



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**



**FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y  
BIOTECNOLOGÍA**

**CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

---

Efecto del propionato de calcio y sorbato de potasio en la vida útil de pre mezclas farináceas a partir de oca (*Oxalis tuberosa*), achira (*Canna edulis*), mashua (*Tropaeolum tuberosum*) y camote (*Ipomoea batatas*)

---

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 infrautilizados”, 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 infrautilizados y residuos agroindustriales” financiado por SENESCYT a través de la convocatoria INEDITA 2018 y coordinado por Mirari Arancibia, Ph.D.

**Autora:** Sandy Vanessa Vivanco Laica

**Tutora:** Ph.D Mirari Yosune Arancibia Soria

**Ambato – Ecuador**

**Enero – 2020**

## **APROBACIÓN DEL TUTOR**

Ph.D. Mirari Yosune Arancibia Soria

Certifico que el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, ha sido prolijamente revisado y por lo tanto autorizo la presentación de éste, debido a que responde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 12 de diciembre del 2019



Ph.D Mirari Yosune Arancibia Soria

C.I: 180214246-1

TUTOR

## DECLARACIÓN DE AUTENCIDAD

Yo, Sandy Vanessa Vivanco Laica 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.



Sandy Vanessa Vivanco Laica


C.I: 050397983-3

AUTOR

## APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE 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 'Luciano Cordero', is written over a horizontal line.

Presidente de Tribunal de Grado



A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Diego Manolo Salazar Garcés', is written over a horizontal line.

Ing. Mg. Diego Manolo Salazar Garcés

C.I. 1803124294



A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Dolores del Rocío Robalino Martínez', is written over a horizontal line.

Ing. Mg. Dolores del Rocío Robalino Martínez

C.I. 1801769488

Ambato, 15 de enero del 2020

## **DERECHOS DE AUTOR**

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, que haga uso de este trabajo de titulación o parte de él, como 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 autora.



Sandy Vanessa Vivanco Laica

C.I: 050397983-3

**AUTOR**

## **DEDICATORIA**

*A Dios por su infinito amor, porque es mi refugio y mi luz.*

*A mis amados padres Luis Eduardo y María Carmela, por todo el sacrificio y esfuerzo que día a día han realizado para que yo pudiera terminar mi carrera profesional, por su paciencia y comprensión en los momentos más difíciles.*

*A mis abuelitos Javier y Juliana por cuidarme y estar pendiente de mí siempre, también a mis abuelitos María y Atanacio que son mis angelitos que me cuidan y guían desde el cielo.*

*Con amor Sandy Vanessa*

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco en primer lugar a Dios por toda su bondad, su amor y por haberme dado la valentía y fuerzas para poder cumplir esta etapa.

A mis padres quienes son el pilar fundamental en mi vida, por brindarme su amor incondicional, por estar a mi lado siempre dándome su mano y motivándome a dar lo mejor. Gracias por todo su apoyo con el cual logré culminar mi carrera. Son mi orgullo!

A mi tutora la Dra. Mirari Arancibia, al Ing. Diego Salazar, a la Ing. Dolores Robalino, por brindarme su tiempo y apoyo para que el objetivo de este estudio sea culminado.

Al Ing. Franklin Medina gerente de “Crifood” por sus enseñanzas y generosa colaboración en este proyecto.

A mi hermana, mi mejor amiga Dayanara que a pesar de la distancia el cariño siempre está en nosotras. Gracias por aconsejarme, por estar en mis buenos y malos momentos y por todas las locuras compartidas.

A mis amigas por su valiosa amistad y por todas las experiencias compartidas Maribel, Dianita, Verónica, Paola que fue mi compañera de tesis con quien compartimos muchas risas y ocurrencias. A mi amigo Erik por toda su ayuda cuando más lo he necesitado y por alentarme siempre.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENCIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO .....	iv
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
ÍNDICE DE TABLAS .....	xi
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xii
ABREVIATURAS .....	xiv
RESUMEN.....	xv
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1 Antecedentes Investigativos.....	1
1.1.1 Harina de tubérculos .....	1
1.1.2 Contaminación de la harina.....	1
1.1.3 Microorganismos en la harina .....	2
1.1.4 Harinas de tubérculos propiedades fisicoquímicas .....	3
Camote .....	3
Mashua .....	3
Achira.....	4
Oca .....	4
1.1.5 Agentes antimicrobianos.....	5
Sorbato de potasio .....	5
Propionato de calcio.....	5
1.2 Objetivos .....	6
1.2.1 Objetivo general .....	6
1.2.2 Objetivos específicos .....	6
1.3 Hipótesis.....	6
1.3.1 Hipótesis nula (Ho) .....	6
1.3.2 Hipótesis alternativa (Ha) .....	7
1.4 Señalamiento de variables de la hipótesis .....	7
1.4.1 Variable independiente.....	7



1.4.2 Variable dependiente.....	7
<b>CAPÍTULO II</b> .....	<b>8</b>
<b>METODOLOGÍA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Materiales.....	8
2.1.1 Materia prima.....	8
2.1.3 Formulación .....	9
2.2 Análisis Físicoquímicos .....	9
2.2.1 Determinación de pH .....	9
2.2.2 Determinación de Acidez Titulable .....	10
2.2.3 Determinación de humedad.....	10
2.3 Colorimetría .....	11
2.4 Análisis microbiológico .....	11
2.5 Aplicación de los conservantes .....	12
2.6 Diseño experimental.....	13
<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>14</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>14</b>
3.1 Análisis y discusión de los resultados.....	14
3.1.1 Análisis fisicoquímicos .....	14
3.2 Contenido de humedad.....	16
3.3 Color.....	17
3.4 Análisis microbiológico .....	19
3.5 Verificación de la hipótesis.....	21
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>23</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>30</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Camote ( <i>Ipomoea batatas</i> ) .....	3
<b>Figura 2.</b> Mashua ( <i>Tropaeolum tuberosum</i> ) .....	3
<b>Figura 3.</b> Achira ( <i>Canna edulis</i> ) .....	4
<b>Figura 4.</b> Oca ( <i>Oxalis tuberosa</i> ).....	5
<b>Figura 5.</b> Obtención de harinas de tubérculos andinos. ....	8
<b>Figura 6.</b> Titulador potenciométrico METTLER TOLEDO G20 .....	10
<b>Figura 7.</b> Recuentos microbiológicos en pre mezclas de harinas .....	19

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Formulación de pre mezclas de harinas de tubérculos.....	9
<b>Tabla 2.</b> Simbología de los conservantes aplicados a las premezclas de harinas de tubérculos.....	9
<b>Tabla 3.</b> Factor y niveles del diseño experimental.....	13
<b>Tabla 4.</b> Valores de pH pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% almacenada durante 90 días.....	14
<b>Tabla 5.</b> Valores de acidez en pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% almacenada durante 90 días.....	15
<b>Tabla 6.</b> Humedad en pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% almacenada durante 90 días.....	16
<b>Tabla 7.</b> Parámetros de color ( $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ , $C^*$ , $H^\circ$ ) en pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio y propionato de calcio almacenada durante 90 días.....	17

## ÍNDICE DE ECUACIONES

<b>Ecuación 1.</b> Determinación de acidez titulable .....	10
<b>Ecuación 2.</b> Determinación de humedad.....	10
<b>Ecuación 3.</b> Determinación de croma .....	11
<b>Ecuación 4.</b> Determinación de tono .....	11

## ÍNDICE DE ANEXOS

### ANEXO A. DISTRIBUCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS

Tabla A. 1 Combinaciones experimentales.....	31
--	----

### ANEXO B. PREPARACIÓN DE LAS PRE MEZCLAS DE HARINAS

<b>Figura B. 1</b> Tubérculos troceados para la elaboración de harinas .....	32
<b>Figura B. 2</b> Harinas de tubérculos de camote, oca, mashua, achira.....	32
<b>Figura B. 3</b> Almacenamiento de las pre mezclas de harinas con tratamientos con conservantes .....	32

### ANEXO C. ACCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS CON CONSERVANTES FRENTE A LOS MICROORGANISMOS

<b>Figura C. 1</b> Mohos y levaduras en la pre mezcla 2 (oca, mashua, achira) a) control b) con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% c) con sorbato de potasio 0.1% d) con propionato de calcio 0.2% .....	33
<b>Figura C. 2</b> <i>Staphylococcus aureus</i> en la pre mezcla 1 (oca, mashua, achira) a) control b) con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% c) con sorbato de potasio 0.1% d) con propionato de calcio 0.2% .....	33
<b>Figura C. 3</b> <i>Staphylococcus aureus</i> en la pre mezcla 2 (camote, mashua, achira) a) control b) con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% c) con sorbato de potasio 0.1% d) con propionato de calcio 0.2% .....	33
<b>Figura C. 4</b> Enterobacterias en la pre mezcla 2 (camote, mashua, achira) con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio .....	34
<b>Figura C. 5</b> <i>Bacillus cereus</i> en la pre mezcla 1 (camote, mashua, achira) control ...	34
<b>Figura C. 6</b> <i>Salmonella spp.</i> en la pre mezcla 2 (oca, mashua, achira) control .....	34

## ABREVIATURAS

**P1Control:** Pre mezcla 1 (harina de camote, mashua, achira) control sin conservante

**P1SOPR:** Pre mezcla 1 (harina de camote, mashua, achira) con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2%

**P1SO:** Pre mezcla 1 (harina de camote, mashua, achira) con sorbato de potasio 0.1%

**P1PR:** Pre mezcla 1 (harina de camote, mashua, achira) con propionato de calcio 0.2%

**P2Control:** Pre mezcla 2 (harina de oca, mashua, achira) control sin conservante

**P2SOPR:** Pre mezcla 2 (harina de oca, mashua, achira) con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2%

**P2SO:** Pre mezcla 2 (harina de oca, mashua, achira) con sorbato de potasio 0.1%

**P2PR:** Pre mezcla 2 (harina de oca, mashua, achira) con propionato de calcio 0.2%

## RESUMEN

En la actualidad, han surgido nuevas preocupaciones sobre la seguridad alimentaria causado por bacterias, mohos y levaduras. En efecto en la industria de la panificación la contaminación de la harina es un tema de interés debido a que es un producto crudo por lo tanto está sujeta a la contaminación microbiana. Bajo este contexto el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del sorbato de potasio y propionato de calcio a diferentes dosis en pre mezclas de harinas elaboradas a partir de tubérculos con el fin de reducir los microorganismos presentes en esta. Los análisis se realizaron con dos tipos de pre mezclas de harina de tubérculos: pre mezcla 1 (camote, mashua, achira) y pre mezcla 2 (oca, mashua, achira). Se aplicaron 4 tratamientos: el control sin conservante, con sorbato de potasio 0.1%, con propionato 0.2% y con sorbato de potasio 0.1%, y con propionato de calcio 0.2%; y se determinaron las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas durante 5, 30, 60 y 90 días de almacenamiento. En los análisis de humedad mostraron un aumento al día 30 y al 90 tienden a estabilizarse, respecto al pH y acidez hubo una diferencia estadísticamente significativa. En las pre mezclas se hallaron mohos y levaduras, aerobios mesófilos y termófilos, *Staphylococcus aureus* y enterobacterias, los resultados indican que en las pre mezclas tratadas con sorbato de potasio el desarrollo de mohos y levaduras fue reducido significativamente, en cuanto a los análisis colorimétricos de los tratamientos respecto al control indican que no muestran diferencias significativas.

**Palabras claves:** tubérculos andinos, sorbato de potasio, propionato de calcio, pre mezclas, harinas.

## ABSTRACT

Currently, there are new concerns about food safety with bacteria, molds, and yeasts. Indeed, in the bakery industry the flour contamination is a topic of interest because flour is a crude product therefore it is subject to microbial contamination. Under this context the present work has as objective evaluate the effect of potassium sorbate and calcium propionate at different doses in pre flour mixtures from tubers focused on the reduction of microorganisms present in it. The analyzes were carried out with two types of tuber flour pre mixes: pre mix 1 (sweet potato, mashua, achira) and pre mix 2 (oca, mashua, achira). Four treatments were applied: the control without preservative, with 0.1% potassium sorbate, with 0.2% calcium propionate, and the physicochemical and microbiological properties were determined during 5, 30, 60 and 90 days of storage. In the moisture analyzes the pre mixtures showed an increase at day 30 and 90 tend to stabilize. Regarding pH and acidity there was statistically significant difference. In the pre mixtures were found molds and yeasts, aerobics mesophilic and thermophilic, *Staphylococcus aureus* and enterobacteria, the result indicate that in the premixtures treated with potassium sorbate the development of molds and yeasts was significantly reduced, as for the colorimetric analyzes of the treatments with respect to the control, they indicate no significant differences.

**Keywords:** andean tubers, potassium sorbate, calcium propionate, pre mixtures, flours.



# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Antecedentes Investigativos

#### 1.1.1 Harina de tubérculos

La harina es un polvo que se obtiene mediante un proceso de trituración o molienda hasta conseguir un apropiado grado de finura (**Canimolt, 2014**). Constituye la principal materia prima en panificación la cual debe cumplir con parámetros de calidad para que sea adecuada en la elaboración de productos seguros (**Mesas & Alegre, 2002**). Generalmente se elabora a partir del trigo, sin embargo, se pueden obtener de distintos cereales, plantas leguminosas y de otros alimentos ricos en almidón. Habitualmente las harinas vegetales se pueden obtener de alimentos con un contenido predominante de carbohidratos (**Pires, 2013**). En la actualidad, la harina se puede elaborar a partir de tubérculos deshidratados y que podrían ser utilizados en la industria de la panificación (**Guerra, 2014**), estas harinas son utilizadas como fuentes de calorías y son una alternativa como sustituto de la harina de trigo (**Ammar, Hegazy, & Bedeir, 2009**).

#### 1.1.2 Contaminación de la harina

Uno de los factores importantes que conllevan al deterioro y poca duración de alimentos elaborados a base de farináceos es el alto nivel de microorganismos presentes en la materia prima o por la contaminación de la harina que se podría originar durante la molienda a través de la maquinaria utilizada (**Li et al., 2012**). Los contaminantes microbianos pueden sobrevivir en un estado latente conservando su viabilidad y el potencial de multiplicarse, es decir la harina cruda puede representar riesgos para la salud debido a que en los procesos de molienda no se aplican tratamientos térmicos o químicos (**Sabillón & Bianchini, 2016**).

La contaminación en las harinas puede surgir desde la cosecha y debido a factores externos procedentes del suelo, agua e insectos. En efecto la calidad microbiológica de la materia prima tiene una gran influencia en la calidad final del producto (**Bullerman & Bianchini, 2009**).

Los productos farináceos también están sujetos a la contaminación por ácaros, roedores e insectos, los cuales tienden a la propagación de hongos, virus y protozoos. Por ejemplo insectos del género *Tribolium* secretan quinona y al infestar en las harinas despiden un fuerte olor, provocando la pérdida de calidad e inocuidad del producto, haciéndola no idonea para el consumo (**Prado, Franco, Souza, Oliveira, & Correia, 2005**). Adicionalmente según **César (2000)** la contaminación se puede producir en el almacenamiento de la harina por hongos procedentes del ambiente (hongos de almacenamiento) del género *Aspergillus* que son productores de aflatoxinas que se generan debido a condiciones de temperatura cálidas y alta humedad, que consecuentemente representan un problema en la inocuidad de los alimentos provocando grandes infecciones.

### **1.1.3 Microorganismos en la harina**

A pesar de que la harina tiene un bajo contenido de agua, el aumento de la actividad de agua eleva el desarrollo de bacterias del género *Bacillus* y diversos tipos de mohos. Cuando la humedad es mayor favorece el crecimiento de moho y puede propagarse produciendo la formación de esporas (**Jay, 2012**). En efecto se ha descubierto que los patógenos que contaminan la harina pueden sobrevivir en un estado latente durante largos períodos de tiempo (**Eglezos, 2010**).

Normalmente en productos de panadería, aunque los mohos se destruyen durante el horneado por inactivación térmica, la contaminación se produce a través de las esporas de moho que se encuentran en el aire o en las superficies durante los procesos de enfriamiento, acabado y envoltura del alimentos (**Marin et al., 2002**). Además **Ray and Bhunia (2007)** menciona que las esporas provenientes en la harina sobreviven al horneado, posteriormente germinan y crecen de 1 a 2 días.

En algunos estudios se han detectado recuentos microbianos bajos de *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* y microorganismos de deterioro en el trigo y harina (**Berghofer, Hocking, Miskelly, & Jansson, 2003**). Por otra parte, según investigaciones realizadas en harina de maíz se han encontrado coliformes (NMP  $>10^2/g$ ).

Así mismo se han identificado *Bacillus cereus* en harina de yuca y espolvoreados (Prado et al., 2005). Otros estudios efectuados en Australia han detectado la presencia de mohos, levaduras, *E. coli* y *B. cereus* en harina de trigo (Eglezos, 2010).

#### 1.1.4 Harinas de tubérculos propiedades fisicoquímicas

##### Camote

El camote tiene un alto valor nutricional y es considerado rico en fibra, antioxidantes, además tiene un aporte significativo en vitaminas y minerales. En cuanto a su composición, 100 g de este alimento contiene en mayor cantidad agua (74%), además fibra 1.2%, lípidos 0.2%, carbohidratos 21.5 g, almidones 11.8 g, grasa 0.6 g, azúcar 9.7 g (Linares, Bye, Ramírez, & Pereda, 2008). Por otra parte la harina de camote posee 6.65% de humedad, acidez 0.18 (ácido sulfúrico), proteína 5.19 % y 3.34% de cenizas (Huilcapi, 2015).



Figura 1. Camote (*Ipomoea batatas*)

##### Mashua

La mashua es una fuente importante de carbohidratos, almidón, vitamina C y B, constituye un alimento con propiedades nutricionales y medicinales (CIP, 2009). La mashua en comparación a otros tubérculos como jícama y achira posee un mayor contenido de proteínas (Bonete, Urquiza, Guevara, & Yáñez, 2016).



Figura 2. Mashua (*Tropaeolum tuberosum*)

La mashua es una fuente de proteínas (1.2%), carbohidratos (10.95%) y fibra (0.79%), ácido ascórbico (**Surco, 2004**). Según estudios realizados dentro de la caracterización fisicoquímica la harina de mashua presenta una humedad de 13,8%, proteína 10.40%, grasa 1.70%, carbohidratos 62,18% **Guerra (2014)**.

### **Achira**

La achira es una planta de origen andino, desde el punto de vista nutricional posee altos contenidos de almidón y es una fuente importante de energía, además es rico en vitaminas y minerales (**Ayala, 2004**). Es usada en la industria alimentaria para la elaboración de galletas, pan, sopas instantáneas y bizcochos (**Torres, 2015**). Dentro de la composición de la raíz fresca se destaca su contenido de humedad (88.7%), contiene un 75.4% de carbohidratos, 9.17% de proteína, 4.81% de cenizas y 5.86% de fibra (**Bonete et al., 2016**). La composición de la harina de achira comprende: 19.48% materia seca, proteína 5.23%, ceniza 9.53%, grasa 1.64% y fibra 8.16% (**Chafra, 2014**).



**Figura 3.** Achira (*Canna edulis*)

### **Oca**

La oca es un tubérculo andino que en términos de rendimiento permite obtener mayor cantidad de harina en comparación con el de la mashua, es decir respecto al rendimiento este tubérculo está dentro de los más altos. En la composición nutritiva de la oca del alimento fresco comprende una humedad de 85.9%, proteína 0.97%, grasa 0.8%, cenizas 0.57%, fibra 0.76% y carbohidratos 13.16% (**Surco, 2004**). El contenido de humedad de la harina de oca presenta un valor aproximado de 9.11% y pH de 6.19 (**Mosquera, 2015**).



**Figura 4.** Oca (*Oxalis tuberosa*)

### **1.1.5 Agentes antimicrobianos**

Los antimicrobianos son sintetizados químicamente y han sido incorporados por varios años en los alimentos como una alternativa de conservación (**Sauceda, 2011**). Su uso ha resultado ser efectivos y son utilizados con el propósito de controlar el deterioro natural de los alimentos y fundamentalmente son utilizados para inhibir el crecimiento de los microorganismos patógenos presentes en los alimentos (**Tajkarimi, Ibrahim, & Cliver, 2010**). La adición de agentes antimicrobianos como ácidos orgánicos débiles (propiónico, benzoico, sórbico) son utilizados para suprimir el crecimiento de microorganismos y alargar la vida útil en productos de panadería (**Gould, 1996**).

#### **Sorbato de potasio**

El sorbato de potasio es una sal usada para controlar el crecimiento de mohos y levaduras en los alimentos hasta con un pH de 6.5, se considera que tiene más eficacia cuando los valores de pH son bajos. Su acción frente a los microorganismos se fundamenta en la propiedad de unirse a la superficie de las células microbianas, interfiriendo en la permeabilidad de la membrana y su metabolismo (**Acero, 2006**). El sorbato de potasio es utilizado como un aditivo antimicrobiano para la conservación de alimentos como: panes, pasteles, mezclas para hornear, pastas, rellenos, aderezos (**CFNP, 2002**).

#### **Propionato de calcio**

El propionato es utilizado como conservante en especial en productos de panadería y actúa principalmente contra mohos (**Mejía & Ríos, 2008**). Además los iones de calcio del propionato contribuyen al enriquecimiento de los productos (**Badui D, 2016**). Por otro lado estos conservantes previenen el crecimiento de hongos filamentosos y

*Bacillus*, básicamente actúa sobre la integridad de la membrana citoplasmática y al modificar el metabolismo del hongo filamentoso (Tortora, Funke, & Case, 2007). Se ha estudiado el uso de una combinación de conservantes (sorbato de potasio y propionato de calcio 0-0.3%) y actividad de agua (0.8-0.9) en productos de panadería de humedad intermedia, siendo el más efectivo el sorbato de potasio para prevenir el deterioro de mohos a una concentración máxima de 0.3% y el propionato de calcio efectiva a bajos niveles de  $a_w$  (Guynot, Ramos, Sanchis, & Marin, 2005).

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del propionato de calcio y sorbato de potasio en la vida útil de pre mezclas farináceas a partir de OCA (*Oxalis tuberosa*), ACHIRA (*Canna edulis*), MASHUA (*Tropaeolum tuberosum*) Y CAMOTE (*Ipomoea batatas*).

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Aplicar tratamientos de conservación en pre mezclas farináceas mediante la adición de propionato de calcio y sorbato de potasio a diferentes concentraciones.
- Evaluar la calidad microbiológica de pre mezclas farináceas a partir de oca (*Oxalis tuberosa*), achira (*Canna edulis*), mashua (*Tropaeolum tuberosum*) y camote (*Ipomoea batatas*).
- Determinar propiedades físicoquímicos y tiempo de vida útil de pre mezclas farináceas tratadas con propionato de calcio y sorbato de potasio.

## 1.3 Hipótesis

### 1.3.1 Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)

H<sub>0</sub>: El uso de conservantes (propionato de calcio y sorbato de potasio) en premezclas farináceas, no afectan las propiedades físicoquímicas (pH, acidez, humedad, color) y microbiológicas.

### **1.3.2 Hipótesis alternativa (Ha)**

H<sub>1</sub>: El uso de conservantes (propionato de calcio y sorbato de potasio) en premezclas farináceas, afectan las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, humedad, color) y microbiológicas.

## **1.4 Señalamiento de variables de la hipótesis**

### **1.4.1 Variable independiente**

- Tipo de harina
  - Pre mezcla 1: camote, mashua, achira
  - Pre mezcla 2: oca, mashua, achira
- Tratamiento con conservante
  - Control (sin conservante)
  - Sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2%
  - Sorbato de potasio 0.1%
  - Propionato de calcio 0.2%
- Días de evaluación (5, 30, 60 y 90)

### **1.4.2 Variable dependiente**

- Propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de pre mezclas farináceas.

## CAPÍTULO II

### METODOLOGÍA

#### 2.1 Materiales

##### 2.1.1 Materia prima

Para la elaboración de las harinas se utilizó como materia prima: mashua (*Tropaeolum tuberosum*), camote (*Ipomoea batatas*), achira (*Canna edulis*) y oca (*Oxalis tuberosa*) estos tubérculos fueron adquiridos en los mercados de la ciudad de Ambato.

##### 2.1.2 Obtención de harinas de tubérculos

Para la obtención de las harinas los tubérculos fueron troceados y sometidos a un proceso de deshidratación con circulación de aire caliente en un secador de bandejas (Gander MTN, Estados Unidos) a una temperatura de 60 °C durante 24 horas (Lalaleo, 2017). Luego el producto deshidratado se trituró en un molido (DAEWOO DCG362) hasta obtener partículas muy finas de polvo. Por último, las harinas se envasaron en bolsas plásticas selladas hasta su próxima utilización a una temperatura de 16°C con una humedad de almacenamiento del 45%. El procedimiento fue el mismo para la obtención de cada tipo de harina (oca, mashua, achira y camote).



**Figura 5.** Obtención de harinas de tubérculos andinos.

A) Materia prima, B) Lavado, C) Troceado, D) Secado, E) Molienda, F) Envasado, G) Harinas de oca, mashua, achira, camote.



### 2.1.3 Formulación

Para la preparación de las muestras se realizaron dos tipos de pre mezclas de mediante la combinación de diferentes tipos de harinas elaboradas a partir de tubérculos andinos. Las especificaciones de la formulación se detallan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Formulación de pre mezclas de harinas de tubérculos

Harinas	Premezcla 1 (%)	Premezcla 2 (%)
Camote dulce	45	0
Achira	45	45
Mashua	10	10
Oca dulce	0	45

**Tabla 2.** Simbología de los conservantes aplicados a las premezclas de harinas de tubérculos

Simbología	Tratamiento con conservante
P1Control	Pre mezcla 1 (harina camote, mashua, achira) control sin conservante
P1SOPR	Pre mezcla 1 (harina camote, mashua, achira) con sorbato 0.1% y propionato 0.2%
P1SO	Pre mezcla 1 (harina camote, mashua, achira) con sorbato 0.1%
P1PR	Pre mezcla 1 (harina camote, mashua, achira) con propionato 0.2%
P2Control	Pre mezcla 2 (harina oca, mashua, achira) control sin conservante
P2SOPR	Pre mezcla 2 (harina oca, mashua, achira) con sorbato 0.1% y propionato 0.2%
P2SO	Pre mezcla 2 (harina oca, mashua, achira) con sorbato 0.1%
P2PR	Pre mezcla 2 (harina oca, mashua, achira) con propionato 0.2%

## 2.2 Análisis Físicoquímicos

### 2.2.1 Determinación de pH

El pH se determinó mediante la **NTE INEN 526 (2013)**, se pesaron 10 g de muestra preparada en un vaso de precipitación con 100m ml de agua destilada, luego se homogenizó para que no existan partículas en suspensión, se filtró la mezcla y se determinó el pH por lectura directa con la ayuda de un potenciómetro (METTLER TOLDEDO pH 10 NS 220) previamente calibrado, teniendo en cuenta que el electrodo no toque las paredes del vaso de precipitación ni las partículas sólidas de la muestra. Las mediciones se realizaron por triplicado en cada tratamiento.

### 2.2.2 Determinación de Acidez Titulable

La metodología empleada fue la (AOAC 939.05) para lo cual se pesó 10 gramos de la muestra preparada y se homogenizó con 40 ml de agua destilada. Para la determinación se utilizó un titulador potenciométrico (METTLER TOLEDO G20) con una solución de NaOH 0.1 N, las mediciones se realizaron por triplicado. Finalmente, la acidez titulable se determinó por titulación (expresado en ácido láctico) y se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ acidez titulable} = \frac{V(\text{ml})\text{NaOH} * N(\text{NaOH}) * \text{Meq } C_4H_6O_6 * 100}{\text{peso de la muestra (g)}} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

**V (NaOH):** volumen gastado de hidróxido de sodio en la titulación

**N (NaOH):** normalidad del NaOH (0,1N)

**Meq (C<sub>4</sub>H<sub>6</sub>O<sub>6</sub>):** factor de acidez en harinas, miliequivalentes de ácido tartárico (0.075)



Figura 6. Titulador potenciométrico METTLER TOLEDO G20

### 2.2.3 Determinación de humedad

El análisis se realizó según la metodología de la AOAC 930.15 para lo cual se colocó 2 g de muestra en una cápsula previamente pesada, seguido se colocó en una estufa a 130 °C durante 24 horas. Luego del secado la cápsula fue enfriada en un desecador hasta obtener un peso constante. El ensayo se ejecutó por triplicado y los resultados están expresados en porcentaje del peso total. El porcentaje de humedad se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\%H = \frac{W1 - W2}{\text{Peso de la muestra}} * 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

**W1:** peso de la muestra + cápsula antes de la estufa

**W2:** peso de la muestra + capsula después de la estufa

### 2.3 Colorimetría

Para la medición de los parámetros de color  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (rojo/verde),  $b^*$  (amarillo/azul),  $C$  (cromaticidad) y  $^{\circ}H$  (ángulo Hue) se utilizó un colorímetro (Lovibond LC 100, EE.UU).

Para la evaluación de estos parámetros el equipo fue calibrado con un estándar de color blanco, las harinas fueron colocadas en portamuestras, y las mediciones se realizaron sobre la superficie de la celda (**García, Zamudio, Bello, Romero, & Solorza, 2011**). Se registró un promedio de 10 lecturas y por triplicado en cada muestra y se calcularon  $C^*$  (croma, saturación o pureza de color) y  $^{\circ}H$  (Tono) mediante las siguientes ecuaciones:

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

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

### 2.4 Análisis microbiológico

Para determinar la calidad microbiológica de las premezclas de harinas de los diferentes tratamientos se utilizaron los métodos descritos en la **NTE INEN 0616 (2006)** siguiendo los procedimientos establecidos para las determinaciones de: *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella*, mohos y levaduras.

Para los ensayos microbiológicos se pesaron 10 g de cada muestra y se colocaron en bolsas estériles (Seward Stomacher lab system classic 400) con 90 ml de agua de peptona (Difco, Le Pont de Claix, France), seguidamente se llevaron a un homogenizador Stomacher (400 Circulator, Seward, Londres, Reino Unido) durante 1 minuto para que la muestra se distribuya homogéneamente.

A continuación, se realizaron diluciones decimales seriadas de acuerdo a cada determinación requerida. (I) Para recuento de aerobios mesófilos se sembró en placas con agar PCA (Plate Count Agar), se incubaron a 37 °C durante 48 horas y para aerobios termófilos (II) a 55 °C por 72 horas con PCA. (III) Para el recuento de *Enterobacteriaceae* se realizó la técnica de siembra en profundidad en doble capa con VRBG (agar glucosa bilis rojo violeta) a 37 °C por 24 horas. (IV) Para *Staphylococcus aureus* en placas con agar Baird Parker y se incubaron a 37 °C durante 48 horas. (V) para *Bacillus cereus* se determinó por recuento en placa en superficie con MYP agar (Medio base, yema de huevo, polimuxina) incubadas a 37°C durante 24 horas (**Allaert & Escolá, 2002**). (VI) Para *Salmonella* se utilizó agar SS (Salmonella Shigella agar) y se incubaron a 37 horas por 24 horas. (VII) Para mohos y levaduras se sembró en placas con agar PDA (Potato Dextrose Agar) los cuales se incubaron a 25 °C por 5 días. Los resultados se expresaron como el logaritmo de unidades formadoras de colonias por gramo de muestra (log UFC/g).

Los parámetros de pH y acidez, color, humedad y análisis microbiológico las cuales serán evaluados en tiempos de 5, 30, 60 y 90 días.

## **2.5 Aplicación de los conservantes**

Se realizaron tratamientos de conservación de las harinas mediante la adición de propionato de calcio y sorbato de potasio. La cantidad de conservante a usar (sorbato 0.1% y propionato de calcio 0.2%) fueron en base a las dosis máximas permitidas según la norma general para aditivos alimentarios (**CODEX, 1995**).

Se aplicaron cuatro dosis en la pre mezcla 1 y pre mezcla 2, (i) el primer tratamiento control (sin aditivo), (ii) pre mezclas con sorbato de potasio 0,1% y propionato de calcio 0,2%, (iii) pre mezclas con sorbato de potasio 0,1% y (iv) pre mezclas con propionato de calcio 0,2%.

## 2.6 Diseño experimental

El diseño experimental será tipo AxBxC que corresponde a 16 experimentos para cada pre mezcla, siendo el factor A (tipo de premezcla), factor B (tratamiento con conservante) y factor C (Días de almacenamiento). A continuación, se detallan los diferentes factores y niveles que fueron evaluados:

**Tabla 3.** Factor y niveles del diseño experimental

<b>FACTORES</b>	<b>NIVELES</b>
<b>A:</b> Tipo de premezcla	a <sub>0</sub> : pre mezcla 1 (camote, mashua, achira)
	a <sub>1</sub> : pre mezcla 2 (oca, mashua, achira)
<b>B:</b> Tratamiento con conservante	b <sub>0</sub> : Control (sin conservante)
	b <sub>1</sub> : sorbato de potasio 0.1% con propionato de calcio 0.2%
	b <sub>2</sub> : sorbato de potasio 0.1%
	b <sub>3</sub> : propionato de calcio 0.2%
<b>C:</b> Días de evaluación	c <sub>0</sub> : 5
	c <sub>1</sub> : 30
	c <sub>2</sub> : 60
	c <sub>3</sub> : 90

La distribución de los experimentos y combinaciones se muestran en el anexo A. (Tabla A1).

Las respuestas experimentales fueron pH y acidez, color, humedad y el análisis microbiológico los cuales fueron evaluados en tiempos de 5, 30, 60 y 90 días. Para el análisis estadístico de los resultados se usó el programa informático EXCEL® (Microsoft Office, EE. UU.), las diferencias significativas se calcularon mediante la prueba de Tukey a un 95% de confianza con el programa estadístico Statgraphics Centurión XVI.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 Análisis y discusión de los resultados

##### 3.1.1 Análisis fisicoquímicos

##### pH y acidez

**Tabla 4.** Valores de pH pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% almacenada durante 90 días

Tipo Premezcla	Tratam. con conservante	pH			
		Días de evaluación			
		Día 5	Día 30	Día 60	Día 90
Pre mezcla 1	P1Control	6,11±0,000 <sup>A;m;x</sup>	6,14±0,021 <sup>A;m;y</sup>	6,13±0,007 <sup>A;m;y</sup>	6,11±0,000 <sup>A;m;x</sup>
	P1SOPR	6,08±0,000 <sup>A;n;x</sup>	6,12±0,000 <sup>A;n;y</sup>	6,12±0,007 <sup>A;n;y</sup>	6,10±0,000 <sup>A;n;x</sup>
	P1SO	6,10±0,000 <sup>A;n;x</sup>	6,11±0,000 <sup>A;n;y</sup>	6,11±0,000 <sup>A;n;y</sup>	6,10±0,000 <sup>A;n;x</sup>
	P1PR	6,10±0,000 <sup>A;n;x</sup>	6,12±0,000 <sup>A;n;y</sup>	6,11±0,007 <sup>A;n;y</sup>	6,10±0,000 <sup>A;n;x</sup>
Pre mezcla 2	P2Control	6,46±0,007 <sup>B;m;x</sup>	6,43±0,021 <sup>B;m;y</sup>	6,44±0,021 <sup>B;m;x</sup>	6,41±0,000 <sup>B;m;z</sup>
	P2SOPR	6,46±0,000 <sup>B;m;x</sup>	6,43±0,000 <sup>B;m;y</sup>	6,45±0,007 <sup>B;m;x</sup>	6,41±0,000 <sup>B;m;z</sup>
	P2SO	6,45±0,000 <sup>B;m;x</sup>	6,41±0,014 <sup>B;m;y</sup>	6,45±0,000 <sup>B;m;x</sup>	6,40±0,000 <sup>B;m;z</sup>
	P2PR	6,44±0,007 <sup>B;m;x</sup>	6,45±0,007 <sup>B;m;y</sup>	6,45±0,007 <sup>B;m;x</sup>	6,41±0,007 <sup>B;m;z</sup>

P1 (harina de camote, mashua, achira) P2 (harina de oca, mashua, achira), P1SOPR (pre mezcla 1 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P1SO (pre mezcla 1 con sorbato 0.1%), P1PR (Pre mezcla 1 propionato 0.2%), P2SOPR (pre mezcla 2 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P2SO (pre mezcla 2 con sorbato 0.1%), P2PR (Pre mezcla 2 propionato 0.2%). Los superíndices letras mayúsculas diferentes entre filas indican diferencias significativas <sup>A,B</sup> entre “tipo de premezcla”, letras minúsculas <sup>m,n</sup> “tratamiento con conservante”. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas <sup>x,y,z</sup> entre “días de evaluación”, evaluada con prueba de Tukey al 95% de confianza.

En la Tabla 5 se muestran los resultados de pH donde se observa que existe diferencia significativa entre el tipo de pre mezcla. Se encuentran en un rango de pH de 6,08 a 6,13 en la pre mezcla 1 (camote, achira mashua), estos valores del pH coinciden con hallazgos realizados en almidón de achira que reportan valores de pH de 6 a 6,10 (Pérez, Mayra, Pérez, Quintero, & Vargas, 2017), además están relacionados con valores experimentales de rangos de pH de 6,35 y 6,05 en harinas de oca y achira respectivamente (Ocaña, 2019). La variable tratamiento muestra diferencia significativa, esto está asociado a que las muestras con sorbato de potasio le imparte una ligera disminución en el pH, en efecto el sorbato de potasio y propionato de calcio comúnmente reducen el pH del alimento para favorecer su actividad frente a los microorganismos (Farías, Bustos, Moreno, & Ríos, 2002).

**Tabla 5.** Valores de acidez en pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% almacenada durante 90 días

		% Acidez (Ácido Tartárico)			
		Días de evaluación			
Tipo Pre mezcla	Tratam. con conservante	Día 5	Día 30	Día 60	Día 90
Pre mezcla 1	P1Control	1,25±0,004 <sup>A;m;x</sup>	1,17±0,003 <sup>A;m;y</sup>	1,21±0,024 <sup>A;m;z</sup>	1,21±0,022 <sup>A;m;z</sup>
	P1SOPR	1,24±0,007 <sup>A;m;x</sup>	1,16±0,022 <sup>A;m;y</sup>	1,20±0,028 <sup>A;m;z</sup>	1,23±0,004 <sup>A;m;z</sup>
	P1SO	1,24±0,010 <sup>A;m;x</sup>	1,16±0,001 <sup>A;m;y</sup>	1,21±0,005 <sup>A;m;z</sup>	1,19±0,021 <sup>A;m;z</sup>
	P1PR	1,24±0,016 <sup>A;m;x</sup>	1,18±0,006 <sup>A;m;y</sup>	1,20±0,001 <sup>A;m;z</sup>	1,19±0,040 <sup>A;m;z</sup>
Pre mezcla 2	P2Control	0,82±0,115 <sup>B;n;x</sup>	0,84±0,008 <sup>B;n;xy</sup>	0,87±0,004 <sup>B;n;xy</sup>	0,81±0,013 <sup>B;n;y</sup>
	P2SOPR	0,89±0,008 <sup>B;n;x</sup>	0,84±0,022 <sup>B;n;xy</sup>	0,86±0,003 <sup>B;n;xy</sup>	0,81±0,010 <sup>B;n;y</sup>
	P2SO	0,89±0,008 <sup>B;n;x</sup>	0,81±0,012 <sup>B;n;xy</sup>	0,85±0,002 <sup>B;n;xy</sup>	0,83±0,001 <sup>B;n;y</sup>
	P2PR	0,86±0,018 <sup>B;n;x</sup>	0,83±0,007 <sup>B;n;xy</sup>	0,84±0,007 <sup>B;n;xy</sup>	0,82±0,019 <sup>B;n;y</sup>

P1 (harina de camote, mashua, achira) P2 (harina de oca, mashua, achira), P1SOPR (pre mezcla 1 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P1SO (pre mezcla 1 con sorbato 0.1%), P1PR (Pre mezcla 1 propionato 0.2%), P2SOPR (pre mezcla 2 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P2SO (pre mezcla 2 con sorbato 0.1%), P2PR (Pre mezcla 2 propionato 0.2%). Los superíndices letras mayúsculas diferentes entre filas indican diferencias significativas <sup>A,B</sup> entre “tipo de premezcla”, letras minúsculas <sup>m,n</sup> “tratamiento con conservante”. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas <sup>xy,z</sup> entre “días de evaluación”, evaluada con prueba de Tukey al 95% de confianza.

El porcentaje de acidez de las pre mezclas estudiadas se presentan en la Tabla 6 y se observa que existen diferencias significativas entre el tipo de pre mezcla y días de almacenamiento ( $p \leq 0,05$ ). En la premezcla 1 se aprecia un descenso del porcentaje de acidez a partir del día 30, mientras que al día 60 y 90 aumenta, la variación observada se debe a que la acidez en las harinas incrementa a lo largo del tiempo de almacenamiento hasta un cierto punto, donde la acidez vuelve a descender y tiende a estabilizarse debido a que se produce la descomposición de las proteínas, en consecuencia el amoníaco que es liberado parcialmente neutraliza la acidez (**UNSTA, 2015**). Algunos autores consideran que la acidez generalmente se debe a la presencia de ácidos grasos en las harinas y una acidez alta en las harinas puede modificar su grado de hidratación (**Duarte, Corrales, & Cano, 2017**).

Los valores más bajos de acidez (0,81 a 0,89%) se obtuvieron en la pre mezcla 2, estos valores fueron inferiores a los presentados por **Bernabé and Cancho (2017)** en harina de oca con un 0,18%. Según **Palate (2013)** menciona que un descenso de acidez se relaciona con un mayor contenido de sólidos solubles. El grado de acidez también está relacionado con el contenido de vitaminas, minerales en la envoltura del alimento (**Medina, 2009**), lo cual se relaciona con la composición de los tubérculos. La pre mezcla 1 muestra un nivel superior de acidez, presentando valores comprendidos entre 1,16 y 1,25% atribuido principalmente al mayor contenido de ácidos orgánicos presente en la harina de tubérculos.

Es importante resaltar que un aumento de acidez también se atribuye a la acción microbiana sobre la harina (**Medina, 2009**), esto está relacionado con la mayor presencia de microorganismos en la pre mezcla 1.

### 3.2 Contenido de humedad

**Tabla 6.** Humedad en pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% almacenada durante 90 días

Tipo Pre mezcla	Tratamiento conservante	Humedad			
		Días de almacenamiento			
		Día 5	Día 30	Día 60	Día 90
Pre mezcla 1	P1Control	12,16±0,030 <sup>A;m;x</sup>	12,94±0,228 <sup>A;m;y</sup>	12,01±0,382 <sup>A;m;x</sup>	12,81±0,248 <sup>A;m;y</sup>
	P1SOPR	12,16±0,263 <sup>A;m;x</sup>	13,09±0,047 <sup>A;m;y</sup>	12,67±0,212 <sup>A;m;x</sup>	12,16±0,090 <sup>A;m;y</sup>
	P1SO	12,46±0,095 <sup>A;m;x</sup>	12,93±0,235 <sup>A;m;y</sup>	12,37±0,153 <sup>A;m;x</sup>	12,41±0,259 <sup>A;m;y</sup>
	P1PR	12,76±0,262 <sup>A;m;x</sup>	12,92±0,136 <sup>A;n;y</sup>	12,65±0,188 <sup>A;m;x</sup>	13,47±0,188 <sup>A;n;y</sup>
Pre mezcla 2	P2Control	10,93±0,192 <sup>B;m;x</sup>	10,57±0,194 <sup>B;m;y</sup>	11,48±0,222 <sup>B;m;x</sup>	11,11±0,005 <sup>B;m;y</sup>
	P2SOPR	10,43±0,222 <sup>B;m;x</sup>	10,63±0,200 <sup>B;m;y</sup>	11,08±0,059 <sup>B;m;x</sup>	11,32±0,196 <sup>B;m;y</sup>
	P2SO	10,30±0,102 <sup>B;m;x</sup>	10,47±0,186 <sup>B;m;y</sup>	11,40±0,076 <sup>B;m;x</sup>	11,36±0,251 <sup>B;m;y</sup>
	P2PR	10,71±0,015 <sup>B;m;x</sup>	10,39±0,189 <sup>B;m;y</sup>	11,14±0,132 <sup>B;m;x</sup>	11,75±0,086 <sup>B;m;y</sup>

P1 (harina de camote, mashua, achira) P2 (harina de oca, mashua, achira), P1SOPR (pre mezcla 1 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P1SO (pre mezcla 1 con sorbato 0.1%), P1PR (Pre mezcla 1 propionato 0.2%), P2SOPR (pre mezcla 2 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P2SO (pre mezcla 2 con sorbato 0.1%), P2PR (Pre mezcla 2 propionato 0.2%). Los superíndices letras mayúsculas diferentes entre filas indican diferencias significativas <sup>A,B</sup> entre “tipo de premezcla”, letras minúsculas <sup>m,n</sup> “tratamiento con conservante”. Letras diferentes entre columnas indican diferencias significativas <sup>x,y,z</sup> entre “días de evaluación”, evaluada con prueba de Tukey al 95% de confianza.

En la Tabla 7 se puede apreciar el contenido de humedad. Los resultados muestran diferencia significativa entre pre mezclas. Los valores de humedad en relación con el tiempo se observa una tendencia creciente a partir del día 30, y una disminución al día 60, sin embargo al día 90 la humedad se estabiliza, esto puede estar asociado a que la harina es altamente higroscópica y tiene la capacidad de ganar o perder humedad, hasta mantener un equilibrio con el ambiente en que se encuentra (**Cardoso, Ramirez, & Piler, 2014**).

En la pre mezcla 1 se encuentran valores de humedad de 12,16-13,47%, siendo más bajos a los reportados por **Aydin, Paulsen, and Smulders (2009)** en muestras de harina de trigo (14,20%) y en harina de mashua (13,80%) reportados por (**Guerra, 2014**). Además, se observó que existe diferencia significativa del tratamiento con propionato de calcio en comparación con el control en la pre mezcla 2 (oca, mashua, achira), esto indica que puede haber un incremento de humedad debido a que dicho conservante es una sal cálcica y es altamente higroscópica (**Perez, 2017**).



Según la NTE INEN 0616 (2006) el máximo de humedad en la harina indica que no debe exceder de 14,5%, lo cual indica que las dos pre mezclas cumplen con los requisitos de humedad establecidos en la norma.

### 3.3 Color

**Tabla 7.** Parámetros de color (L\*, a\*, b\*, C\*, H°) en pre mezclas de harina de tubérculos tratadas con sorbato de potasio y propionato de calcio almacenada durante 90 días

Color pre mezcla 1 (camote, mashua, achira)						
Días	Tratam.	L*	a*	b*	C*	H°
5	P1Control	61,45±0,11 <sup>A;m;x</sup>	8,09±0,03 <sup>A;m;x</sup>	21,60±0,05 <sup>A;m;x</sup>	23,07±0,05 <sup>A;m;x</sup>	69,43±0,07 <sup>A;m;x</sup>
	P1SOPR	61,82±0,25 <sup>A;m;x</sup>	8,28±0,11 <sup>A;m;x</sup>	22,55±0,16 <sup>A;m;x</sup>	24,03±0,16 <sup>A;m;x</sup>	69,83±0,24 <sup>A;m;x</sup>
	P1SO	61,52±0,11 <sup>A;m;x</sup>	8,29±0,04 <sup>A;m;x</sup>	21,88±0,08 <sup>A;m;x</sup>	23,40±0,11 <sup>A;m;x</sup>	69,24±0,16 <sup>A;m;x</sup>
	P1PR	61,75±0,11 <sup>A;m;x</sup>	8,10±0,04 <sup>A;m;x</sup>	22,47±0,06 <sup>A;m;x</sup>	23,88±0,06 <sup>A;m;x</sup>	70,18±0,10 <sup>A;m;x</sup>
30	P1Control	62,64±0,26 <sup>A;m;x</sup>	7,90±0,05 <sup>A;m;x</sup>	22,57±0,15 <sup>A;m;x</sup>	23,92±0,15 <sup>A;m;x</sup>	70,70±0,10 <sup>A;m;x</sup>
	P1SOPR	61,27±0,11 <sup>A;m;x</sup>	8,20±0,11 <sup>A;m;x</sup>	21,97±0,10 <sup>A;m;x</sup>	23,47±0,13 <sup>A;m;x</sup>	69,52±0,22 <sup>A;m;x</sup>
	P1SO	62,74±0,21 <sup>A;m;x</sup>	8,03±0,05 <sup>A;m;x</sup>	23,13±0,24 <sup>A;m;x</sup>	24,49±0,23 <sup>A;m;x</sup>	70,88±0,19 <sup>A;m;x</sup>
	P1PR	62,78±0,16 <sup>A;m;x</sup>	8,21±0,06 <sup>A;m;x</sup>	23,11±0,08 <sup>A;m;x</sup>	24,52±0,08 <sup>A;m;x</sup>	70,45±0,16 <sup>A;m;x</sup>
60	P1Control	61,44±0,27 <sup>A;m;x</sup>	8,16±0,10 <sup>A;m;x</sup>	21,80±0,19 <sup>A;m;x</sup>	23,28±0,17 <sup>A;m;x</sup>	69,49±0,30 <sup>A;m;x</sup>
	P1SOPR	61,44±0,27 <sup>A;m;x</sup>	8,16±0,10 <sup>A;m;x</sup>	21,80±0,19 <sup>A;m;x</sup>	23,28±0,17 <sup>A;m;x</sup>	69,49±0,30 <sup>A;m;x</sup>
	P1SO	62,79±0,12 <sup>A;m;x</sup>	8,18±0,06 <sup>A;m;x</sup>	22,73±0,21 <sup>A;m;x</sup>	24,15±0,20 <sup>A;m;x</sup>	70,20±0,18 <sup>A;m;x</sup>
	P1PR	62,27±0,28 <sup>A;m;x</sup>	8,38±0,13 <sup>A;m;x</sup>	22,69±0,17 <sup>A;m;x</sup>	24,19±0,18 <sup>A;m;x</sup>	69,72±0,38 <sup>A;m;x</sup>
90	P1Control	63,13±0,06 <sup>A;m;x</sup>	8,22±0,04 <sup>A;m;x</sup>	22,08±0,05 <sup>A;m;x</sup>	23,56±0,05 <sup>A;m;x</sup>	69,59±0,10 <sup>A;m;x</sup>
	P1SOPR	63,05±0,06 <sup>A;m;x</sup>	8,17±0,04 <sup>A;m;x</sup>	22,65±0,07 <sup>A;m;x</sup>	24,08±0,07 <sup>A;m;x</sup>	70,17±0,09 <sup>A;m;x</sup>
	P1SO	61,77±0,06 <sup>A;m;x</sup>	8,29±0,04 <sup>A;m;x</sup>	21,67±0,11 <sup>A;m;x</sup>	23,21±0,11 <sup>A;m;x</sup>	69,01±0,16 <sup>A;m;x</sup>
	P1PR	62,03±0,19 <sup>A;m;x</sup>	8,27±0,03 <sup>A;m;x</sup>	22,63±0,07 <sup>A;m;x</sup>	24,10±0,07 <sup>A;m;x</sup>	69,92±0,10 <sup>A;m;x</sup>
Color pre mezcla 2 (oca, mashua, achira)						
Días	Tratam.	L*	a*	b*	C*	H°
5	P2Control	65,24±0,09 <sup>B;m;x</sup>	6,18±0,06 <sup>B;m;x</sup>	22,19±0,06 <sup>B;m;x</sup>	23,03±0,06 <sup>A;mn;x</sup>	74,43±0,12 <sup>B;m;x</sup>
	P2SOPR	64,77±0,05 <sup>B;m;x</sup>	6,61±0,06 <sup>B;m;x</sup>	22,40±0,06 <sup>B;m;x</sup>	23,35±0,07 <sup>A;m;x</sup>	73,56±0,13 <sup>B;m;x</sup>
	P2SO	64,49±0,15 <sup>B;m;x</sup>	6,44±0,03 <sup>B;m;x</sup>	22,40±0,06 <sup>B;m;x</sup>	23,30±0,06 <sup>A;n;x</sup>	73,97±0,10 <sup>B;m;x</sup>
	P2PR	64,46±0,05 <sup>B;m;x</sup>	6,41±0,05 <sup>B;m;x</sup>	23,09±0,05 <sup>B;m;x</sup>	23,96±0,05 <sup>A;mn;x</sup>	74,48±0,12 <sup>B;m;x</sup>
30	P2Control	63,93±0,19 <sup>B;m;x</sup>	6,77±0,08 <sup>B;m;x</sup>	23,12±0,06 <sup>B;m;y</sup>	24,09±0,08 <sup>A;mn;x</sup>	73,68±0,17 <sup>B;m;x</sup>
	P2SOPR	63,38±0,05 <sup>B;m;x</sup>	6,81±0,05 <sup>B;m;x</sup>	23,26±0,25 <sup>B;m;y</sup>	24,23±0,24 <sup>A;m;x</sup>	73,67±0,23 <sup>B;m;x</sup>
	P2SO	64,28±0,06 <sup>B;m;x</sup>	6,47±0,04 <sup>B;m;x</sup>	23,08±0,24 <sup>B;m;y</sup>	23,97±0,23 <sup>A;n;x</sup>	74,35±0,19 <sup>B;m;x</sup>
	P2PR	64,59±0,05 <sup>B;m;x</sup>	6,38±0,04 <sup>B;m;x</sup>	22,73±0,07 <sup>B;m;y</sup>	23,61±0,07 <sup>A;mn;x</sup>	74,32±0,10 <sup>B;m;x</sup>
60	P2Control	64,35±0,36 <sup>B;m;x</sup>	6,67±0,11 <sup>B;m;x</sup>	23,15±0,13 <sup>B;m;y</sup>	24,09±0,14 <sup>A;mn;x</sup>	73,92±0,27 <sup>B;m;x</sup>
	P2SOPR	63,50±0,11 <sup>B;m;x</sup>	6,67±0,05 <sup>B;m;x</sup>	23,51±0,07 <sup>B;m;y</sup>	24,44±0,08 <sup>A;m;x</sup>	74,16±0,09 <sup>B;m;x</sup>
	P2SO	63,96±0,02 <sup>B;m;x</sup>	6,68±0,05 <sup>B;m;x</sup>	23,04±0,07 <sup>B;m;y</sup>	23,99±0,06 <sup>A;n;x</sup>	73,83±0,07 <sup>B;m;x</sup>
	P2PR	63,84±0,07 <sup>B;m;x</sup>	6,48±0,06 <sup>B;m;x</sup>	22,45±0,09 <sup>B;m;y</sup>	23,37±0,09 <sup>A;mn;x</sup>	73,89±0,15 <sup>B;m;x</sup>
90	P2Control	64,79±0,11 <sup>B;m;x</sup>	6,58±0,02 <sup>B;m;x</sup>	22,91±0,05 <sup>B;m;y</sup>	23,84±0,05 <sup>A;mn;x</sup>	73,97±0,06 <sup>B;m;x</sup>
	P2SOPR	64,76±0,06 <sup>B;m;x</sup>	6,55±0,03 <sup>B;m;x</sup>	23,03±0,05 <sup>B;m;y</sup>	23,94±0,04 <sup>A;m;x</sup>	74,13±0,08 <sup>B;m;x</sup>
	P2SO	64,72±0,08 <sup>B;m;x</sup>	6,42±0,03 <sup>B;m;x</sup>	22,50±0,07 <sup>B;m;y</sup>	23,40±0,07 <sup>A;n;x</sup>	74,08±0,07 <sup>B;m;x</sup>
	P2PR	64,69±0,07 <sup>B;m;x</sup>	6,59±0,04 <sup>B;m;x</sup>	22,92±0,06 <sup>B;m;y</sup>	23,84±0,07 <sup>A;mn;x</sup>	73,96±0,08 <sup>B;m;x</sup>

P1 (harina de camote, mashua, achira) P2 (harina de oca, mashua, achira), P1SOPR (pre mezcla 1 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P1SO (pre mezcla 1 con sorbato 0.1%), P1PR (Pre mezcla 1 propionato 0.2%), P2SOPR (pre mezcla 2 con sorbato 0.1% y propionato 0.2%), P2SO (pre mezcla 2 con sorbato 0.1%), P2PR (Pre mezcla 2 propionato 0.2%). Los superíndices letras mayúsculas diferentes entre filas indican diferencias significativas <sup>A,B</sup> entre “tipo de premezcla”, letras minúsculas <sup>m,n</sup> “tratamiento con conservante” y <sup>x,y,z</sup> entre “días de evaluación”, evaluada con prueba de Tukey al 95% de confianza.

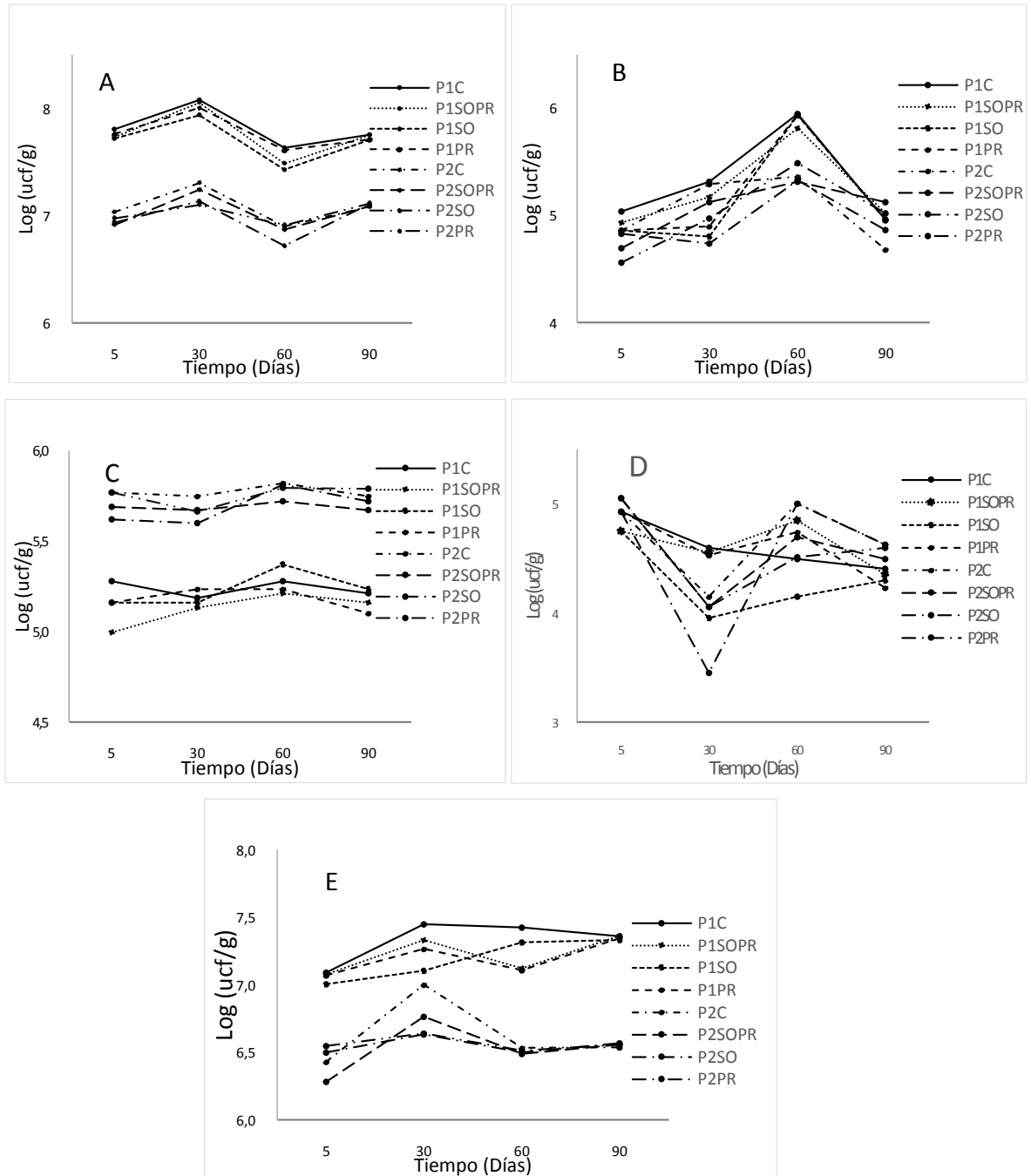
Los parámetros de color de la pre mezcla 1 (camote, mashua, achira) y premezcla 2 (oca, mashua, achira) se detalla en la Tabla 8. Para  $L^*$  (Luminosidad),  $a^*$ (rojo/verde),  $b^*$ (amarillo/azul) y  $H^\circ$ (Tono) se observa que existen diferencias significativas entre el tipo de pre mezcla a excepción de  $C^\circ$  (croma), observándose que para  $L^*$  en la pre mezcla 2 los valores fluctúan entre 63,38 a 65,23; lo expuesto indica que la luminosidad es más clara, debido a la presencia de harina de oca la cual contiene una alta luminosidad ( $L=69$ ) respecto a los demás tubérculos (**Ocaña, 2019**). Además el color brillante se atribuye a la degradación de los carotenoides y reacciones de oxidación (**Li et al., 2012**). Por otro lado, la premezcla 1 posee valores de  $L^*$  de 62,26 a 63,13 presentando menor claridad debido a la presencia de la harina de mashua y achira que contienen compuestos fenólicos que son susceptibles al calor en el secado para obtención de la harina, lo cual produce pigmentos pardos marrones presentando colores más oscuros (**Paucar, 2014**).

La coordenada  $a^*$  de la pre mezcla 1 presenta valores mayores comprendido entre 7,09 a 8,38 lo cual indica una ligera desviación hacia el rojo, esto puede deberse al contenido de polifenoles, antocianinas que son coloraciones rojas y púrpuras presentes en la piel del camote (**Paucar, 2014**). La coordenada cromática  $b^*$  se encuentra en rangos de 21,60 a 23,13 lo cual presenta una desviación hacia el color amarillo debido al aporte de este color por parte de la harina de mashua. Para el parámetro  $C^*$  (croma) que corresponde a cuan puro e intenso es el color, no presentó variación entre pre mezclas con un valor máximo de 24,52 correspondiente a una baja pureza de color; sin embargo, el tratamiento con sorbato de potasio y propionato de calcio muestra diferencia significativa en relación a los demás tratamientos en la pre mezcla 2.

El parámetro  $H^*$  (tono) mostraron pequeñas variaciones entre pre mezclas, por su parte la pre mezcla 1 presentó ángulos tonos de  $69-70,87^\circ$ , lo que indica que una tendencia al color amarillo pálido y la pre mezcla 2 presenta mayores valores ( $73,48$  a  $4,47^\circ$ ) lo cual genera un mayor desplazamiento hacia un color amarillo más intenso, debido al presencia de la mashua que es la especie más rica en carotenos lo cual le confiere dicha pigmentación a la pre mezcla (**Espín, Villacrés, & Brito, 2004**), al igual que la oca que resalta su contenido de carotenoides propios de este color (amarillo), este atributo permite resaltar el color en la elaboración de postres y en mezclas con otro tipo de harinas (**Bernabé & Cancho, 2017**).

En cuanto que para la variable de estudio “días de evaluación” se observa que no presentaron significancia, es decir los parámetros de color no aumentan ni disminuyen durante los 90 días de almacenamiento.

### 3.4 Análisis microbiológico



**Figura 7.** Recuentos microbiológicos en pre mezclas de harinas. A) Mohos y levaduras, B) *Staphylococcus aureus*, C) Enterobacterias, D) Aerobios termófilos, E) Aerobios mesófilos

La Figura 7.A se muestran los resultados del recuento de mohos y levaduras, los cuales mostraron diferencias significativas entre tratamientos y días. Se obtuvo un recuento entre 7,70 y 8,07 log UFC/g en la pre mezcla 1, y las poblaciones de mohos y levaduras se redujeron después del tratamiento con sorbato de potasio 0.1% a un mínimo de 7,42 log UFC/g (0,6 unidades logarítmicas), debido a la acción del sorbato para inhibir el crecimiento microbiano alterando la función de la membrana celular de los microorganismos (**Davidson, Critzer, & Taylor, 2013**). Otros estudios en productos de panadería han revelado un efecto inhibitor de 1110 UFC/g a 520 UFC/g (**Flores, 2010**). Sin embargo en la pre mezcla 2 tuvo mayor eficacia con un mínimo de 6,71 log UCF/g en el tratamiento P2SO (pre mezcla 2 con sorbato de potasio 0,1%) debido a que la actividad antimicrobiana del sorbato se incrementa conforme la  $a_w$  se reduce, esto hace que los microorganismos presenten mayor sensibilidad a este conservante (**Garcia, 2005**). Por otra parte, no hubo diferencias evidentes con los tratamientos con propionato de calcio, dado que tiene efectividad contra hongos pero contra levaduras su acción es mínima (**Badui D, 2016**). Se encontraron niveles más altos de mohos y levaduras en la pre mezcla 1 debido a que el contenido de humedad es mayor (12,16 a 13,47%), pues el alto contenido de humedad favorece el medio para el desarrollo de mohos y levaduras (**Álava, Bravo, Zambrano, Zambrano, & Loor, 2017**), y tienen mayor habilidad para crecer en medios ácidos (**Alzamora, Guerrero, Nieto, & Vidales, 2004**). Por otro lado en las harinas aunque la actividad de agua en la harina es baja, las variaciones de humedad de 1% o 2% son suficientes para el desarrollo microbiano (**Eyles & Hocking, 1989**). Por otro lado se observó que los valores de recuento de mohos superaron el límite máximo permitido por la **NTE INEN 0616 (2006)** en harina de trigo (500 UFC/g).

En lo que respecta a *Staphylococcus aureus* (Figura 7.B), se detectó el crecimiento en todas las muestras, con diferencia significativa entre los días 30 y 60. Los tratamientos P1SO y P1PR redujeron 0,51 y 0,38 unidades logarítmicas respectivamente en relación al control; sin embargo, **Santiesteban (2002)** señala que el efecto de otros antimicrobianos (timol, carvacrol) son más efectivos que el sorbato de potasio contra *S. aureus*. La presencia de este microorganismo presumiblemente se debe a la inadecuada manipulación de los tubérculos al momento de elaborar la harina y condiciones higiénicas poco favorables (**Blanco, Casadiego, & Pacheco, 2011**).

En cuanto a Enterobacterias en la Figura 7.C se observa que hubo diferencia significativa respecto a los días de evaluación y se observó un comportamiento ascendente máximo al día 90 con un valor de 5,36 log UFC/g y 5,81 log UFC/g en la pre mezcla 1 y 2 respectivamente. En la pre mezcla 1 la población microbiana del tratamiento P1SO descendió 0,1 unidades logarítmicas en comparación con los demás tratamientos. **Fariñas and Martínez (2013)** menciona que la presencia de la familia de las enterobacterias se debe principalmente a la contaminación a través del agua o suelo. Por otra parte, el más alto recuento de aerobios mesófilos fue de 7,33 log UFC/g y para aerobios termófilos 4,35 log UFC/g, sin embargo superan el límite máximo aceptable ( $100 \times 10^3$  UFC/g) especificada en la **NTE INEN 0616 (2006)**. Otros autores han reportado valores de  $10^5$  y  $10^2$  UFC/g en aerobios mesófilos y 10 UFC/g termófilos en harina de trigo (Berghofer et al., 2003). Finalmente, no se detectó *Salmonella spp.* en ninguna de las muestras de harina de tubérculos, de manera similar no se han detectado en harina de trigo evaluados de 7 lugares diferentes (**Aydin et al., 2009**). Del mismo modo se evidenció ausencia de *Bacillus cereus*.

### **3.5 Verificación de la hipótesis**

#### **Hipótesis nula (H<sub>0</sub>)**

H<sub>0</sub>: El uso de conservantes (propionato de calcio y sorbato de potasio) en premezclas farináceas y los días de evaluación, no influyen en las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, humedad, color) y microbiológicas.

#### **Hipótesis alternativa (H<sub>a</sub>)**

H<sub>1</sub>: El uso de conservantes (propionato de calcio y sorbato de potasio) en premezclas farináceas y días de evaluación influyen en las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, humedad, color) y microbiológicas.

Se acepta la hipótesis alternativa, es decir; el uso el uso de conservantes (propionato de calcio y sorbato de potasio) en premezclas farináceas, influyen en el descenso de pH, así como también en las variaciones de acidez y humedad en los días de evaluación. A su vez la adición de los conservantes a la harina mejora la calidad microbiológica de esta.

## CONCLUSIONES

- El uso de sorbato de potasio fue más efectivo para ser utilizado en las pre mezclas farináceas principalmente como inhibidor contra mohos y levaduras con una reducción de 0,6 unidades logarítmicas, mientras que la acción del propionato de calcio fue menor contra las levaduras. Sin embargo, el sorbato de potasio y propionato de calcio tienen menor grado de efectividad contra enterobacterias y *Staphylococcus aureus*.
- La aplicación de conservantes permitió evidenciar el efecto del sorbato de potasio y propionato de calcio sobre el crecimiento microbiano durante 90 días de almacenamiento, esto permitió identificar como mejor conservante la acción del sorbato de potasio respecto a los demás tratamientos.
- Se evaluó la calidad microbiológica en dos tipos pre mezclas de harinas de tubérculos (camote, achira, mashua, oca), en donde se evidenció la presencia de mohos y levaduras con mayor recuento en la pre mezcla 1, debido a que este tipo de harina presenta mayor humedad el cual favorece el desarrollo de este tipo de microorganismos. Se detectó *Staphylococcus aureus* pudiendo deberse al contenido de nutrientes que tienen las harinas de tubérculos necesarios para el desarrollo de estas bacterias, además las harinas presentaron enterobacterias, aerobios mesófilos y termófilos, con ausencia de *Salmonella spp.*, y *Bacillus cereus*.
- El pH mostró un ligero descenso en los tratamientos que contienen el sorbato de potasio y propionato de calcio, esto permitió inhibir el desarrollo de microorganismos especialmente mohos y levaduras; sin embargo, a partir de día 60 estos conservantes pierden efectividad. Por otro lado, se infiere que la adición de sorbato y propionato de calcio no influye en el color de las pre mezclas de harinas. El tiempo de vida útil de estas harinas en función de los parámetros fisicoquímicos en relación a la harina de trigo difieren en su normativa, sin embargo, se logró reducir la carga microbiana al aplicar el tratamiento con sorbato de potasio.

## BIBLIOGRAFÍA

- AOAC. (2012). *AOAC Official Methods of Analysis. Association of Official Agricultural Chemist*. Washington, DE.C. USA
- Acero, E. (2006). *Nayarit: reforma y desarrollo*. México: Ilustrada.
- Álava, L., Bravo, B., Zambrano, J., Zambrano, D., & Loor, R. (2017). Caracterización física y microbiológica del almidón de yuca (*Manihot esculenta* Crantz) producido en Canuto-Manabí (Ecuador). *Avances en Investigacion Agropecuaria*, 21(2).
- Alzamora, S., Guerrero, S., Nieto, A., & Vidales, S. (2004). Conservación de frutas y hortalizas mediante tecnologías combinadas. Roma, Italia.
- Allaert, C., & Escolá, M. (2002). *Métodos de análisis microbiológicos de los alimentos*: Ediciones Díaz de Santos.
- Ammar, M., Hegazy, A., & Bedeir, S. (2009). Using of taro flour as partial substitute of wheat flour in bread making. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 4(2), 94-99.
- Ayala, G. (2004). Aporte de los cultivos andinos a la nutrición humana. *Seminario, J. et al.(Edts). Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento ya la capacitación*, 101-112.
- Aydin, A., Paulsen, P., & Smulders, F. (2009). The physico-chemical and microbiological properties of wheat flour in Thrace *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 101-112.
- Badui D, S. (2016). *Química de los alimentos*: México, Pearson Educación.
- Berghofer, L., Hocking, A., Miskelly, D., & Jansson, E. (2003). Microbiology of wheat and flour milling in Australia. *International Journal of Food Microbiology*, 85(1), 137-149. doi: [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(02\)00507-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00507-X)

- Bernabé, Y., & Cancho, M. (2017). *Caracterización fisicoquímica, fitoquímica y funcional de la harina de Khaya y Oca (Oxalis tuberosa) para uso industrial*. Universidad Nacional del Centro del Perú, Huancayo - Perú.
- Blanco, F., Casadiego, G., & Pacheco, P. (2011). Calidad microbiológica de alimentos remitidos a un laboratorio de salud pública en el año 2009. *Revista de Salud Pública, 13*, 953-965.
- Bonete, M., Urquiza, C., Guevara, R., & Yáñez, P. (2016). Estudio de cuatro tubérculos y raíces tuberosas no tradicionales de la sierra centro de Ecuador y su potencial de uso en platos de autor. *Qualitas, 12*, 37-67.
- Bullerman, L., & Bianchini, A. (2009). Food safety issues and the microbiology of cereals and cereal products. *Microbiologically safe foods, 315*.
- Canimolt. (2014). Definición de la harina de trigo. *Cámara Nacional de la Industria Molinera del Trigo*. Retrieved from <https://www.canimolt.org/definicion/>
- Cardoso, F., Ramirez, D., & Piler, C. (2014). Propiedades reológicas y de adsorción de agua de harina extrudida de arroz y bagazo de cebada. *Revista Ceres, 61*(3), 313-322.
- César, D. (2000). Micotoxicosis. *Instituto Plan Agropecuario. Publicado en la Revista del Plan Agropecuario, Uruguay, 46*, 50.
- CFNP. (2002). Potassium Sorbate. Retrieved from <https://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/P%20Sor%20technical%20advisory%20panel%20report.pdf>
- CIP. (2009). Cultivo de los Incas. Tubérculos. *Centro Internacional de la papa*. Retrieved from [http://www.peruecologico.com.pe/tub\\_mashua.htm](http://www.peruecologico.com.pe/tub_mashua.htm)
- CODEX. (1995). Norma general para aditivos alimentarios. *Codex Alimentarius, 1-507*.



- Chafra, A. (2014). *Utilización de tres niveles de harina de Achira (Canna edulis) en la alimentación de pollos Broiler*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba - Ecuador.
- Davidson, P. M., Critzer, F. J., & Taylor, T. M. (2013). Naturally occurring antimicrobials for minimally processed foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 4, 163-190.
- Duarte, E., Corrales, Y., & Cano, Z. (2017). *Elaboración de harina de fruta de pan (Artocarpus Altilis), aplicando métodos de conservación como alternativa de desarrollo agroindustrial, en la región atlántica de Nicaragua (RACCS-RACCN), en el periodo de agosto 2016-septiembre 2017*. Universidad Autónoma de Nicaragua, Nicaragua.
- Eglezos, S. (2010). Microbiological quality of wheat grain and flour from two mills in Queensland, Australia. *Journal of food protection*, 73(8), 1533-1536.
- Espín, S., Villacrés, E., & Brito, B. (2004). Caracterización físico-química, nutricional y funcional de raíces y tubérculos andinos.
- Eyles, M., & Hocking, A. (1989). The microbiological status of Australian flour and the effects of milling procedures on the microflora of wheat and flour.
- Fariás, R. F., Bustos, F. M., Moreno, Y. S., & Ríos, E. (2002). Caracterización de harinas comerciales de maíz nixtamalizado. *Agrociencia*, 36(5), 557-567.
- Fariñas, M., & Martínez, L. (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 31(6), 402-409.
- Flores, M. (2010). *Efecto de un conservante (Sorbato de potasio) y un mejorador (Carboximetilcelulosa) sobre las características sensoriales y en la vida de anaquel de las empanadas de viento (pasteles) elaboradas en la planta artesanal taty*. Universidad Técnica de Ambato, Ambato - Ecuador.

- García, R. (2005). *Agentes bactericidas/bacteriostáticos a partir de sorbato de potasio, carvacrol y timol*. (Maestría), Universidad de las Américas Puebla., México.
- García, Y., Zamudio, P., Bello, L., Romero, C., & Solorza, J. (2011). Oxidación del almidón nativo de plátano para su uso potencial en la fabricación de materiales de empaque biodegradables: caracterización física, química, térmica y morfológica. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 12(3), 125-135.
- Gould, G. W. (1996). Methods for preservation and extension of shelf life. *International journal of food microbiology*, 33(1), 51-64.
- Guerra, A. (2014). *Estudio de la utilización de la harina de mashua (Tropaeolum tuberosum) en la obtención del pan de molde*. Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito - Ecuador.
- Guynot, M., Ramos, A., Sanchis, V., & Marin, S. (2005). Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5). *International journal of food microbiology*, 101(2), 161-168.
- Huilcapi, I. (2015). *Incidencia de la harina de camote "Ipomea Batatas" en la elaboración de un producto de panificación*. (Tesis de grado), Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba - Ecuador.
- Jay, J. M. (2012). *Modern Food Microbiology*: Springer US.
- Lalaleo, D. (2017). *Caracterización reológica de suspensiones elaboradas a partir de harina y residuos de banano de rechazo*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos, Ambato-Ecuador.
- Li, M., Zhu, K., Wang, B., Guo, X., Peng, W., & Zhou, H. (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.

- Linares, E., Bye, R., Ramírez, D., & Pereda, R. (2008). El camote. *CONABIO*, 81, 11-15.
- Marín, S., Guynot, M., Neira, P., Bernado, M., Sanchis, V., & Ramos, A. (2002). Risk assessment of the use of sub-optimal levels of weak-acid preservatives in the control of mould growth on bakery products. *International journal of food microbiology*, 79(3), 203-211.
- Medina, G. (2009). *Harinas*. Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia.
- Mejía, L. F., & Ríos, B. N. (2008). Sustitución de propionato de calcio en pan por extracto de romero (*Rosmarinus officinalis* L.). *Vector*, 51-57.
- Mesas, J., & Alegre, M. (2002). El pan y su proceso de elaboración. *CYTA-Journal of Food*, 3(5), 307-313.
- Mosquera, D. (2015). *Estudio de la obtención de la harina de oca blanca (oxalis tuberosa) y su aplicación en la elaboración de pan de molde por sustitución parcial de la harina de trigo*. (Tesis de grado), Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito - Ecuador.
- NTE INEN 526. (2013). Harinas de origen vegetal. Determinación de la concentración de ión de hidrógeno o pH.
- NTE INEN 0616. (2006). Harina de trigo. Requisitos.
- Ocaña, I. (2019). *Caracterización fisicoquímica, nutricional y reológica de cultivos andinos infrautilizados*. (Tesis de grado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato - Ecuador.
- Palate, J. (2013). *Estudio del efecto de la temperatura y el tiempo en las características físico-químicas y sensoriales de la oca (Oxalis tuberosa) durante su maduración*. (Tesis de grado), Universidad Técnica de Ambato, Ambato-Ecuador.
- Paucar, S. (2014). *Composición química y capacidad antioxidante de dos variedades mashua (tropaolum tuberosum): amarilla chaucaha y zapallo*. (Tesis de

grado), Universidad Tecnológica Equinoccial. Facultad: Ciencias De La Ingeniería Quito - Ecuador.

Perez, H. (2017). *Elaboración de una premezcla para pan de orégano.*, Universidad Galileo, Guatemala.

Pérez, Y., Mayra, B., Pérez, I., Quintero, S., & Vargas, J. (2017). Caracterización y potencial uso de la raíz achira (*Canna Edulis Ker*). *Vía innova*(4), 89-97.

Pires, M. B. (2013). *Harina de lombriz: una alternativa saludable para nuestra alimentación.* Universidad de la fraternidad de agrupaciones Santo Tomás de Aquino, Buenos Aires - Argentina.

Prado, S., Franco, A., Souza, L., Oliveira, M., & Correia, M. (2005). Contaminação por matérias estranhas e microrganismos em farináceos comercializados em Ribeirão Preto, SP. *Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)*, 64(2), 237-244.

Ray, B., & Bhunia, A. (2007). *Fundamental Food Microbiology*: CRC Press.

Sabillón, L., & Bianchini, A. (2016). From Field to Table: A Review on the Microbiological Quality and Safety of Wheat- Based Products. *Cereal Chemistry*, 93(2), 105-115.

Santiesteban, L. (2002). *Agentes antibacterianos de amplio espectro a partir de mezclas de antimicrobianos sintéticos y naturales.* (Tesis maestría), Universidad de las Américas, Puebla.

Sauceda, E. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai: revista científica de sociedad, cultura y desarrollo sostenible*, 7(1), 153-170.

Surco, F. A. (2004). *Caracterización de almidones aislados de tubérculos andinos: mashua (*Tropaeolum tuberosum*), oca (*Oxalis tuberosa*), olluco (*Ullucus tuberosus*) para su aplicación tecnológica.* (Tesis magistral), Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.

- Tajkarimi, M., Ibrahim, S. A., & Cliver, D. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food control*, 21(9), 1199-1218.
- Torres, M. (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, Riobamba - Ecuador.
- Tortora, G., Funke, B., & Case, C. (2007). *Introducción a la microbiología: Medica Panamericana S. A.*
- UNSTA. (2015). Análisis de harinas y productos de panadería. Retrieved from <http://www.unsta.edu.ar/wp-content/uploads/2015/07/Harina-2015.pdf>

# ANEXOS

## ANEXO A. DISTRIBUCIÓN DE LOS EXPERIMENTOS

**Tabla A. 1** Combinaciones experimentales

Combinaciones	
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub> Premezcla1; sin conservante; Día 5	a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> c <sub>0</sub> Premezcla2; sin conservante; Día 5
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub> Premezcla1; sin conservante; Día 30	a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> c <sub>1</sub> Premezcla2; sin conservante; Día 30
a <sub>0</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub> Premezcla1; sin conservante; Día 60	a <sub>2</sub> b <sub>0</sub> c <sub>2</sub> Premezcla2; sin conservante; Día 60
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub> Premezcla1; sin conservante; Día 90	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub> Premezcla2; sin conservante; Día 90
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub> Premezcla1; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 5	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>0</sub> Premezcla2; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 5
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub> Premezcla1; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 30	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>1</sub> Premezcla2; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 30
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub> Premezcla1; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 60	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>2</sub> Premezcla2; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 60
a <sub>0</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub> Premezcla1; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 90	a <sub>2</sub> b <sub>1</sub> c <sub>3</sub> Premezcla2; sorbato 0.1% y propionato 0.2%; Día 90
a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> c <sub>0</sub> Premezcla1; sorbato 0.1%; Día 5	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>0</sub> Premezcla2; sorbato 0.1%; Día 5
a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub> Premezcla1; sorbato 0.1%; Día 30	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>1</sub> Premezcla2; sorbato 0.1%; Día 30
a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub> Premezcla1; sorbato 0.1%; Día 60	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>2</sub> Premezcla2; sorbato 0.1%; Día 60
a <sub>0</sub> b <sub>2</sub> c <sub>3</sub> Premezcla1; sorbato 0.1%; Día 90	a <sub>2</sub> b <sub>2</sub> c <sub>3</sub> Premezcla2; sorbato 0.1%; Día 90
a <sub>0</sub> b <sub>3</sub> c <sub>0</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 5	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub> c <sub>0</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 5
a <sub>0</sub> b <sub>3</sub> c <sub>1</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 30	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub> c <sub>1</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 60
a <sub>0</sub> b <sub>3</sub> c <sub>2</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 60	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub> c <sub>2</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 60
a <sub>0</sub> b <sub>3</sub> c <sub>3</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 90	a <sub>2</sub> b <sub>3</sub> c <sub>3</sub> Premezcla1; propionato 0.2%; Día 90

## ANEXO B. PREPARACIÓN DE LAS PRE MEZCLAS DE HARINAS



**Figura B. 1** Tubérculos troceados para la elaboración de harinas



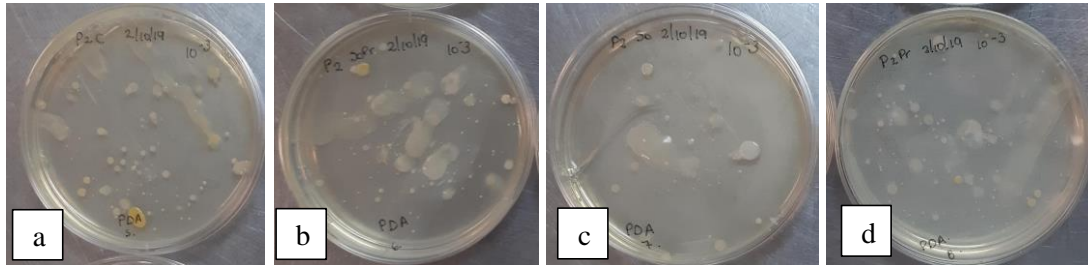
**Figura B. 2** Harinas de tubérculos de camote, oca, mashua, achira



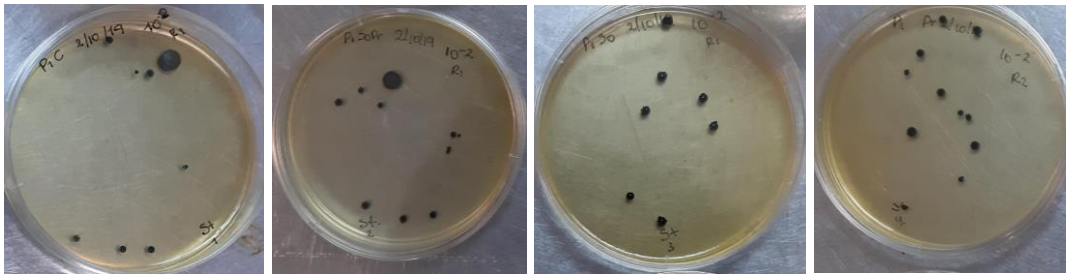
**Figura B. 3** Almacenamiento de las pre mezclas de harinas con tratamientos con conservantes



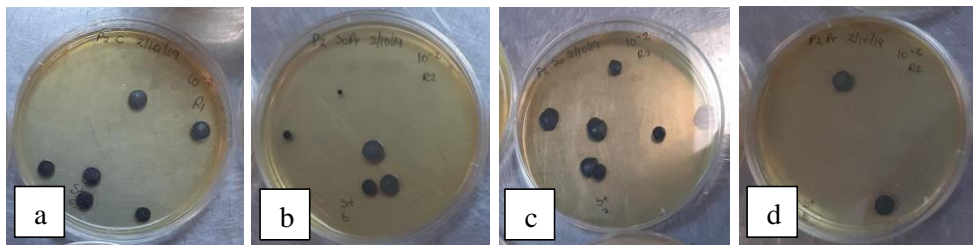
## ANEXO C. ACCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS CON CONSERVANTES FRENTE A LOS MICROORGANISMOS



**Figura C. 1** Mohos y levaduras en la pre mezcla 2 (oca, mashua, achira) **a)** control **b)** con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% **c)** con sorbato de potasio 0.1% **d)** con propionato de calcio 0.2%



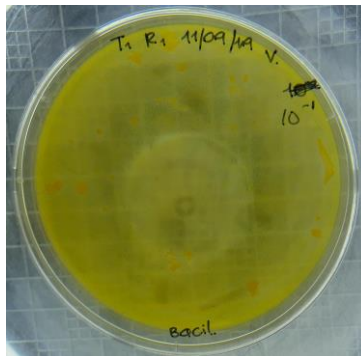
**Figura C. 2** *Staphylococcus aureus* en la pre mezcla 1 (oca, mashua, achira) **a)** control **b)** con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% **c)** con sorbato de potasio 0.1% **d)** con propionato de calcio 0.2%



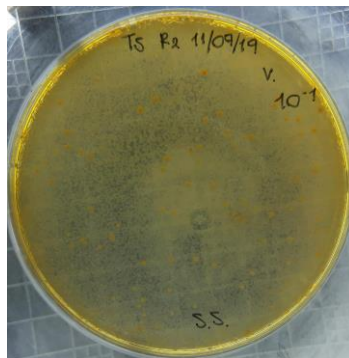
**Figura C. 3** *Staphylococcus aureus* en la pre mezcla 2 (camote, mashua, achira) **a)** control **b)** con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio 0.2% **c)** con sorbato de potasio 0.1% **d)** con propionato de calcio 0.2%



**Figura C. 4** Enterobacterias en la pre mezcla 2 (camote, mashua, achira) con sorbato de potasio 0.1% y propionato de calcio



**Figura C. 5** *Bacillus cereus* en la pre mezcla 1 (camote, mashua, achira) control



**Figura C. 6** *Salmonella spp.* en la pre mezcla 2 (oca, mashua, achira) control