>	<b>L*</b>	61,45 ± 0,10 <sup>A;a;x</sup>	64,55 ± 0,14 <sup>A;a;x</sup>	61,45 ± 0,35 <sup>A;a;x</sup>	63,13 ± 0,02 <sup>A;a;x</sup>
	<b>a*</b>	8,09 ± 0,02 <sup>A;b;x</sup>	7,90 ± 0,02 <sup>A;a;x</sup>	8,16 ± 0,06 <sup>A;a;x</sup>	8,22 ± 0,01 <sup>A;a;x</sup>
	<b>b*</b>	21,60 ± 0,04 <sup>A;b;x</sup>	22,56 ± 0,09 <sup>A;a;x</sup>	21,80 ± 0,16 <sup>A;a;x</sup>	22,08 ± 0,00 <sup>A;b;x</sup>
	<b>C*</b>	23,07 ± 0,04 <sup>A;a;x</sup>	23,91 ± 0,08 <sup>A;a;x</sup>	23,28 ± 0,12 <sup>A;a;x</sup>	23,56 ± 0,02 <sup>A;b;x</sup>
	<b>H</b>	69,43 ± 0,06 <sup>A;a;x</sup>	70,69 ± 0,07 <sup>A;a;x</sup>	69,49 ± 0,34 <sup>A;a;x</sup>	69,59 ± 0,04 <sup>A;a;x</sup>
<b>P<sub>1</sub>O<sub>20</sub></b>	<b>L*</b>	61,07 ± 0,02 <sup>A;a;y</sup>	63,08 ± 0,11 <sup>A;a;xy</sup>	62,53 ± 0,05 <sup>A;a;xy</sup>	63,76 ± 0,02 <sup>A;a;x</sup>
	<b>a*</b>	8,64 ± 0,02 <sup>A;a;y</sup>	8,10 ± 0,05 <sup>A;a;xy</sup>	8,56 ± 0,09 <sup>A;a;xy</sup>	7,73 ± 0,06 <sup>A;a;x</sup>
	<b>b*</b>	21,80 ± 0,07 <sup>A;a;x</sup>	21,57 ± 0,04 <sup>A;a;x</sup>	22,33 ± 0,15 <sup>A;a;x</sup>	20,71 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>
	<b>C*</b>	23,46 ± 0,08 <sup>A;a;x</sup>	23,04 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>	23,92 ± 0,17 <sup>A;a;x</sup>	22,11 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>
	<b>H</b>	68,33 ± 0,05 <sup>A;a;x</sup>	69,44 ± 0,14 <sup>A;a;x</sup>	68,99 ± 0,12 <sup>A;a;x</sup>	69,54 ± 0,17 <sup>A;a;x</sup>
<b>P<sub>1</sub>O<sub>200</sub></b>	<b>L*</b>	61,95 ± 0,14 <sup>A;a;x</sup>	62,72 ± 0,07 <sup>A;a;x</sup>	63,05 ± 0,02 <sup>A;a;x</sup>	64,04 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>
	<b>a*</b>	8,91 ± 0,02 <sup>A;ab;y</sup>	8,36 ± 0,06 <sup>A;a;xy</sup>	8,50 ± 0,01 <sup>A;a;xy</sup>	7,91 ± 0,02 <sup>A;a;x</sup>
	<b>b*</b>	23,40 ± 0,04 <sup>A;ab;x</sup>	22,44 ± 0,16 <sup>A;a;x</sup>	22,72 ± 0,00 <sup>A;a;x</sup>	22,31 ± 0,02 <sup>A;b;x</sup>
	<b>C*</b>	25,04 ± 0,03 <sup>A;a;y</sup>	23,95 ± 0,18 <sup>A;a;xy</sup>	24,26 ± 0,00 <sup>A;a;xy</sup>	23,67 ± 0,03 <sup>A;b;x</sup>
	<b>H</b>	69,17 ± 0,05 <sup>A;a;x</sup>	69,56 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>	69,49 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>	70,48 ± 0,04 <sup>A;a;x</sup>

P<sub>1</sub>C<sub>20</sub> (Pre mezcla 1, con 20 ppm de ozono), P<sub>1</sub>C<sub>200</sub> (Pre mezcla 1, con 200 ppm de ozono), Control P<sub>1</sub> (Pre mezcla 1, sin ozono), P<sub>2</sub>C<sub>20</sub> (Pre mezcla 2, con 20 ppm de ozono), P<sub>2</sub>C<sub>200</sub> (Pre mezcla 2, con 200 ppm de ozono) y Control P<sub>2</sub> (Pre mezcla 2, sin ozono).

Letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas <sup>A, B</sup> “pre mezclas”, letras minúsculas <sup>a, b</sup> “concentración de ozono” y letras <sup>x, y, z</sup> “días de evaluación”, evaluadas con la prueba Tukey a un nivel de confianza del 95%.

**Tabla 9.** Resultados de color (L\*, a\*, b\*, C\*, °H) de pre mezcla 2 tratadas con 20 y 200 ppm de ozono, almacenada durante 90 días

		COLOR Pre mezcla 2			
		Días de evaluación			
		Día 4	Día 30	Día 60	Día 90
<b>P<sub>2</sub>C</b>	<b>L*</b>	65,24 ± 0,07 <sup>B;a;x</sup>	63,93 ± 0,24 <sup>B;a;x</sup>	64,35 ± 0,41 <sup>B;a;x</sup>	64,82 ± 0,02 <sup>B;b;x</sup>
	<b>a*</b>	6,18 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>	6,77 ± 0,10 <sup>B;a;x</sup>	6,67 ± 0,16 <sup>B;a;x</sup>	6,58 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>
	<b>b*</b>	22,19 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>	23,13 ± 0,01 <sup>B;a;x</sup>	23,15 ± 0,10 <sup>B;a;x</sup>	22,91 ± 0,00 <sup>B;a;x</sup>
	<b>C*</b>	23,03±0,04 <sup>A;a;x</sup>	24,10 ± 0,04 <sup>A;a;x</sup>	24,09 ± 0,10 <sup>A;a;x</sup>	23,84 ± 0,01 <sup>A;a;x</sup>
	<b>H</b>	74,43±0,02 <sup>B;a;x</sup>	73,70 ± 0,21 <sup>B;a;x</sup>	73,92 ± 0,37 <sup>B;b;x</sup>	73,97 ± 0,04 <sup>B;a;x</sup>
<b>P<sub>2</sub>O<sub>20</sub></b>	<b>L*</b>	63,19 ± 0,00 <sup>B;a;x</sup>	63,54 ± 0,24 <sup>B;a;x</sup>	64,12 ± 0,12 <sup>B;a;x</sup>	63,24± 0,03 <sup>B;ab;x</sup>
	<b>a*</b>	6,91 ± 0,02 <sup>B;a;x</sup>	6,90 ± 0,04 <sup>B;a;x</sup>	6,71 ± 0,02 <sup>B;a;x</sup>	6,69 ± 0,06 <sup>B;a;x</sup>
	<b>b*</b>	23,09 ± 0,15 <sup>B;a;x</sup>	23,06 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>	22,46 ± 0,02 <sup>B;a;x</sup>	22,53 ± 0,08 <sup>B;a;x</sup>
	<b>C*</b>	24,10 ± 0,14 <sup>A;a;x</sup>	24,07 ± 0,01 <sup>A;a;x</sup>	23,45 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>	23,50 ± 0,10 <sup>A;a;x</sup>
	<b>H</b>	73,36 ± 0,12 <sup>B;a;x</sup>	73,34 ± 0,09 <sup>B;a;x</sup>	73,37± 0,04 <sup>B;ab;x</sup>	73,47 ± 0,08 <sup>B;a;x</sup>
<b>P<sub>2</sub>O<sub>200</sub></b>	<b>L*</b>	63,78 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>	65,01 ± 0,11 <sup>B;a;x</sup>	63,44 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>	62,74 ± 0,01 <sup>B;a;x</sup>
	<b>a*</b>	6,57 ± 0,04 <sup>B;a;x</sup>	6,70 ± 0,01 <sup>B;a;x</sup>	7,31 ± 0,04 <sup>B;a;x</sup>	6,65 ± 0,00 <sup>B;a;x</sup>
	<b>b*</b>	22,81 ± 0,05 <sup>B;a;x</sup>	23,14 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>	23,60 ± 0,00 <sup>B;a;x</sup>	23,11 ± 0,03 <sup>B;a;x</sup>
	<b>C*</b>	23,74 ± 0,04 <sup>A;a;x</sup>	24,09 ± 0,03 <sup>A;a;x</sup>	24,71 ± 0,00 <sup>A;a;x</sup>	24,04 ± 0,04 <sup>A;a;x</sup>
	<b>H</b>	73,93 ± 0,08 <sup>B;a;x</sup>	73,88 ± 0,02 <sup>B;a;x</sup>	72,81 ± 0,07 <sup>B;a;x</sup>	73,95 ± 0,04 <sup>B;a;x</sup>

P1C20 (Pre mezcla 1, con 20 ppm de ozono), P1C200 (Pre mezcla 1, con 200 ppm de ozono), Control P1 (Pre mezcla 1, sin ozono), P2C20 (Pre mezcla 2, con 20 ppm de ozono), P2C200 (Pre mezcla 2, con 200 ppm de ozono) y Control P2 (Pre mezcla 2, sin ozono).

Letras mayúsculas diferentes representan diferencias significativas <sup>A, B</sup> “pre mezclas”, letras minúsculas <sup>a, b</sup> “concentración de ozono” y letras <sup>x, y, z</sup> “días de evaluación”, evaluadas con la prueba Tukey a un nivel de confianza del 95%.

### 1.4.3. 3.1.2. Análisis microbiológico

En la figura 5 se muestran los resultados de recuentos microbianos (log UFC/g) de pre mezclas con tratamiento de ozono 20 y 200 ppm y sin ozono. El tratamiento de ozono tuvo distintos efectos de inhibición en los microorganismos estudiados, además, se muestra un incremento microbiano en los días de almacenamiento en los tratamientos.

La pre mezcla 1 presenta menor calidad microbiológica respecto a la pre mezcla 2, atribuido principalmente a su contenido de humedad, pH y a la microflora de las harinas constituyentes (camote en pre mezcla 1 y oca en pre mezcla 2). Un estudio realizado sobre harina de camote por Van Hal (2000), reportó presencia de coliformes (hasta  $4,8 \times 10^4$  UFC/g), mohos y levaduras ( $3 \times 10^1 - 4,7 \times 10^3$  UFC/g). Por otro lado, Oré Areche (2015), reportó presencia de aerobios mesófilos ( $3,3 \times 10^2$  UFC/g), hongos ( $2,5 \times 10^2$  UFC/g) y ausencia de coliformes en harina de oca. Se debe considerar que en los estudios hubo un proceso de desinfección previo a la molienda.

Los resultados de *Staphylococcus aureus* (**5 a**), indican que en el tratamiento con ozono a 200 ppm existe diferencia significativa al día 30 para todos los tratamientos, los resultados indican disminuciones logarítmicas de 0,25 y 0,8 para la pre mezcla 1 y 2 respectivamente respecto al control. Para los días 5, 60 y 90 no se observó diferencia significativa. El ozono presenta mayor resistencia a bacterias gram positivas a diferencia de gram negativas, debido a que el primero contiene mayores cantidades de peptidoglucano en sus paredes celulares que le brinda resistencia a la degradación (Khadre et al., 2001).

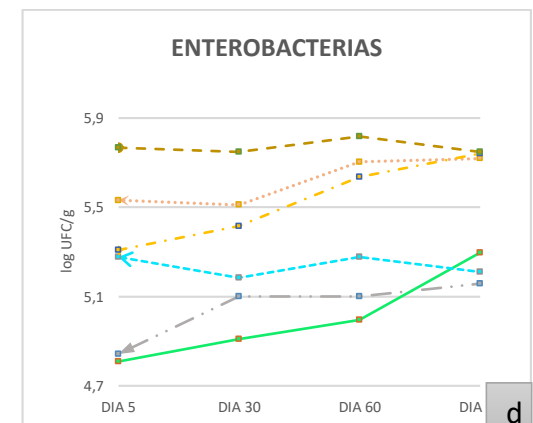
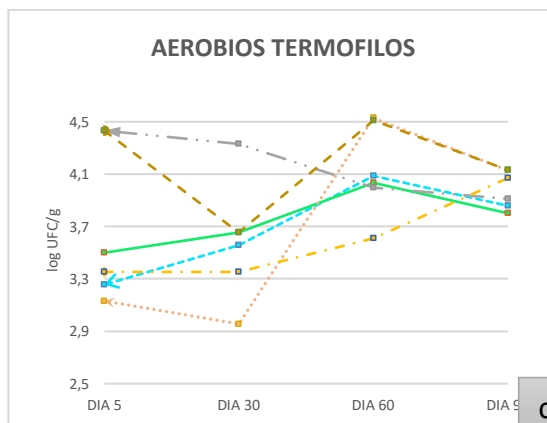
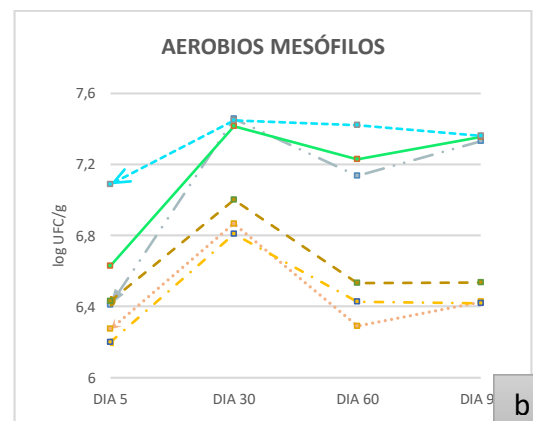
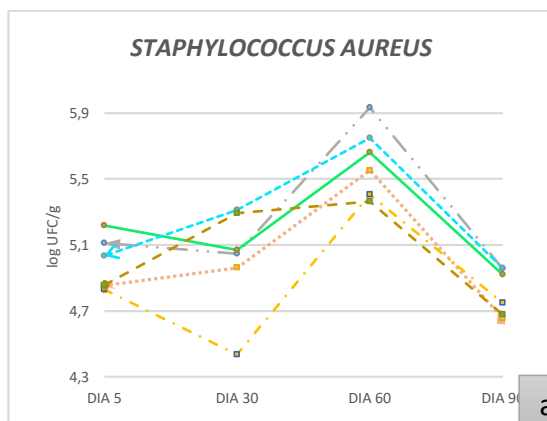
En microorganismos aerobios termófilos (**5 c**), la inhibición fue significativa en ambas pre mezclas. Se observa que existe una disminución al día 4 comprendida entre 1,17 y 1,30 unidades logarítmicas para pre mezcla 1 y 2 en relación al control, no hubo diferencia entre concentraciones de ozono. A partir del día 30 de almacenamiento no se observó reducción microbiana. Por otro lado, en aerobios mesófilos (**5 b**) al día 4 se observa que existe un efecto inhibitorio similar entre concentraciones de ozono de 0,6 y 0,5 unidades logarítmicas en la pre mezcla 1 y 2 respectivamente en comparación con el control. Los resultados coinciden con Li et al. (2012), quienes mencionan que una exposición de ozono durante 1 y 10 minutos no tuvieron cambios significativos en harina de trigo, en adición menciona que no logró reducir en su totalidad aerobios mesófilos posiblemente a que el contenido de agua ralentizó la velocidad de reacción reduciendo la capacidad de desinfección del ozono.

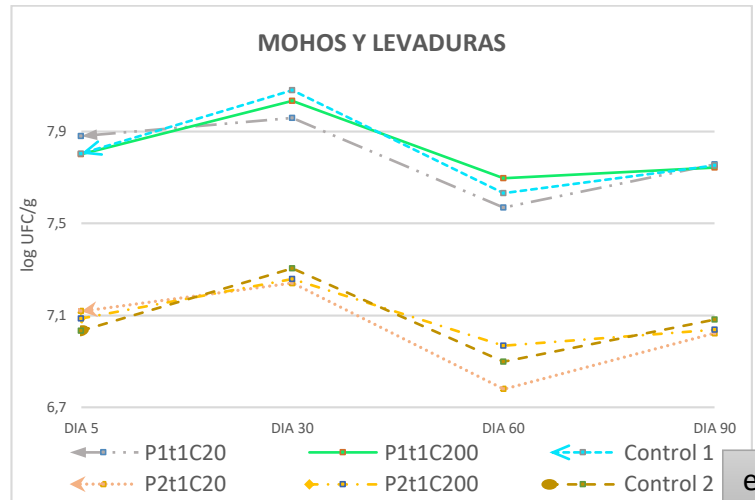
En cuanto a enterobacterias (**5 d**), el día 5 la acción antimicrobiana resultó significativa a 200 ppm dando reducciones de 0,46 y 0,45 unidades logarítmicas para la pre mezcla 1 y 2 respectivamente. Sin embargo, a los días 30, 60 y 90 su actividad fue casi nula.

Para mohos y levaduras (**e**), no existió diferencia significativa entre días de evaluación y concentraciones de ozono, al día 30 se observó una disminución de 0,1 unidades logarítmicas, lo que demuestra que la eficiencia del ozono fue mínima para estos microorganismos. Tomando en cuenta la norma técnica para mezclas alimenticias a base de harina de trigo establece que el nivel de aceptación en mohos y levaduras es de  $1 \times 10^3$  UFC/g (3 log UFC/g), se puede deducir que ambas pre mezclas no se encuentran dentro de los límites. El pH constituye otro factor importante para el desarrollo de hongos siendo su hábitat principal el suelo, su rango de desarrollo óptimo oscila entre 5,5 y 7,5 (Galindo Orellana, 2016).

Finalmente, no se evidenció crecimiento de *Salmonella shigella* y *Bacillus cereus* en las pre mezcla cumpliendo con los requisitos establecidos por la norma técnica ecuatoriana (INEN, 2006).

La fuente nativa de las harinas de tubérculo, es decir el contacto con el suelo dan recuentos microbianos aproximados a  $10^6$  o incluso valores superiores, procesos que impliquen tratamiento térmico disminuyen la contaminación sin embargo, las operaciones posteriores (molida, envasado y almacenamiento) pueden recontaminar el producto (Anderson & Calderón, 1999).





**Figura 5.** Recuentos microbianos de pre mezcla 1 y pre mezcla 2 (a) *Staphylococcus aureus* (b) aerobios mesófilos (c) aerobios termófilos (d) enterobacterias y (e) mohos y levaduras y tratadas con 20, 200 ppm y sin ozono almacenada durante 90 días

### 3.2. Verificación de hipótesis

De acuerdo con los resultados obtenidos mediante el análisis de ANOVA con un nivel de significancia de 95% ( $p < 0,05$ ), se acepta la hipótesis alternativa pues los tratamientos de ozono incidieron en las propiedades físico químicas como acidez, pH y color e influyó en la calidad microbiológica (*Staphylococcus aureus*, aerobios mesófilos y termófilos y enterobacterias) de pre mezclas farináceas. Sin embargo, para humedad y recuento de mohos y levaduras se determinó que el ozono no tuvo un efecto significativo.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1. Conclusiones

La aplicación de ozono gaseoso muestra mayor efectividad antimicrobiana durante los primeros días de evaluación (4 y 30 días de almacenamiento) frente a microorganismos nativos de las pre mezclas farináceas *Staphylococcus aureus*, aerobios mesófilos y termófilos y enterobacterias, a excepción de mohos y levaduras.

La concentración de 200 ppm de ozono gaseoso obtuvo mejores resultados en la reducción microbiana durante los días de almacenamiento en las dos pre mezclas farináceas, sin embargo, no se logró el límite establecido por la norma técnica ecuatoriana para mohos y levaduras en mezclas alimenticias de harina de trigo (3 log UFC/g).

Las propiedades físico químicas como pH, acidez, color y humedad se vieron afectadas a concentraciones de 20 y 200 ppm de ozono gaseoso durante los días de almacenamiento. Es así que a partir del día 30 existió aumento de acidez en ambas pre mezclas respecto al control siendo más evidente al día 90. Los valores de pH mostraron mayor diferencia significativa en el día 4 de almacenamiento siendo éste constante hasta el día 90 en las dos pre mezclas y concentraciones. Finalmente, en el color hubo diferencia significativa a 200 ppm en las dos pre mezclas, se observó aumento en el valor L\* luminosidad o blancura, disminución de a\* (rojo – verde) y b\* (amarillo-azul) y no se observó diferencia del Hue (°H) entre pre mezclas, los dos tienden a tonos amarillos.

Tomando como referencia los requisitos microbiológicos establecidos por la normativa para harinas de trigo se estableció que las pre mezclas farináceas expuestas a gas ozono en las concentraciones mencionadas no cumplen con los parámetros de aceptabilidad, sin embargo, se debe considerar que no se dispone de una normativa de harinas en este tipo de tubérculos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, I. (1994). Enfermedades bacterianas del cultivo de la papa. Metodologías para la producción y uso de tubérculos de papa en Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Serie Remehue N°51, 77-87.
- Anderson, M. d. R. P., & Calderón, V. (1999). Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas: Ediciones Diaz de Santos.
- Andino, F., & Castillo, Y. (2010). Un enfoque práctico para la inocuidad alimentaria. Universidad Nacional de Ingeniería-UNI-Norte.
- Barrios Simon, K., & Chavez Santos, T. (2016). Cereales y derivados. from [https://www.academia.edu/27027304/Microorganismos\\_En\\_Cereales](https://www.academia.edu/27027304/Microorganismos_En_Cereales)
- Cáceres, Y. (2019). Evaluación de las propiedades fisicoquímicas, térmicas y microestructurales del almidón de achira (*Canna edulis*). Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá.
- Caicedo, R., Benitez. (2003). La achira tecnicas de cultivo y beneficio. from <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/4071/1/La%20achira%20tecnicas%20de%20cultivo%20y%20beneficio.pdf>
- Carrillo, L. (2007). Granos y Harinas Manual de microbiología de los alimentos.
- Carrillo, L., Audisio, M. C., & Bejarano, N. (2007). Manual de Microbiología de los Alimentos. Jujuy, 10, 102-116.
- CIP. (1995). Analítico: Programa Colaborativo Biodiversidad de Raices y Tuberculos Andinos. 231.
- Chawla, A., Kasler, D., Sastry, S., & Yousef, A. (2012). Microbial decontamination of food using ozone Microbial decontamination in the food industry (pp. 495-532): Elsevier.



- De Icochea, T. A. (1997). Enfermedades fungosas y bacterianas de raíces y tubérculos andinos: International Potato Center.
- Elías, L. G. (1996). Concepto y tecnologías para la elaboración y uso de harinas compuestas.
- Fairlie, T., Bermúdez, M. M., & Holle, M. (1999). Raíces y tubérculos andinos: avances de investigación: International Potato Center.
- FAO. (1995). El sorgo y el mijo: en la nutrición humana. Retrieved from <http://www.fao.org/3/t0818s/T0818S00.htm#Contents>
- Galindo Orellana, X. E. (2016). Determinación de la factibilidad del uso de la bacteria *Lactobacillus plantarum*, aplicada a masas de harina de trigo para reducción del gluten. Universidad del Azuay.
- Gaou, I., Dubois, M., Pfohl-Leszkowicz, A., Coste, C., De Jouffrey, S., & Parent-Massin, D. (2005). Safety of Oxygreen®, an ozone treatment on wheat grains. Part 1. A four-week toxicity study in rats by dietary administration of treated wheat. *Food additives and contaminants*, 22(11), 1113-1119.
- González Toro, A. (2012). Desarrollo de un producto de panificación a partir de una harina compuesta de trigo, garbanzo y brócoli.
- Guerra Ludeña, A. A. (2014). Estudio de la utilización de la harina de mashua (*tropaeolum tuberosum*) en la obtención del pan de molde. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL. FACULTAD: CIENCIAS DE LA INGENIERÍA.
- Güzel-Seydim, Z., & Bever Jr, P. I. (2004). Efficacy of ozone to reduce bacterial populations in the presence of food components. *Food Microbiology*, 21(4), 475-479.

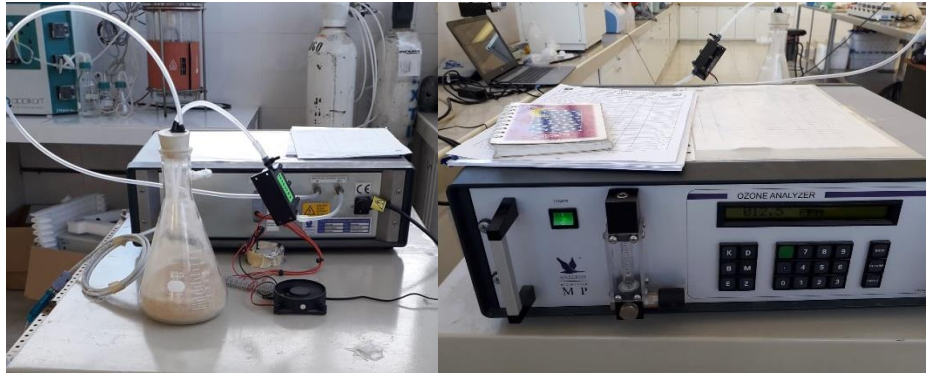
- Holguin Bedoya, M., Yeneris, M., & Paola, Y. (2019). Analisis bromatologico del tuberculo seco y pulverizado de dioscórea cayenensis" Ñame Amarillo".
- INEN, N. (2006). 0616,«Harina de trigo. REQUISITOS, NTE INEN, 616, 2015-2001.
- Jacobsen, S. E., Mujica, A., & Ortiz, R. (2003). La importancia de los cultivos andinos. *Fermentum. Revista Venezolana de Sociología Y Antropología*, 13(36), 14-24.
- Karaca, H., & Velioglu, Y. S. (2007). Ozone applications in fruit and vegetable processing. *Food Reviews International*, 23(1), 91-106.
- Khadre, M., Yousef, A., & Kim, J. G. (2001). Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of food science*, 66(9), 1242-1252.
- László, Z., Hovorka-Horváth, Z., Beszédes, S., Kertesz, S., Gyimes, E., & Hodur, C. (2008). Comparison of the effects of ozone, UV and combined ozone/UV treatment on the color and microbial counts of wheat flour. *Ozone: Science and Engineering*, 30(6), 413-417.
- Lee, M. J., Kim, M. J., Kwak, H. S., Lim, S.-T., & Kim, S. S. (2017). Effects of ozone treatment on physicochemical properties of Korean wheat flour. *Food science and biotechnology*, 26(2), 435-440.
- Li, M., Peng, J., Zhu, K.-X., Guo, X.-N., Zhang, M., Peng, W., & Zhou, H.-M. (2013). Delineating the microbial and physical–chemical changes during storage of ozone treated wheat flour. *Innovative food science & emerging technologies*, 20, 223-229.
- Li, M., Zhu, K.-X., Wang, B.-W., Guo, X.-N., Peng, W., & Zhou, H.-M. (2012). Evaluation the quality characteristics of wheat flour and shelf-life of fresh noodles as affected by ozone treatment. *Food chemistry*, 135(4), 2163-2169.

- Mahapatra, A. K., Muthukumarappan, K., & Julson, J. L. (2005). Applications of ozone, bacteriocins and irradiation in food processing: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(6), 447-461.
- Marston, K., Khouryieh, H., & Aramouni, F. (2015). Evaluation of sorghum flour functionality and quality characteristics of gluten-free bread and cake as influenced by ozone treatment. *Food Science and Technology International*, 21(8), 631-640.
- Medina Condo, E. B., Thaquima, U., & Kasandra, Y. (2018). Elaboración de cupcakes a partir de harina de mashua (*Tropaeolum tuberosum*), utilizando como agentes Fermentadores Leudantes Químicos.
- Meza, M., & Cancho Mallma, F. L. (2017). Caracterización fisicoquímica, fitoquímica y funcional de la harina de Khaya y Oca (*Oxalis tuberosa*) para uso industrial.
- Mindiolaza Medina, P. J. (2016). Análisis de humedad, acidez y gluten húmedo en harina de trigo panificable, para determinar su calidad y vida útil.
- NTE INEN 526. (2012). HARINAS DE ORIGEN VEGETAL. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE IÓN HIDRÓGENO o pH. . from <https://pdfslide.net/documents/nte-inen-526-2012ph-de-harina.html>
- NTE INEN 3084. (2015). Mezclas alimenticias. Requisitos.
- Obadi, M., Zhu, K. X., Peng, W., Sulieman, A. A., Mahdi, A. A., Mohammed, K., & Zhou, H. M. (2018). Shelf life characteristics of bread produced from ozonated wheat flour. *Journal of texture studies*, 49(5), 492-502.
- Ocaña Palacios, I. A. (2019). Caracterización fisicoquímica, nutricional y reológica de cultivos andinos infrautilizados. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos ....

- Oré Areche, F. (2015). Determinación de los parámetros adecuados de la deshidratación de oca (*Oxalis tuberosa* mol.) mediante lecho fluidizado para la obtención de harina.
- Osborne. (2009). Proteínas de la harina de trigo: clasificación y propiedades funcionales. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 13(38), 27-32.
- Otavalo Quito, G. N., & Mogrovejo Loza, M. A. (2018). Optimización de puntos críticos del proceso de obtención de harina de maca (*Lepidium meyenii*) en función de la calidad microbiológica del producto final.
- Paes, J. L., Faroni, L. R. D. A., dos Santos, J. E., & Urruchi, W. I. (2010). Calidad tecnológica de la harina de trigo obtenida a partir de cereales ozonizados. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 41, 1-11.
- Palate Amaguaña, J. E. (2012). Estudio del efecto de la temperatura y el tiempo en las características físico-químicas y sensoriales de la oca (*Oxalis tuberosa*) DURANTE SU MADURACIÓN.
- Parker, J. L. M. P. (2005). Obtención y caracterización de la harina integral de quinoa orgánica. Universidad de Chile.
- Pérez, E., & Pacheco de Delahaye, E. (2005). Características químicas, físicas y reológicas de la harina y el almidón nativo aislado de *Ipomoea batatas* Lam. *Acta Cient Venez*, 56(1), 9-15.
- Poveda, G., Del, F., Granados, R., & Gabriela, S. (2016). Evaluación de la estabilidad de  $\beta$ -carotenos en una papilla de harina de camote biofortificado con dos tiempos y dos temperaturas de cocción.
- Romero de la Hoz, D. M., & Tuiran Prado, L. S. (2017). Caracterización fisicoquímica, funcional, reológica y composicional de la harina precocida de cubio (*Tropaeolum tuberosum* R&P) cultivado en diferentes fuentes de fertilización.

- Sandhu, H. P., Manthey, F. A., & Simsek, S. (2011). Quality of bread made from ozonated wheat (*Triticum aestivum* L.) flour. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1576-1584.
- Sui, Z., Yao, T., Zhong, J., Li, Y., Kong, X., & Ai, L. (2016). Ozonation treatment improves properties of wheat flour and the baking quality of cake. *Philippine Agricultural Scientist*, 99(1).
- Torpoco Vivas, N. A. (2014). Evaluación de la calidad panadera de 4 líneas promisorias de trigo de la Estación Experimental Santa Ana INIA-Huancayo.
- Torres Alberca, M. R. (2015). Elaboración y Evaluación Nutricional de un Cupcake a base de harina de Achira (*Canna\_ edulis*) fortificado con harina de Garbanzo (*Cicer arietinum* l) y Papaya (*Carica papaya*). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Van Hal, M. (2000). Quality of sweetpotato flour during processing and storage. *Food Reviews International*, 16(1), 1-37.
- Wang, L., Shao, H., Luo, X., Wang, R., Li, Y., Li, Y., . . . Chen, Z. (2016). Effect of ozone treatment on deoxynivalenol and wheat quality. *PloS one*, 11(1), e0147613.
- Zhinda Zapata, L. M. (2013). Obtención de harina precocida de camote (*ipomoea batatas* l.) para su uso tecnológico en la industria alimentaria. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL. FACULTAD: CIENCIAS DE LA INGENIERÍA.

## ANEXOS



**Figura 6.** Aplicación de ozono en pre mezclas farináceas.