

**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**EVALUACIÓN DEL PROCESO DE OZONIFICACIÓN PARA LA REDUCCIÓN DE  
LOS MICROORGANISMOS INDICADORES DE INOCUIDAD EN QUINUA**  
*Chenopodium quinoa* WILLD. PARA EXPORTACIÓN

**SHEYLA LUCIA BAYGORREA PEREZ**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Asesor: Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña

Lima, Perú

2019



**UNIVERSIDAD RICARDO PALMA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



**EVALUACIÓN DEL PROCESO DE OZONIFICACIÓN PARA LA REDUCCIÓN DE  
LOS MICROORGANISMOS INDICADORES DE INOCUIDAD EN QUINUA**  
*Chenopodium quinoa* WILLD. PARA EXPORTACIÓN

**SHEYLA LUCIA BAYGORREA PEREZ**

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Asesor: Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña

Lima, Perú

2019

## **DEDICATORIA**

A mis padres, porque me han enseñado que rendirse no es una opción ante las dificultades que se pueda presentar y recordarme siempre que la perseverancia y el sacrificio son la clave para tener éxito en la vida, con mucho amor esto es para ustedes.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por darme la vida y la oportunidad de culminar una etapa de mi vida profesional.

A la Universidad Ricardo Palma, mi alma mater, por albergarme los años de pregrado, por prepararme para ser una profesional competente en la sociedad y, sobre todo, por permitirme conocer personas maravillosas.

A mi asesor de tesis, Mg. Juan Carlos Ramos Gorbeña, por su amistad, su paciencia, sus enseñanzas y todo el apoyo que me ha brindado desde el primer día

A mis padres y cada miembro de mi familia, por toda la confianza que siempre han depositado en mí.

A mi novio, por siempre motivarme a ser mejor, gracias por cada palabra de aliento y por tu apoyo incondicional.

A todas las personas de V.A. sin excepción, muchas gracias.

# ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCION	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
4. OBJETIVOS	5
4.1 Objetivo General	5
4.2 Objetivos Específicos	5
5. MARCO TEÓRICO	6
5.1 Quinoa	6
5.1.1 Historia de la Quinoa	6
5.1.2 Posición Taxonómica	7
5.1.3 Descripción Botánica	8
5.1.4 Valor Nutricional	9
5.2 Producción Nacional	9
5.3 Exportación de Quinoa	12
5.4 Producción de Granos de Quinoa para Exportación	13
5.5 Tecnología para mejorar inocuidad de alimentos	14
5.6 Requisitos para exportación de quinoa	15
6. ANTECEDENTES	16
7. HIPÓTESIS	25
8. MATERIALES Y METODOLOGÍA	25
8.1 Lugar de ejecución	25
8.2 Tipo y diseño de investigación	25
8.3 Variables	26
8.4 Operacionalización de las variables	26
8.5 Muestreo	27

8.6 Procedimiento y análisis de datos	28
8.6.1 Recolección de la muestra	28
8.6.2 Determinación de reducción de microorganismos	28
5.6.2.1 Determinación de Aerobios Mesofilos Totales	28
5.6.2.2 Determinación de Mohos y Levaduras	29
5.6.2.3 Determinación de Coliformes Totales y <i>Escherichia coli</i>	30
8.6.3 Comparación de la cantidad de microorganismos indicadores en diferentes tiempos de ozonificación	31
8.6.4 Análisis de datos	32
9. RESULTADOS	33
10. DISCUSIÓN	38
11. CONCLUSIONES	41
12. RECOMENDACIONES	43
13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
14 ANEXOS	49
ANEXO 1	50
Evolución de las exportaciones del producto quinua según sus principales mercados 2005-2017	50
ANEXO 2	52
Resultados estadísticos	52
ANEXO 3	56
Quinua destinada para exportación	56
ANEXO 4	58
Recuento de microorganismos indicadores de calidad en quinua para exportación	58

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Operacionalización de las Variables	26
Tabla 2: Datos de la media y Log UFC/g con respecto al tiempo de exposición de ozono	31
Tabla 3: Medias aritmética de cada microorganismo en relación a su tiempo de contacto con el ozono	33
Tabla 4: Reducción de microorganismos representado en Log UFC/g con respecto al tiempo de contacto con ozono.	37
Tabla 5: Exportación de quinua ( <i>Chenopodium quinoa</i> ) durante los años 2006-2017	50

## INDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1:</i> Ilustración de la planta de quinua según la cultura Tiahuanaco.	7
<i>Figura 2:</i> Planta de quinua <i>Chenopodium quinoa</i> en campo de cosecha	8
<i>Figura 3:</i> Producción nacional de quinua 2000-2017	10
<i>Figura 4:</i> Mapa de distribución de producción de quinua a nivel nacional	11
<i>Figura 5:</i> Exportaciones de quinua según sus principales mercados en el 2017	12
<i>Figura 6:</i> Reducción del recuento de Aerobios Mesofilos Totales durante toda la etapa de producción	34
<i>Figura 7:</i> Reducción del recuento de Coliformes Totales durante toda la etapa de producción	35
<i>Figura 8:</i> Reducción del recuento de Mohos durante toda la etapa de producción	36
<i>Figura 9:</i> Reducción del recuento de Levaduras durante toda la etapa de producción	36
<i>Figura 10</i> Diferencia de reducción entre los tiempos de contacto utilizado para ozonificar	37
<i>Figura 11</i> Quinua negra para exportación	56
<i>Figura 12</i> Quinua roja para exportación	56
<i>Figura 13</i> Quinua blanca para exportación	57
<i>Figura 14.</i> Recuento de Aerobios Mesofilos Totales en la etapa de Materia Prima	58
<i>Figura 15.</i> Recuento de Aerobios Mesofilos Totales en la etapa de Secado	58

<i>Figura 16.</i> Recuento de Aerobios Mesofilos Totales en la etapa ozono minutos	59
<i>Figura 17.</i> Recuento de Aerobios Mesofilos Totales en la etapa ozono 30 minutos	59
<i>Figura 18.</i> Recuento de Mohos y Levaduras en la etapa de Materia Prima	60
<i>Figura 19.</i> Recuento de Mohos y Levaduras en la etapa de Secado	60
<i>Figura 20.</i> Recuento de Mohos y Levaduras en la etapa de Ozono 15 minutos	61
<i>Figura 21.</i> Recuento de Mohos y Levaduras en la etapa de Ozono 30 minutos	61
<i>Figura 22.</i> Recuento de Coliformes Totales y <i>Escherichia coli</i> en la etapa de Materia	62
<i>Figura 23.</i> Recuento de Coliformes Totales y <i>Escherichia coli</i> en la etapa de Secado	62
<i>Figura 24.</i> Recuento de Coliformes Totales y <i>Escherichia coli</i> en la etapa de Ozono 15 minutos	63
<i>Figura 25.</i> Recuento de Coliformes Totales y <i>Escherichia coli</i> en la etapa de Ozono 30 minutos	63

## Resumen

La aplicación del gas de ozono es una tecnología que se viene aplicando debido a sus propiedades para mejorar y conservar los alimentos; siendo una de sus principales propiedades su actividad bactericida. Es por ello, que este estudio tuvo como finalidad la evaluación del proceso de ozonificación para reducción los microorganismos indicadores de inocuidad en quinua para exportación. Se evaluó la carga microbiana en cada una de las diferentes etapas del proceso de producción de granos de quinua para exportación: Materia prima, al finalizar la etapa de secado, posterior a la etapa de ozonificación teniendo en cuenta que se aplicó 2 tiempos de contacto diferentes: 15 min y 30 min. Se utilizó la metodología AOAC para realizar el análisis microbiológico y poder verificar la reducción de los microorganismos de Aerobios Mesofilos Totales, Mohos, Levaduras, *E. coli* y Coliformes. Los resultados mostraron la ausencia de *E. coli* en todas las etapas del proceso; con respecto al resto de microorganismos, pudimos observar que a los 15 minutos de exposición al ozono hubo reducción de 0.42 Log UFC/g para Aerobios Mesofilos Totales; Coliformes Totales redujo un 0.79 Log UFC/g; Mohos redujo 0.4 Log UFC/g y Levaduras redujo 0.61 Log UFC/g. Mientras que a los 30 minutos de exposición de ozono la reducción fue casi el doble que lo obtenido a los 15 minutos, demostrando así que el efecto del ozono sobre el producto genera una reducción de carga microbiana, siendo esta directamente proporcional al tiempo de exposición que se le ponga.

Palabras Clave: Ozono, Quinua, inocuidad, bactericida.

## **Abstract**

The application of ozone in gas is a technology that has been applied due to its properties to improve and preserve food; being one of its main properties its bactericidal activity. For this reason, this study had the modification of the evaluation of the ozonification process for the reduction of the microorganisms that indicate safety in quinoa for export. The microbial load was evaluated in each of the different stages of the quinoa grain production process for exports: Raw material, at the end of the drying stage, after the ozonation stage taking into account that 2 different contact times were applied: 15 min and 30 min. The AOAC methodology was used to perform the microbiological analysis and to verify the reduction of the microorganisms of Total Mesophilic Aerobes, Molds, Yeasts, E. coli and Coliforms. The results of the absence of E. coli at all stages of the process; With respect to the rest of microorganisms, we were able to observe the 15 minutes of exposure to ozone. There was a reduction of 0.42 Log CFU/g for Total Mesophilic Aerobes; Total Coliforms reduced to 0.79 Log CFU/g; Molds reduced 0.4 Log CFU/g and Yeasts reduced 0.61 Log CFU/g. While at 30 minutes of ozone exposure the reduction was almost double that obtained at 15 minutes, thus demonstrating the effect of ozone on the product generates a reduction of microbial load, being directly proportional to the exposure time.

Key words: Ozone, quinoa, safety, bactericide.

## 1. INTRODUCCIÓN

La seguridad alimentaria “a nivel de individuo, hogar, nación y global, se consigue cuando todas las personas, en todo momento, tienen acceso físico y económico a suficiente alimento, seguro y nutritivo, para satisfacer sus necesidades alimenticias y sus preferencias, con el objeto de llevar una vida activa y sana” (FAO, 1996), posteriormente se cambió el concepto a “el derecho de toda persona a tener acceso a alimentos sanos y nutritivos, en consonancia con el derecho a una alimentación apropiada y con el derecho fundamental de toda persona a no padecer hambre.” (FAO, 2006)

Es por ello que muchos países buscan productos alimentarios de alto valor nutricional, tal es el ejemplo de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), grano andino que se viene cosechando desde tiempos memorables. Esos granos se caracterizan ser considerado como el alimento que en el futuro el cual podría salvarnos de la hambruna, ya que estudios nutricionales demuestran que presentar los aminoácidos esenciales y un alto contenido proteico siendo similar al consumo de alimentos de origen animal.

En vista a las propiedades nutricionales de estos pseudocereales, países extranjeros se han visto interesados en la compra de este producto; alcanzando su auge en el año 2013. Es ahí donde se incrementa la producción destinada a exportación de la quinua en grano, previo cumplimiento de los estándares de calidad e inocuidad según la legislación del país origen y destino. Esto con la finalidad de evitar alguna enfermedad transmitida por alimentos (ETA). En el Perú, gran parte de la producción de quinua se da en las zonas rurales, donde los productores tienen poco conocimiento sobre normas, tecnología y cuidado al momento de sembrar, cosechar

y almacenar los granos de quinua para la posterior venta. Son pocos los casos donde los mismos agricultores tienen trato directo con las agroexportadoras y están aptamente capacitados con las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) para obtener un mejor producto de calidad desde materia prima, pero lamentablemente la mayoría de veces estos productores son contactados por personas acopiadoras quienes hacen la compra de pequeños sub lotes para venderlas como un lote general a alguna empresa exportadora y casi nunca enseñan al productor la forma correcta para llevar desde la siembra hasta la cosecha el producto. Por ello en el caso de la compra a acopiadores, no obtenemos un producto homogéneo con respecto a calidad y muchas veces por la falta de cuidado es donde se observan problemas de inocuidad, ya que porque todos manejan un sistema de cuidado al producto y esto se ve manifestado cuando se realiza los análisis respectivos en un laboratorio. Es por ello que hoy en día se busca aplicar nuevas tecnologías para poder cumplir con los parámetros solicitados por las normativas o por la misma exigencia de los clientes extranjeros. Para alcanzar ello, es importante que dentro de la cadena de producción apliquemos nuevas metodologías que nos permita mejorar la calidad e inocuidad del grano pero que no afecte o altere sus características fisicoquímicas u organolépticas, teniendo un efecto positivo ante la presencia de microorganismos de los granos de quinua; es por ello que una alternativa es el uso del ozono en gas, ya que se caracteriza por ser un antibacteriano efectivo. De esta manera nos ayudaría cumplir con los estándares de inocuidad solicitados por mercados extranjeros exigentes. Por ello en esta investigación se pretende evaluar el proceso de ozonificación para reducir los microorganismos indicadores de inocuidad en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) para exportación.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La mayor parte de agricultores productores de granos de quinua no tienen conocimiento de aplicar correctamente las buenas prácticas agrícolas (BPA), lo que genera que el producto en venta presente una cantidad elevada de microorganismos. En el caso de la quinua en grano es un producto que luego de ser procesado no es de consumo directo, pero no por ello deja de ser un producto que podría causar alguna Enfermedad Transmitida por Alimentos (ETA'S). El mercado extranjero tiene mucho cuidado al respecto, por lo tanto, solicitan en algunos casos que los límites de inocuidad sean muchos menores de lo que establece la Norma Técnica Peruana (NTP).

## **3. JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

Para la exportación de productos como granos andinos, se debe cumplir previamente con ciertos parámetros de calidad e inocuidad, en Perú las agroexportadoras se basan en lo establecido por la Norma Técnica Peruana. Este documento nos brinda ciertos parámetros de calidad e inocuidad para poder considerarlo un producto apto para la venta. Al ser un producto que no es de consumo directo, la quinua en grano destinada a exportación al inicio del proceso pasa por una línea de limpieza en la cual se le quita la gran cantidad de impurezas y microorganismos. La mayoría de agroexportadoras consideran los valores de inocuidad establecidos en la NTP tanto para su materia prima como para el producto terminado, esto se debe a que el producto pasará posteriormente por un proceso de

cocción antes de ser consumido. Son pocas las empresas que estableces límites microbiológicos más bajos a los ya establecidos en la norma técnica debido a la exigencia de algunos clientes extranjeros por su temor a contraer alguna enfermedad transmitida por alimentos (ETA). Es por ello que optan por añadir nueva tecnología dentro del proceso del producto, en este caso la ozonificación del producto ayudaría a mejorar la inocuidad del producto, de tal forma estaríamos cumpliendo con lo requerido por el cliente.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Evaluar el proceso de ozonificación para la reducción de microorganismos indicadores de inocuidad en quinua para exportación.

### 4.2 Objetivos específicos

- Enumerar los microorganismos indicadores (Aerobios Mesofilos Totales, mohos, levaduras, *E. coli* y Coliformes totales) de inocuidad de la materia prima.
- Enumerar los microorganismos indicadores (Aerobios Mesofilos Totales, mohos, levaduras, *E. coli* y Coliformes totales) de inocuidad de los granos de quinua posterior a la etapa de secado.
- Enumerar los microorganismos indicadores (Aerobios Mesofilos Totales, mohos, levaduras, *E. coli* y Coliformes totales) de inocuidad de los granos de quinua en la etapa ozonificación.
- Comparar la cantidad de microorganismos indicadores de inocuidad a diferentes tiempos de ozonificación.

## **5. MARCO TEÓRICO**

### **5.1 Quinua**

Es un pseudocereal andino, calificado a nivel mundial como un “superfoods” gracias a su alto valor nutricional. Caracterizado por ser de crecimiento autóctono de la parte andina de América del Sur, principalmente en los países de Perú, Ecuador y Bolivia, pero no se descarta que con el tiempo se ha ido adaptando su crecimiento en países de América, Europa y Asia.

#### **5.1.1 Historia de la quinua**

Existe evidencia de la presencia de quinua desde épocas precolombinas, en la cultura Tiahuanaco mediante algunos cerámicos donde se puede observar la representación de la planta o el ancestro de lo que hoy conocemos con quinua (Figura 1) y semillas en entierros de altos personajes de la historia. Hay evidencia arqueológica al norte chileno que data del año 3000 a.C., y también en la zona de Ayacucho donde manifiesta la domesticación de la quinua en el año 5000 a.C., se ha encontrado también presencia de semillas o inflorescencia en tumbas de diferentes regiones del Perú, y Chile. En la época del virreinato el primer español en reportar la presencia de esta planta fue Pedro de Valdivia en Concepción, ahora perteneciente al país de Bolivia, y también el Inca Garcilaso de la Vega dentro de las escrituras de Los Comentarios Reales hace mención al primer envío de semillas con dirección a Europa las que llegaron en mal estado posiblemente debido a la alta humedad absorbida durante el viaje. (Mujica 2011)



*Figura 1.* Ilustración de la planta de quinua según la cultura Tiahuanaco.

Fuente: Mujica, 2011

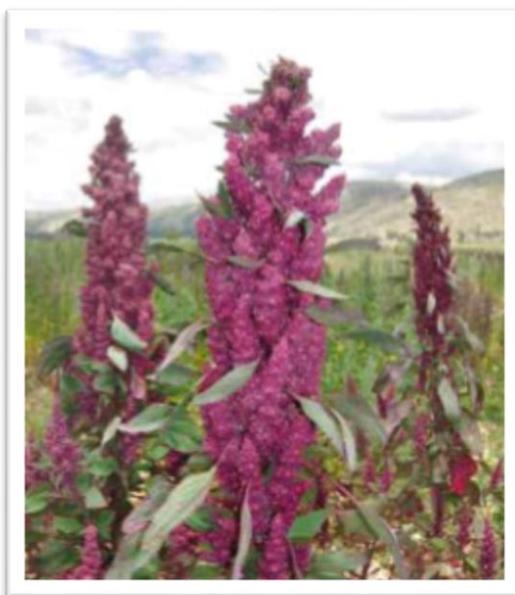
### 5.1.2 Posición taxonómica

La quinua, presenta alrededor de cuatro especies cultivables, entre ella *Chenopodium quinoa* Willd, he aquí su posición taxonómica según Mujica 2011.

- Reino : Vegetal
- División : Fenerógamas
- Clase : Dicotiledoneas
- Sub clase : Angiospermas
- Orden : Centrospermales
- Familia : Chenopodiáceas
- Género : Chenopodium
- Sección : Chenopodia
- Subsección: Cellulata
- Especie : *Chenopodium quinoa* Willdenow.

### 5.1.3 Descripción botánica

Morfológicamente se caracteriza por presentar una raíz pivotante muy ramificada; un tallo principal del cual nacen hojas anchas y de distintas formas, tiene una inflorescencia racimosa donde su flor se caracteriza por ser pequeña y no presentar pétalos, pueden ser hermafrodita, pistiladas o androestériles, el fruto es un aquenio en el cual encontraremos las semillas de esta planta llega a medir aproximadamente 2 mm de diámetro una vez que se encuentra seco (Hernández, 2015) estas pueden ser de diversos colores blanco, amarillo, rojo, purpura, café, o negro. hay que considerar que el altiplano es considerado como su centro de origen de cultivo, domesticación y diversificación de todas las variedades prehispánicas (Fairlie, A. 2016).



*Figura 2.* Planta de quinua (*Chenopodium quinoa*) en campo de cosecha

Fuente: FAO 2016

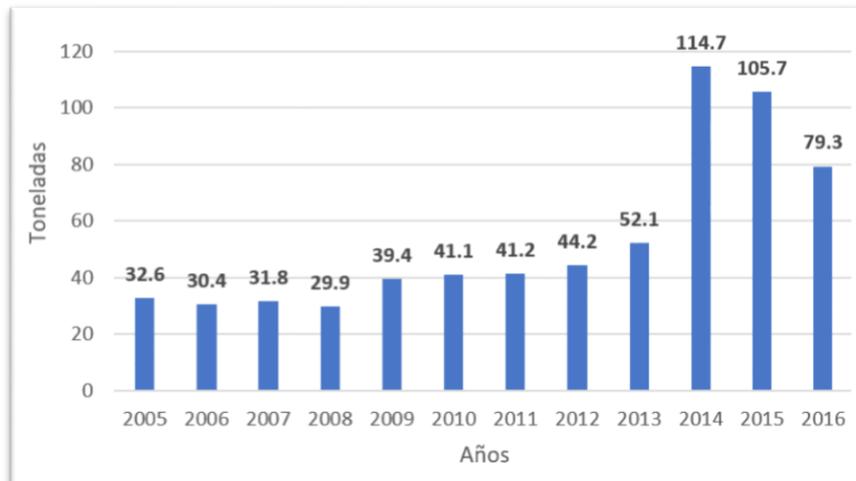
#### **5.1.4 Valor nutricional**

Este grano andino está considerado dentro del grupo de alimentos conocidos como “superfoods” debido a su alto valor nutricional. Su principal característica se basa en ser un alimento rico en aminoácidos, presentando sobre todo los 10 esenciales para el organismo; así también aporta una gran cantidad de proteína debido al porcentaje de lisina que aporta, casi similar a lo que aportan algunos alimentos de origen animal. Algunos análisis realizados demuestran que la quinua presenta valores superiores cuando se refiere al magnesio, fósforo, hierro, zinc, potasio (Hernández, J. 2015) otro aporte nutricional es su alto aporte de fibra dietética total (FDT), actuando como un depurador natural de toxinas y residuos dañinos para el organismo (FAO,2015).

Estudios demuestran que los granos de quinua tienen presencia de cinco ácidos grasos que son de buena calidad para el consumo humano, entre ellos tenemos tres insaturadas (ácido oleico, ácido linolénico y ácido linoleico) y 2 saturadas (ácido palmítico y ácido esteárico) (Rojas, 2016).

#### **5.2 Producción nacional**

En los años 90's, de una superficie de 19 000 a 26 000 Has. se podía obtener una producción de quinua que oscilaba entre los 14 000 – 24 000 TM (FAO, 2016), mientras que a partir del año 2000 este producto obtuvo una revalorización incrementándose su volumen de producción según pasando los años, alcanzando su pico más alto en año 2013 con alrededor de 52 000 TM, la cual se asignaba para un consumo interno, pero en su mayoría destinado a la exportación,



*Figura 3.* Producción Nacional de Quinoa, 2005-2016

Fuente: MINAGRI-DGPA

Durante la época del apogeo de la producción de quinua hasta la fecha actual, varias provincias destacan en su producción. Según el reporte de Ku en 2017, indica que las principales provincias productoras de quinua son: Puno con aproximadamente 36.2 TM; Arequipa: 21.2 TM y Ayacucho: 13.8 TM, etc. Según MINAGRI la quinua orgánica proviene en mayor porcentaje, de la región sierra; mientras que en la región costa el producto básicamente está destinado a ser clasificado como convencional esto debido a que en la región se presenta una mayor cantidad de plagas y se tiene que utilizar producto para combatirlos.

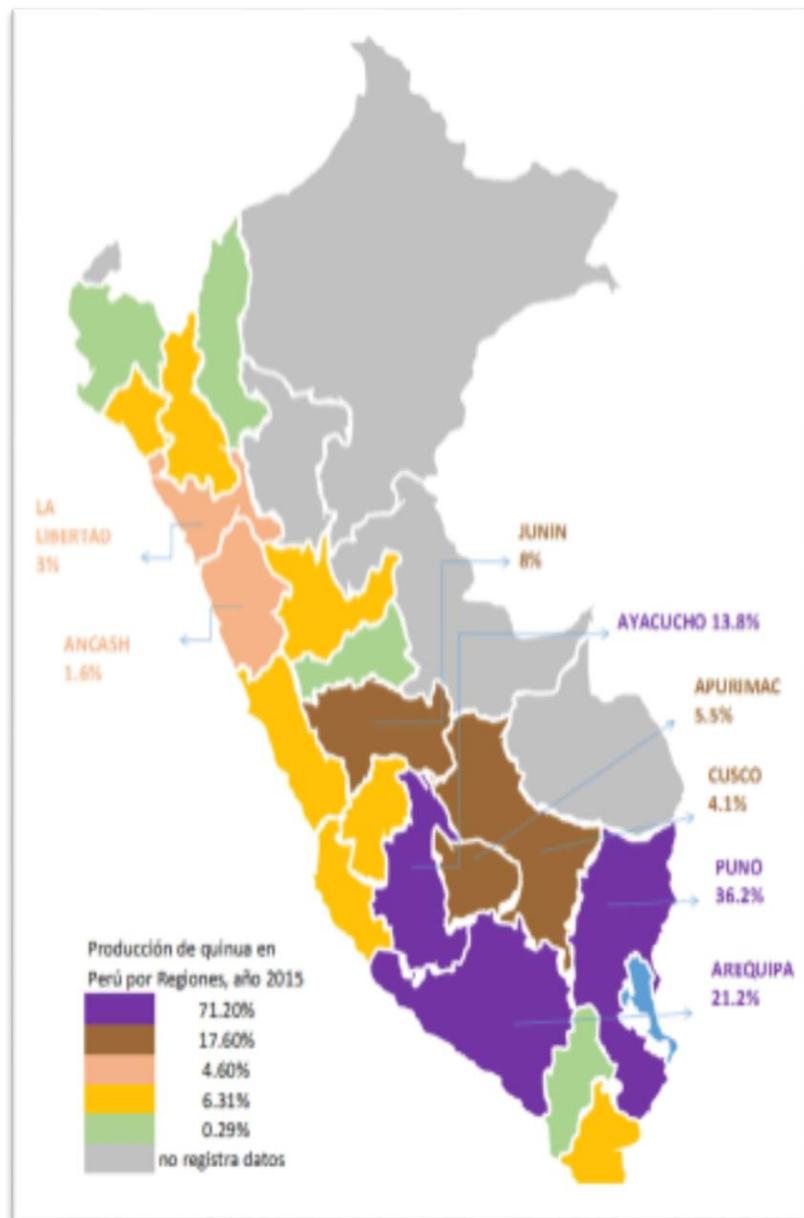


Figura 4. Mapa de distribución de producción de quinua a nivel nacional.

Fuente: Ku, P. 2017

### 5.3 Exportación de quinua

Fairlie (2016) nos indica que entre los años 2005-2013 se empezó a revalorizar el valor nutricional de la quinua, a tal punto que desde esa fecha el Perú y Bolivia se han convertido en los principales países productores y exportadores de este grano andino, llegando a exportar cerca de 97% de la producción mundial. Sin embargo, fue en el año 2006 donde Perú empieza a realizar las exportaciones en mayor volumen convirtiéndose en uno de los primeros países exportadores de quinua, alcanzando las 41,1 mil toneladas exportadas, la cual fue superada en el año 2016 llegando a 44,3 mil toneladas. Nuestros principales mercados son: Estados Unidos y la Unión Europea, sin embargo, los últimos años hemos venido abriéndose mercados en Canadá, Hong Kong, etc.

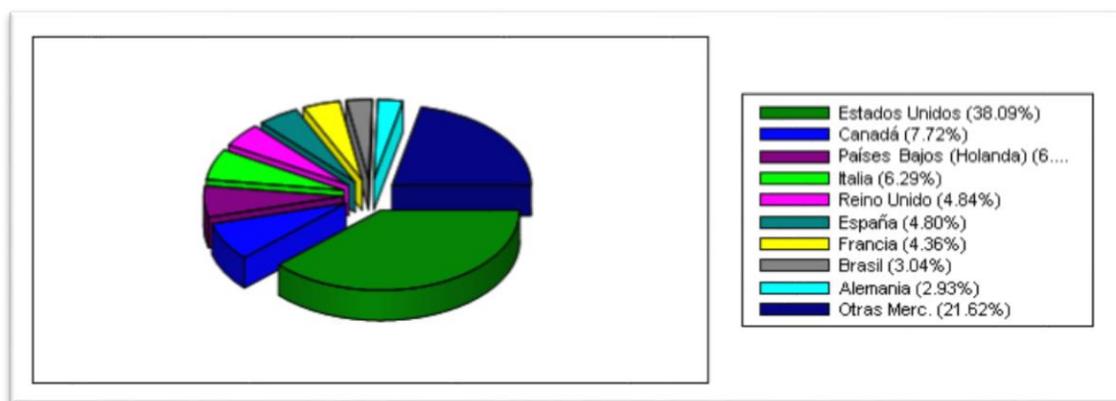


Figura 5. Exportaciones de quinua según sus principales mercados en el 2017

Fuente: PROMPERU

#### 5.4 Producción de granos de quinua para exportación

La mayoría de veces, los granos llegan con cascara, lo que conocemos como grano trillado, es por ello que se necesita muchas veces pasar por diferentes etapas para poder obtener un grano apto para consumo humano. El proceso de producción de la quinua inicia con:

- **Tolva de alimentación:** el producto es echado en una tolva grande, previa aprobación de los parámetros de calidad e inocuidad básicos para iniciar el proceso.
- **Limpieza y selección:** el producto es pasado por un equipo tamiz vibratorio y aire forzado que ayuda a la expulsión de pajas y lo va clasificando por peso.
- **Despedrado:** etapa donde se saca todo tipo de piedrecillas y cuarzo que pudieron quedar.
- **Escarificado:** primera etapa donde, además de sacarle la cascarilla al grano de quinua, se saca gran parte de saponina mediante fricción.
- **Pulido y centrifugado:** en algunos casos, la quinua es sometida a pulido con vapor de agua con la finalidad de eliminar algún resto de saponina que haya quedado de la escarificación, de tal forma el grano de quinua queda con mejor apariencia.
- **Secado:** etapa en la que se elimina resto de agua del pulido, logrando así que la humedad del grano se mantenga según lo establecido en normas internas de cada empresa.
- **Ozonificación:** etapa de inyección de ozono con la finalidad de reducir la carga microbiana.
- **Envasado:** una vez que el producto se encuentra listo, se coloca en una tolva para iniciar el envasado en las presentaciones que solicite el cliente.

## 5.5 Tecnología para mejorar de inocuidad de alimentos

Es muy importante cumplir con las exigencias del mercado extranjero y por ello es que se aplica el uso de nuevas tecnologías para mejorar la inocuidad del producto, Angulle (2017) nos menciona 4 tecnologías para la reducción de carga microbiana en grano seco de quinua de las cuales tenemos:

- **Esterilización:** “Esterilización o desinfección con vapor que consiste en el tratamiento de los ingredientes con vapor de agua caliente y en algunos casos hasta con presión” (Angulle, M. 2017).
- **Ultravioleta:** menciona que la radiación tiene un efecto sobre el ADN del microorganismo a atacar y su principal ventaja es que no altera la característica organoléptica de los alimentos.
- **Organic Sterilization System (OSS):** es un procedimiento de cambios de presión y temperatura en un ambiente al vacío, al igual que la radiación UV, se caracteriza por mantener las propiedades del producto en tratamiento.
- **Ozono:** “se forma a partir de la unión de una molécula de oxígeno con otro átomo libre de oxígeno” (Seminario, L *et al.* 2014) “El ozono afecta directamente las macromoléculas presentes en los seres vivos por lo que, en consecuencia, al poner en contacto microorganismos con ozono, éste reaccione con las proteínas, enzimas, lípidos y los ácidos nucleicos de las bacterias, hongos y virus. La literatura reporta el ataque químico del ozono sobre proteínas, lípidos enzimas intracelulares y ácidos nucleicos, así como sobre las proteínas“(Rodríguez, 2016).

## **5.6 Requisitos para exportación de quinua**

A nivel mundial existen diferentes organizaciones que velan por el bienestar y la seguridad alimentaria entre ellas tenemos a la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura (FAO) establece lo que hoy se conoce como el Codex Alimentarias, una de las principales normas para el manejo de alimentos. De la misma manera en el Perú, contamos con normas que han sido establecidas para poder controlar el proceso de los alimentos, entre ellos encontramos las Normas Técnicas Peruanas (NTP), la cual nos brinda información sobre la calidad e inocuidad a que cada uno de los alimentos debe cumplir para su comercialización.

## 6. ANTECEDENTES

Han, Y. *et al.* 2001. Obtuvieron la reducción de *E. coli* O157:H7 inoculado en pimientos verdes, aplicando ozono en gas. Este experimento les demostró que hubo una reducción entre 5 Log y 6 Log de reducción en el tiempo de 20 y 40 minutos respectivamente., mientras que solo se redujo 1 Log cuando se puso un tiempo de contacto de 15 minutos. Hacen mención también que hay una estrecha relación entre la concentración del ozono, la humedad relativa y el tiempo de contacto al momento de utilizar al ozono como un antibacterial para superficies de producto.

Brent, A. & Doan, J., 2003 Utilizaron ozono en gas para la reducción de hongos presentes en granos de cebadas almacenadas. Consideraron 4 parámetros: la dosis, el tiempo de exposición, la actividad de agua del producto y la temperatura del producto. Aplicaron ozono a la cebada en una dosis de 0.16 – 0.10 mg de ozono/g de cebada, indicaron que los hongos micelares son menos resistentes que los hongos esporulados, pudiéndose ver afectados a partir de los 5 minutos de exposición.

Wu, J.; *et al.*, 2006. Utilizaron el ozono para verificar su función fungicida sobre el trigo almacenado, para ello utilizaron 5 dosis de ozono y una aplicación de 5 minutos. El conteo inicial que tienen sobre hongos es  $4.9 \times 10^5$  UFC/g, la relación de inactivación de hongos es directamente proporcional a la dosificación que se le exponga, siendo la más adecuada la de 0.33 mg quien llegó a reducir con un 96.9%.

INDECOPI, 2008 Establecen una norma en la cual indica los criterios de muestreo para inspección por atributo. Donde podemos encontrar los datos de niveles de inspección, las tablas de cantidad de muestreo y los planes de muestreo donde tenemos el tamaño de la muestra a tomar según la cantidad de producto que tendremos.

Selma, M. *et al.* 2008. Mencionan que el ozono es un mecanismo de reducir carga microbiana sin necesidad que afecte la calidad y características organolépticas del producto expuesto. Ellos utilizaron melones para evidenciar la reducción microbiana de *Salmonella spp.* y coliformes totales con un tiempo de contacto de 30 minutos de exposición a 20000 ppm de ozono, con esta cantidad redujeron significativamente la cantidad de microorganismos.

Zorlugenç, B.; *et al.*; 2008 Compararon los efectos del ozono en gas y del agua ozonizada ante la presencia de Aerobios Mesofilos Totales, mohos, levaduras, *E. coli* y coliformes que se encuentran en los higos secos. Se obtuvo como resultado que el uso de agua ozonificada y el ozono en gas tuvieron efecto de reducción de las bacterias, pero entre ellos el agua ozonificada fue mucho más efectivo que el ozono en gas. Con respecto a *E. coli* y coliformes, la reducción con gas ozono obtuvieron una reducción significativa a partir de los 7.5 min. Redujo 0.46 Log UFC/g, a los 15 min redujeron 0.84 Log UFC/g y a los 30 min, redujeron 1.84 Log UFC/g; para aerobios mesofilos totales, se redujo 0.81 Log UFC/g a los 7.5 min, 1.0 Log UFC/g y 1.42 Log UFC/g a los 30 min. Para la reducción de levaduras, se redujo 0.16, 1.57 y 2.09 Log UFC/g a los 7.5, 15 y 30 minutos y con respecto a mohos, llegaron a reducir 0.59 Log UFC/g a los 7.5, mientras que para los 15 y 30 minutos hubo una reducción de los mohos total.

Mohammad, B., *et al.* 2009. Utilizaron el ozono con la finalidad de reducir la carga microbiana en dátiles, un fruto iraní. Concluyeron que para tener la reducción de microorganismos es necesario tener 1 h de tiempo de exposición como mínimo a 5ppm de concentración, así podría reducirse con éxito coliformes, y *Staphylococcus aureus*, pero se podría necesitar prolongar el tiempo de exposición para poder eliminar las bacterias mesofilos totales y mohos/levaduras.

Quiroga, C. & Escalera, R.; 2010. Describen el proceso común para la obtención de quinua en grano. Este proceso consta de las partes de: clasificación preliminar donde se retiran el mayor porcentaje de impurezas; escarificación donde se le quita la cascara que contiene mayor cantidad de saponina; lavado, con la finalidad de reducir la saponina que pudo haber quedado; centrifugado, secado el producto debe contar con la humedad adecuada para que no pueda generar el crecimiento de hongos que a la larga pueda traer problemas con aflatoxinas, clasificación final y envasado. Así también ellos proponen una alternativa nueva de proceso en al cual se le agrega una parte de esterilización previamente al envasado.

Tiwari, B.; *et al*, 2010, indicaron que el ozono es una buena alternativa para la reducción de carga microbiana y para reemplazar las fumigaciones químicas con la finalidad de eliminar de insectos de granos, debido a que es un producto que no genera residuos tóxicos luego de su aplicación. Siendo así una gran alternativa debido a que no interfiere en las características físicas de los granos al momento de ser expuestos al gas.

FAO, 2011. Menciona sobre la importancia de la quinua a nivel mundial debido a su valor nutricional, haciendo énfasis en la presencia de aminoácidos esenciales y el alto contenido de fibra, lo cual mejoraría a reducir la cantidad de desnutrición a nivel mundial. Mencionan también que presenta proteínas de buena calidad y tiene gran cantidad de vitaminas y minerales, resaltando la presencia de calcio, hierro y fosforo. También menciona que la zona de mayor cultivo de quinua se encuentra en la parte andina de américa del sur, siendo los principales países, Perú, Bolivia y Ecuador; pero no se descarta el cultivo de quinua en otras partes del mundo. Debido a la alta producción de quinua en nuestro país es que nos convertimos en uno de los principales países agroexportadores de Sudamérica siendo nuestro primero destino Estados Unidos.

Márquez, L. & Pretell, C., & Michón, C. 2011. Evaluaron el efecto del gas de ozono y otros tres desinfectantes en rebanadas de mango para ver si tienen algún efecto positivo en las características fisicoquímicas, sensoriales y microbiológicas. El producto fue expuesto al ozono por un periodo de 30 minutos reduciendo 1.0 Log UFC/g con respecto a aerobios mesofilos y para mohos y levaduras 2.0 Log UFC/g concluyendo que hubo un porcentaje de reducción significativo. Así también ellos evaluaron también el crecimiento microbiano post almacenado concluyendo que el producto expuesto a ozono mantuvo una menor carga microbiana en comparación a los otros tratamientos utilizados.

Ayala, J.; 2013, menciona que si bien, la quinua es un producto de alto consumo en países europeos o norteamericanos, en Bolivia y otros países latinos poco o nada se conoce de este pseudocereal a pesar de ser un producto rico en fibra, calcio y aminoácidos esenciales, indicando la importancia de poder conocer las propiedades de un producto para poder incrementar su consumo, de tal forma genera ganancias a su país y alimentar bien a las nuevas generaciones.

INDECOPI, 2014. Establece los requisitos primordiales de calidad e inocuidad de la quinua en granos a nivel nacional para su comercialización. De la misma manera nos muestra los parámetros de calidad y microbiológicos a cumplir.

Hernández, J. 2015. Menciona la importancia nutricional de los granos de quinua por ser un alimento de origen vegetal que contiene los 10 aminoácidos esenciales para el organismo, de igual manera contiene una gran cantidad de proteína, carbohidratos con índice glucémico bajo y fibra lo cual ayuda a la desintoxicación del organismo y es un producto libre de gluten siendo un alimento adecuado para las personas que padecen de diabetes mellitus.

INIA & IICA, 2015. Hace mención a las regiones del país donde se da la mayor cantidad de producción de quinua, siendo las principales provincias: Arequipa, Puno, y Junín. Las cuales también tienen muchos problemas para el correcto cultivo de quinua: el poco control fitosanitario, el uso inadecuado de fertilizantes, escases de agua para riego, problemas en la cosecha, mano de obra calificada, etc.

Isikber, A. & Athanassiou, C. 2015. Menciona que el efecto del ozono podría considerarse como una fumigación, debido a que su efectividad es básicamente al exterior del producto en vista que este no puede ingresar al interior del grano causando efectos secundarios, nos menciona que estudios demuestran que una baja dosis de ozono puede llegar a reducir y/o eliminar las micotoxinas y los principales representantes de hongos en superficies. Indica que otros estudios indican que para reducir la cantidad de hongos es necesario solo la aplicación de 50 ppm de ozono por un periodo de 3 días, pero tiene mayor eficacia al trabajarlo a altas temperaturas. También menciona que estudios demuestran que tiene una buena antibacteriana sobre los mesofilos aerobios totales llegando a reducir un 51.5%.

Fairlie, A. 2016. Menciona las características de la quinua e indica que, según la FAO el Perú y Bolivia son los principales países productores de este grano andino a nivel mundial. Nos indica que el principal mercado de exportación es los Estados Unidos con un 53.7% aproximadamente, seguido de Canadá y Australia. También nos indica que la quinua es exportada en calidad de materia prima un 84.57%, en cambio el producto en grano solo llegó a alcanzar un 0.01% en el 2014.

Pretell, C., *et al*, 2016. Utilizaron ozono en gas para verificar algún cambio en las características fisicoquímicas y microbiológicas de la granada variedad Wonderful. Establecieron que la mejor concentración de ozono oscila entre los 40 y 50 ppm para obtener una buena reducción de carga de mohos y levaduras.

Rojas, W., *et al*. 2016. Evaluaron el valor nutricional de trece variedades de quinua y dos líneas del programa de mejoramiento de quinua, bajo las variables de proteína, grasa fibra, ceniza, carbohidratos, energía calórica, contenido de hierro, almidón, amilosa, amilopectina y diámetro de granulo. Determinaron que todas las muestras utilizadas presentan los ocho principales aminoácidos esenciales (Leucina, lisina, valina, fenilalanina, isoleucina, treonina, metionina y triptófano), presentando tres grasas insaturadas y dos saturadas, quedando como una alternativa para la desnutrición y lactancia neonatal por su alto contenido nutricional.

Santos; R, *et al*, 2016. Inocularon *Penicillium spp.* y *Aspergillus spp.* en grano de arroz para poder determinar el tiempo de exposición y concentración de ozono ideal para poder lograr una reducción de estos microorganismos. Utilizaron cinco tiempos de contacto (12, 24, 36, 48 y 60 h) y la concentración de 5.00 mgL-1 y 13.97 min. Llegando a obtener una reducción de 3.8 log (100%) al momento de hacer el recuento de los hongos.

Valdivieso, B. *et al.* 2016. Realizaron un recuento de mohos y levaduras teniendo como muestra uva Red Globe que tenían tratamiento de ozono, evidenciando que hubo una disminución de carga microbiana la cual se mantenía con el tiempo de almacenamiento, pues a 28 días de almacenamiento el incremento de mohos y levaduras fue muy escasa en comparación con la fruta que no fue tratada, esto concluye que el tener un producto expuesto a ozono, ayuda a que este se mantenga con el tiempo, dándole una mejor calidad al producto.

Aguayo, E. & Artes-Hernández, F., 2017; Indican que la principal acción del ozono es su amplio espectro antimicrobiano actuando en bacterias Gram positivas y Gram negativas, mohos levaduras, protozoos virus y esporas fúngicas y bacterianas. Indican también que puede ser utilizada de forma acuosa o en gas dependiendo del producto al que será expuesto.

Anculle, M.; 2017 Menciona la aplicación de ozono como tecnología para la desinfección de quinua con alta carga microbiana. Indica que tiene una gran actividad antimicrobiana contra bacterias, hongos, protozoos, esporas de bacterias y hongos; así también puede eliminar insectos y lo más importante es que no daña la calidad del grano. Concluyen que la concentración de ozono de 50 ppm es necesaria para eliminar insectos y carga microbiana.

Brodowska, A.; *et al*; 2017 Indican que la sensibilidad de una bacteria Gram negativa es mucho mayor en comparación a unas Gram positivas. Esto debido a que *B. subtilis* y *B. pumilus* resultaron ser los más resistentes a la aplicación del ozono, debido que se utilizó hasta por 17 min aproximadamente.

Ku, P; 2017. Menciona que la quinua en grano, no destinado para la siembra, ha ido aumentando con el paso de los años, habiendo alcanzado su máximo punto de exportación en el año 2014, en el cual fuimos nombrados como el primer país exportador a nivel mundial debido a que ese año exportamos cerca de 36 mil toneladas, desplazando a Bolivia al segundo lugar. Sin embargo, la producción de calidad de quinua en nuestro país no es suficiente para completar la demanda del exterior, debido que muchas veces estos países solicitan que el producto a exportar sea de origen orgánico o en caso de tratarse de un producto convencional debería cumplir con los requisitos de certificación, esto debido a que los acopiadores recogen los productos y los envían a las principales exportadoras sin un control del producto.

Pandiselvam, S.; *et al*; 2017. Hacen mención sobre la importancia y beneficios de la aplicación de ozono en la industria alimentaria, así también indican con respecto a la fruta, se requiere 5 ppm a 1 hora para poder reducir la cantidad de algunas bacterias; sin embargo, con respecto a vegetales es variante. Por ejemplo, menciona que utilizaron 2 ppm por 2 minutos para poder reducir la cantidad de *Listeria monocytogenes*. Indicándonos que la cantidad de concentración o tiempo de exposición no aplica idénticamente para todos los modelos utilizados. También mencionan que el ozono no solo ayuda a la reducción de microorganismos, sino también a la eliminación de insectos que pudiesen estar presentes en el producto, cumpliendo así una función bactericida e insecticida a la vez, siendo muy favorable para el producto.

MINAGRI. 2018. Nos indica describe la situación de diferentes cultivos de granos andinos, entre ellos el estado de la quinua. Indica puntualmente que el año 2000 fue donde empieza la revalorización de estos granos, esto implicó el incremento de la demanda interna y externa, por lo tanto, se llegó a producir aproximadamente 52 mil toneladas en su pico más alto. Así también mencionan que en las regiones que tienen mayor porcentaje de cosecha son Arequipa, Puno y Ayacucho.

Murray, K.; *et al*, 2018. Utilizaron un método basado en la AOP el cual es un proceso continuo donde se introduce peróxido de hidrogeno como vapor en un reactor iluminado por lámparas de UV-C lo que genera ozono generando radicales hidroxilos. La dosis que utilizaron es de  $54 \text{ mJ cm}^2$ , 6% (v/v) de peróxido de hidrogeno, 2 g/h de ozono y una temperatura de  $488^\circ\text{C}$  logrando obtener la reducción de 3 log UFC/g de *L. monocytogenes*.

Koo, W.; 2019. Brinda datos estadísticos referente a la exportación de quinua durante el año 2017 e inicios del 2018 en el Perú, indicando que el principal mercado de exportación es Estados Unidos, seguido por Canadá.

## **7. HIPÓTESIS**

Si el proceso de ozonificación tiene un efecto bactericida, entonces reducirá la carga de microorganismos, mejorando la inocuidad de la quinua que será destinada para exportación.

## **8. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **8.1 Lugar de ejecución**

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio y la planta de producción de una empresa privada que se dedicaba a la agro exportación de granos andinos ubicada al sur de Lima, en el distrito de Lurín y en el Laboratorio de Parasitología LA79 de la Universidad Ricardo Palma.

### **8.2 Tipo y diseño de investigación**

Se realizó una investigación empírica, basándose en la observación y experimentación de algún problema en relación a la inocuidad alimentaria que se vive en nuestra actualidad; se empleó una metodología cuantitativa, realizándolo en campo (planta de producción) y en laboratorio.

### 8.3 Variables

- Variable independiente: proceso de ozonificación
- variables dependientes:
  - microorganismos indicadores de inocuidad: Aerobios Mesófilos Totales.
  - microorganismos indicadores de inocuidad: Mohos y levaduras.
  - microorganismos indicadores de inocuidad: *E. coli*.
  - microorganismos indicadores de inocuidad: Coliformes totales.

### 8.4 Operacionalización de las variables

Tabla 1  
*Operacionalización de las Variables*  
**OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES**

<b>Objetivos específicos</b>	<b>Variable</b>	<b>Indicador</b>	<b>Escala de medida</b>	<b>Categorización de la variable</b>
Enumerar los microorganismos indicadores de inocuidad de la materia prima (Aerobios Mesófilos Totales, Mohos y Levaduras, <i>E. coli</i> y Coliformes Totales).	Recuento bacteriano	Presencia / Ausencia	UFC/ g	Cuantitativa
Enumerar los microorganismos indicadores de inocuidad posterior a la etapa de secado (Aerobios Mesófilos Totales, Mohos y Levaduras, <i>E. coli</i> y Coliformes Totales).	Recuento bacteriano	Presencia / Ausencia	UFC/ g	Cuantitativa

Enumerar los microorganismos indicadores de inocuidad posterior a la etapa de ozonificación (Aerobios Mesofilos Totales, Mohos y Levaduras, <i>E. coli</i> y Coliformes Totales).	Recuento bacteriano	Presencia / Ausencia	UFC/ g	Cuantitativa
Comparar la cantidad de microorganismos indicadores de inocuidad a diferentes tiempos de ozonificación.	Recuento bacteriano	Presencia / Ausencia	Log UFC/ g	Cuantitativa

## 8.5 Muestreo

Se utilizaron 30 lotes que fueron producidos durante el año 2018, utilizando la técnica de muestreo NTP-ISO-2859-1 para la toma de muestra de Materia prima (MP) y la metodología propia de la empresa que para la toma de muestra en las diferentes etapas durante el proceso de producción: Etapa posterior al Secado (SEC), la cual será considerada como Tiempo 0 de contacto con el ozono y posterior ozonificación: Tiempo 1: 15 minutos de exposición y Tiempo 2: 30 minutos de ozonificación.

## **8.6 Procedimiento y análisis de datos**

### **8.6.1 Recolección de la muestra.**

La toma de muestra de Materia Prima se realizó mediante el uso de tablas de muestreo asignadas por la NTP-ISO-2859-1. Para el muestreo de las etapas posterior al secado y posterior a la ozonificación se tomará la muestra en bolsas de primer uso estériles dentro de planta de producción y serán selladas para evitar contaminación. La frecuencia del muestreo es de una hora entre cada toma de muestra en línea, desde el inicio hasta finalizar el proceso. al finalizar la producción se realizará un compósito de las muestras tomadas para recién de ahí sacar una muestra que entrará a análisis microbiológico.

### **8.6.2 Determinación de reducción de microorganismos**

Se realizará el análisis de recuento de microorganismos indicadores de inocuidad en 4 de las etapas de proceso de producción de quinua en grano teniendo en cuenta la normativa AOAC para los siguientes parámetros: Aerobios Mesofilos Totales, Mohos, Levaduras, Coliformes Totales y *E. coli*.

#### **8.6.2.1 Determinación de Aerobios Mesofilos Totales.**

##### **“AOAC Official Method 990.12 Aerobic Plate Counts in foods”**

Se realizó una dilución de 1:10 teniendo 10 g de muestra y 90 mL de diluyente (Buffer fosfato tamponado o en agua de peptona tamponada) y se realizarán diluciones sucesivas desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ . Posteriormente se colocó

la placa petrifilm de Aerobios Mesofilos Totales sobre una superficie plana. Se levantó la película superior e inoculó 1 mL de la suspensión de prueba en el centro de la base de la película. Se colocó cuidadosamente la película superior sobre el inóculo y se distribuyó la suspensión sobre el área de crecimiento prescrita haciendo presión hacia abajo en el centro del dispositivo esparcidor de plástico (con el lado rebajado hacia abajo). Se dejó reposar la placa durante 1 minuto para permitir que el gel se solidifique. Posteriormente se procedió a incubar las placas por un periodo de  $48 \pm 3$  horas a  $35 \pm 1$  ° C. Se consideraron colonias positivas las cuales se encontraban coloreadas de rojo.

#### **8.6.2.2 Determinación de Mohos y Levaduras**

##### **“AOAC Official Method 997.02 Yeast and Mold Counts in Foods”**

Se realizó una dilución de la muestra en proporción de 1:10, teniendo 10 g de muestra y 90 mL con el diluyente (Buffer fosfato tamponado o en agua de peptona tamponada) y se realizarán diluciones sucesivas desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ . Posteriormente se colocó la placa de mohos y levaduras sobre en una superficie plana, se elevó la película superior y con una pipeta en dirección perpendicular a la placa, se inoculó cuidadosamente 1 mL de la suspensión de prueba en el centro de la base de la placa. Luego se colocó la película superior sobre el inóculo con cuidado. Se distribuyó la suspensión sobre el área de crecimiento prescrita haciendo presión hacia abajo en el centro del dispositivo esparcidor de plástico con un mango circular. Se retiró

el esparcidor y dejó reposar la placa durante 1 minuto para que el gel se solidifique. Se incubó las placas por un periodo de 5 a 7 días a una temperatura de  $25 \pm 1$  ° C. para realizar la lectura se consideró mohos aquellas que presentaron crecimiento con hifas características. Mientras que levaduras se consideró aquellas colonias de crecimiento verdes, rozadas y cremosas.

### **8.6.2.3 Determinación de Coliformes Totales y *E. coli***

#### **“AOAC Official Method 991.14 Coliform and *Escherichia coli* counts in foods”**

Se realizó una dilución de la muestra en proporción de 1:10, teniendo 10 g de muestra y 90 mL con el diluyente (Buffer fosfato tamponado o en agua de peptona tamponada) y se realizarán diluciones sucesivas desde  $10^{-1}$  hasta  $10^{-5}$ . Posteriormente se colocó la placa de recuento de *E. coli*/ Coliformes sobre una superficie plana. Se levantó la película superior y se inoculó 1 mL. de la suspensión en el centro de la base de la película. Se colocó cuidadosamente la película superior sobre el inóculo y se distribuyó la suspensión sobre el área de crecimiento prescrita con el haciendo presión sobre el dispositivo esparcidor de plasto (lado plano hacia abajo). Se dejó reposar la placa durante 1 minuto para permitir que el gel se solidifique. Se Incubó las placas por un periodo de  $24 \pm 2$  horas a  $35 \pm 1$  ° C. de temperaturas para reconocer coliformes; cuyas colonias se caracterizaron por ser de color rojiza y presentar burbujas de aire a su contorno, mientras que para poder

reconocer *E. coli* se dejó incubar la placa por  $48 \pm 2$  horas a  $35 \pm 1$  ° C y las colonias se caracterizaban por tener un color morado y presentar burbujas de aire al contorno.

### 8.6.3 Comparación de la cantidad de microorganismos indicadores en diferentes tiempos de ozonificación.

Una vez que se tiene los resultados del recuento microbiano, se realizó la tabla comparativa con respecto a los resultados obtenidos en las 3 etapas finales de proceso: Secado o para este caso tiempo 0, porque es la etapa final en caso no se tuviese etapa de ozono, ozonificación tiempo 15 minutos y ozonificación 0 minutos.

Tabla 2  
*Datos de la media y Log UFC/g con respecto al tiempo de exposición de ozono*

<b>Tiempo de exposición</b>	<b>Media</b>	<b>Log UFC/g</b>
<b>30'</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aerobios Mesofilos Totales</li> <li>• Mohos y Levaduras</li> <li>• Coliformes Totales</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aerobios Mesofilos Totales</li> <li>• Mohos y Levaduras</li> <li>• Coliformes Totales</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>
<b>15'</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aerobios Mesofilos Totales</li> <li>• Mohos y Levaduras</li> <li>• Coliformes Totales</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aerobios Mesofilos Totales</li> <li>• Mohos y Levaduras</li> <li>• Coliformes Totales</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>
<b>0'</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aerobios Mesofilos Totales</li> <li>• Mohos y Levaduras</li> <li>• Coliformes Totales</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aerobios Mesofilos Totales</li> <li>• Mohos y Levaduras</li> <li>• Coliformes Totales</li> <li>• <i>E. coli</i></li> </ul>

#### **8.6.4 Análisis de datos:**

Se utilizó el programa Infostat 2018, para realizar el análisis de los datos estadísticos. Debido a que las variables son de conteo, se utilizó los modelos lineales generalizados, para la variable de conteo se utilizó el modelo Binomial Negativo, debido a que el coeficiente de la Deviance/N fue menor a 3 para todos los datos analizados, indicando que hubo un buen ajuste de los datos para con el modelo estadístico elegido.

## 9. RESULTADOS

Durante el proceso de quinua en grano hay una reducción de microorganismos desde que ingresa la Materia Prima Trillada, hasta como sale el grano en Producto terminado listo para el envasado. Inicialmente se propuso analizar cinco microorganismos indicadores de inocuidad: Aerobios Mesofilos Totales, Mohos, Levaduras, Coliformes Totales y *E. coli*. Una vez obtenidos los resultados, evidenciamos que no hubo crecimiento de *E. coli* por lo tanto, quedo fuera del análisis estadístico realizado y solo se consideró los cuatro microorganismo restantes (Tabla. 3).

Tabla 3.  
*Medias aritmética de cada microorganismo en relación a su tiempo de contacto con el ozono.*

TIEMPO DE EXPOSICIÓN	MICROORGANISMO	MEDIA	Log UFC/g
30'	Aerobios Mesofilos Totales	27963.33	4.45
	Mohos	114.33	2.06
	Levaduras	121.67	2.09
	Coliformes Totales	112	2.05
15'	Aerobios Mesofilos Totales	89516.67	4.95
	Mohos	381.33	2.58
	Levaduras	374.67	2.57
	Coliformes Totales	640.33	2.81
0'	Aerobios Mesofilos Totales	233463.33	5.37
	Mohos	946	2.98
	Levaduras	1497	3.18
	Coliformes Totales	1533.33	3.19

La media hallada para la materia prima (MP), nos demuestra que el producto entra a línea de producción con una carga muy elevada de microorganismos. Consideramos a la etapa de secado como nuestro tiempo 0 para poder hacer la evaluación de reducción luego de la aplicación ozono. En esta etapa, las medias nos demuestran que tuvimos una alta carga de Aerobios Mesofilos Totales ( $233463.33 \pm 52623.59$ ) y Coliformes Totales ( $1533.33 \pm 428.43$ ) pero aun dentro de lo establecido por la empresa. Posterior a ello le sigue la aplicación de ozono a 15 minutos y 30 minutos en la cual se observa que ambos tiempos de exposición ozono-producto generan una mejor reducción de microorganismos que con la etapa de secado, incluso a los 30 minutos tiempo de exposición con el ozono, se observa que la media es mucho menor en comparación con la media de 15 minutos, indicando que la relación que hay entre aplicación de ozono y crecimiento microbiano es inversamente proporcional (Figura 3, Figura 4, Figura 5, Figura 6 )

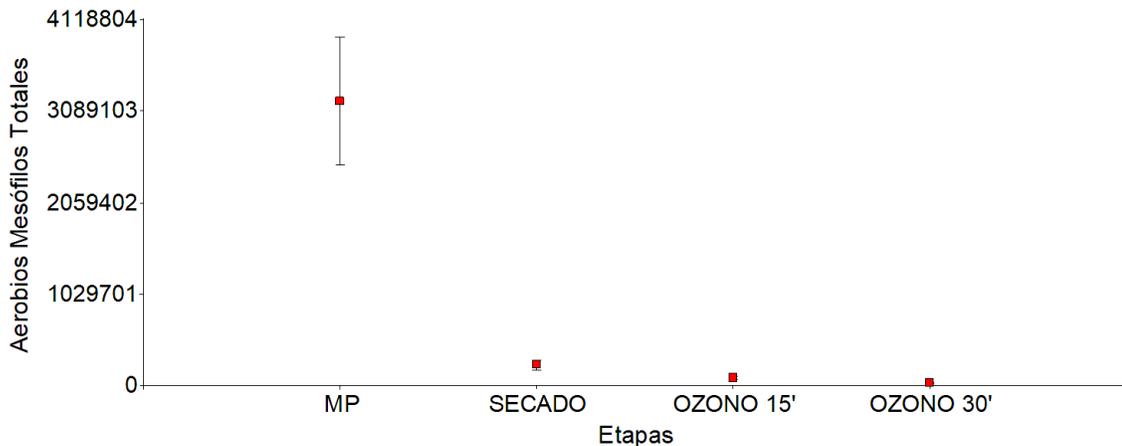
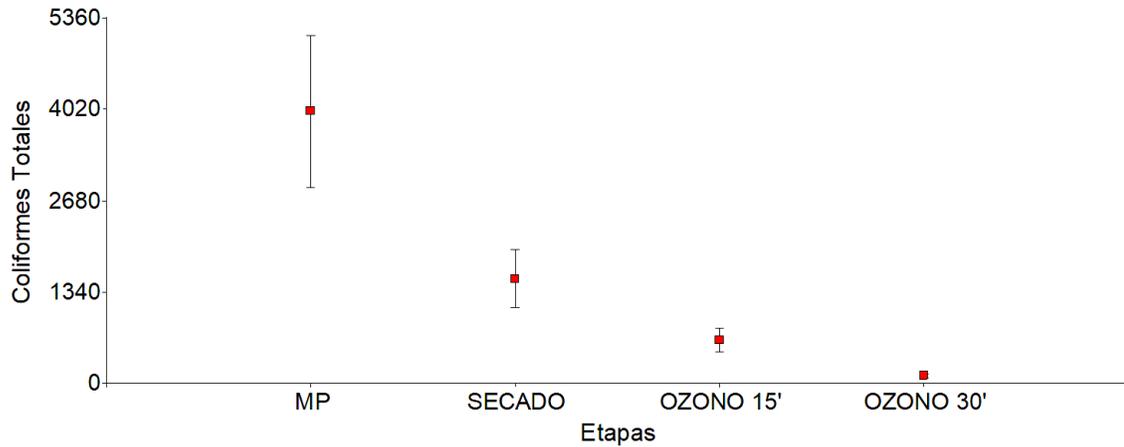


Figura 6. Reducción del recuento de Aerobios Mesofilos Totales durante toda la etapa de producción



*Figura 7.* Reducción del recuento de Coliformes Totales durante toda la etapa de producción

Al comparar ambos tratamientos, podemos evidenciar que hay una reducción de 0.38 y 1.14 Log UFC/g a los 15 y 30 minutos de exposición con respecto a Coliformes totales, 0.42 y 0.92 Log UFC/g a los 15 y 30 minutos respectivamente con respecto a Aerobios Mesofilos Totales, 0.4 y 0.92 Log UFC/g a los 15 y 30 minutos con respecto a Mohos y finalmente 0.61 y 1.09 Log UFC/g de reducción con respecto a levaduras. (Figura 7) demostrando que ante la aplicación de 15 minutos se produjo una mayor reducción de levaduras, pero a los 30 minutos de exposición se redujo mayor cantidad de Coliformes Totales y Levaduras, seguida por aerobios mesofilos totales.

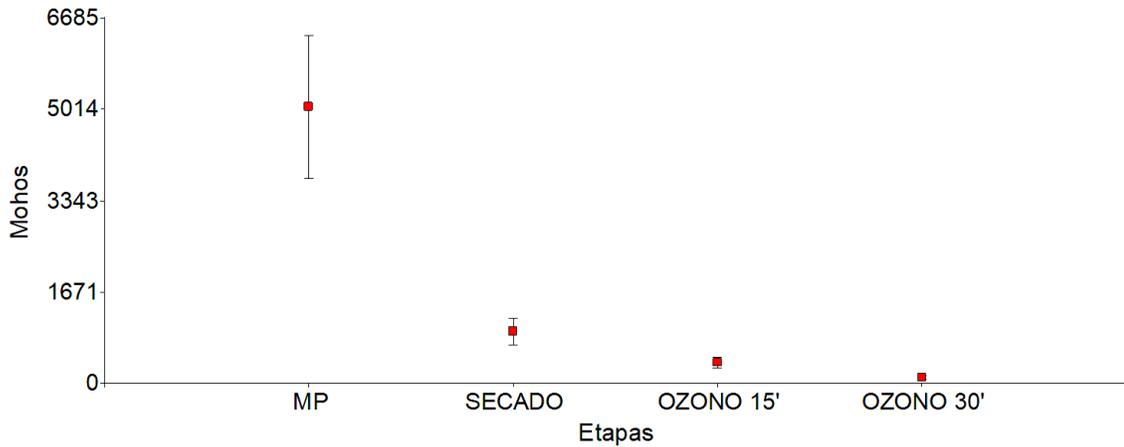


Figura 8. Reducción del recuento de Mohos durante toda la etapa de producción

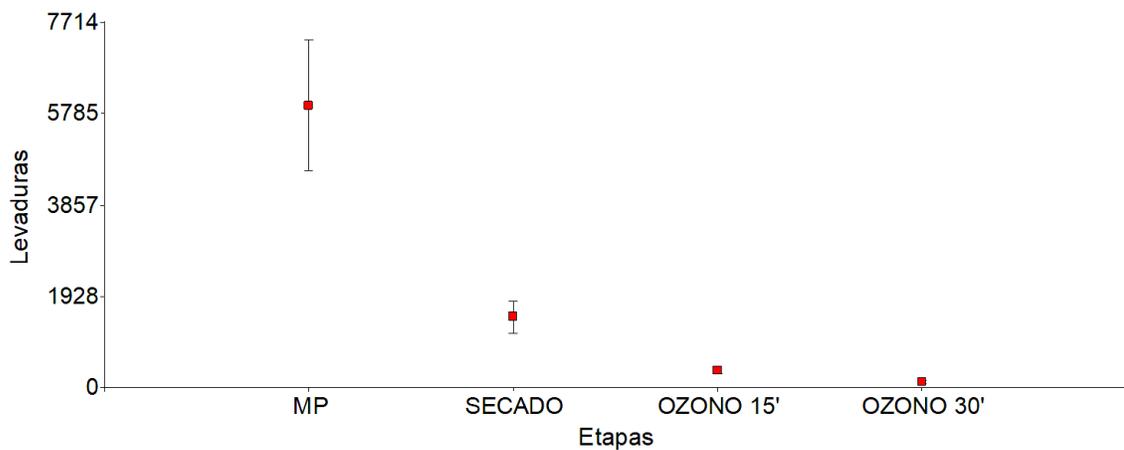


Figura 9. Reducción del recuento de Levaduras durante toda la etapa de producción

Para ambos tiempos de exposición, se evidenció que hay un mejor efecto de reducción a los 30 minutos, sin embargo, la reducción que se obtuvo a los 15 minutos fue aproximadamente a la mitad. Sin embargo, hay una mayor diferencia con respecto a la reducción de Coliformes totales ya que la reducción a los 15 minutos, es aproximadamente 3 veces menos que lo reducido a los 30 minutos.

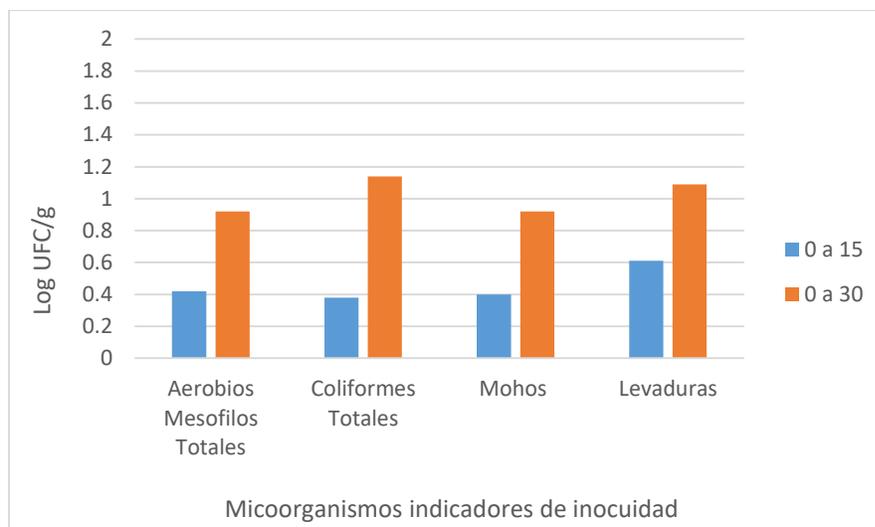


Figura 10. Diferencia de reducción entre los tiempos de contacto utilizado para ozonificar.

Tabla 4.

Reducción de microorganismos representado en Log UFC/g con respecto al tiempo de contacto con ozono.

MICRORGANISMOS	REDUCCIÓN CON APLICACIÓN DE OZONO (Log UFC/g)	
	0 a 15	0 a 30
<b>Aerobios Mesofilos Totales</b>	0.42	0.92
<b>Coliformes Totales</b>	0.38	1.14
<b>Mohos</b>	0.4	0.92
<b>Levaduras</b>	0.61	1.09

## 10. DISCUSIÓN

El estudio busca evaluar el proceso de ozonificación para la reducción de microorganismos indicadores de inocuidad en quinua destinada para la exportación, debido a que muchas veces el producto ingresa y sale de planta de proceso con una carga elevada de microorganismos; la cual muchas veces está dentro de las normas establecidas, pero no deja de ser un alto riesgo ante la salud del consumidor. Si bien el producto analizado, no es un producto de consumo directo, muchos clientes extranjeros exigen que los datos de inocuidad sean más bajos de lo que nuestras normas establecen por un factor de seguridad.

La importancia del uso de ozono como una alternativa para reducir la carga microbiana ha sido aplicada en diferentes estudios, bajo diferentes matrices. Tiwari, como todos los estudios revisados coinciden en que esta es una buena alternativa debido que no afecta los productos de manera física, ni química, inclusive Márquez, *et al*, indican que esta aplicación genera un plus adicional al momento del almacenaje pues hace que la carga microbiana se mantenga baja a pesar de tener 20 días de almacenamiento, para nuestro estudio, sería un adicional a realizar en base al análisis de nuestras contramuestras e Isikber & Athanassiou recalcan que el ozono aparte de tener una función antibacteriana cumple con una función insecticida, debido a lo que es una buena metodología para aplicar en los productos que puedan correr el riesgo de ser atacada por insectos sin embargo no afectaría a la estructura interna del producto, pudiéndose utilizar como un fumigante natural.

Los estudios revisados de Han, *et al*; Brent & Doan; Selma, *et al*; Zorlugenc, *et al*; Anculle, M; entre otros, indican que el ozono cumple con su función antibacteriano, sin embargo. Especialmente Aguayo & Artes-Hernandez reconocen que el ozono tiene un amplio espectro antimicrobiano actuando en bacterias Gram positivas y Gram negativa, mohos, levaduras, protozoos, virus y esporas. Sin embargo, para que el ozono pueda cumplir con estas características, es necesario cumplir con ciertos factores como el tiempo de exposición producto- ozono y la concentración de ozono aplicada al producto para mejorar la cantidad de reducción antimicrobiana.

Brend & Doan; y Wu, *et al*. Trabajaron con cebada y trigo respectivamente, productos similares a la que utilizamos en este estudio en cuanto al proceso de producción y los cuidados post producción que deben tener. Por esto, ellos enfocan sus análisis a la reducción de mohos, debido a que estos microorganismos son los que generan micotoxinas siendo perjudicial para el producto. Para los primeros casos la exposición del producto con el ozono fue menor a 10 minutos y obtuvieron resultados bajos, mientras que en nuestro trabajo se realizó una exposición de ozono por un periodo 15 y 30 minutos y solo obtuvimos una reducción de 0.4 y 0.92 Log UFC/g respectivamente, sin embargo, Zorlugenc trabajo con 15 y 30 minutos y lograron reducir la carga de mohos en su totalidad, pero trabajando en higos secos.

La efectividad de la reducción de microorganismos utilizando ozono en gas es demostrada ante la reducción de Aerobios Mesofilos Totales, Coliformes Totales y Levaduras, y no solo en la reducción de Mohos. Al igual que Zorlugen, *et al*, nuestros tiempos de contacto con el producto fueron los mismos. Ellos utilizaron higos secos como matriz de trabajo, mientras que nosotros utilizamos quinua en grano.

Obtuvieron una reducción de 0.84 y 1.84 Log UFC/g a los 15 y 30 min, con respecto a *E. coli*/ Coliformes, mientras que nosotros solo obtuvimos la reducción de 0.38 y 1.14 al mismo tiempo de contacto. Con respecto a aerobios mesofilos su reducción fue de 1.0 y 1.42 Log UFC/g a los 15 y 30 min, sin embargo, nuestros resultados indican que hay un 0.42 y 0.92 log de reducción al mismo tiempo y con respecto a levaduras, pudimos reducir de 0.61 a 1.09 Log UFC/g, mientras que ellos redujeron de 1.57 y 2.09 Log UFC/g en los mismos tiempos que nosotros, 15 y 30 minutos respectivamente. Si bien nuestras matrices fueron diferentes, nuestros tratamientos obtuvieron resultados proporcionalmente similares. Lo cual indica que la matriz no es un factor que influya para la reducción de carga microbiana.

## 11. CONCLUSIONES

Se determinó que la materia prima de quinua (*Chenopodium quinoa*) ingresa a línea de producción de granos andinos con una carga elevada de microorganismo indicadores de la inocuidad, teniendo una mayor presencia de Aerobios Mesofilos Totales (6.51 Log UFC/g), seguido por Levaduras (3.78 Log UFC/g), Mohos (3.70 Log UFC/g) y finalmente coliformes totales (3.60 Log UFC/g); lo que refleja que las diferentes regiones productoras de quinua del Perú se tiene un mal manejo de las Buenas Prácticas Agrícolas o en el caso que las tuvieran, estas no son aplicadas de la manera adecuada.

Al finalizar el proceso de producción de granos de quinua en la etapa de secado, se determinó que hubo una reducción de 1.14 Log UFC/g de Mesofilos Totales; seguido por 0.72 Log UFC/g de Mohos; 0.6 Log UFC/g de Levaduras y finalmente 0.41 Log UFC/g de coliformes totales, en comparación a los resultados iniciales de microorganismos encontrados en la materia prima.

Se determinó que en la etapa de ozonificación a los 15 minutos se tuvo 4.95 Log UFC/g de Aerobios Mesofilos, 2.81 Log UFC/g de coliformes totales, 2.58 Log UFC/g de mohos y 2.57 Log UFC/g de levaduras; mientras que a los 30 minutos se tuvo 4.45 Log UFC/g de Aerobios Mesofilos, 2.09 Log UFC/g de levaduras, 2.06 Log UFC/g de mohos y 2.05 Log UFC/g de coliformes totales. Mejorando los resultados de inocuidad del producto ante un proceso convencional de producción.

Comparando los resultados de la etapa de ozonificación, se determinó que la mayor reducción de microorganismos indicadores de inocuidad alimentaria se obtuvo con la aplicación de ozono por un tiempo de 30 minutos, reduciendo un 0.92 Log UFC/g para Aerobios Mesofilos

Totales, 1.14 Log UFC/g para Coliformes totales, 0.92 Log UFC/g para mohos y 1.09 Log UFC/g para levaduras. Demostrando una mejor efectividad sobre los granos de quinua en comparación al primer tratamiento de 15 minutos; asegurando así mucho más la inocuidad de los granos de quinua que serán destinados al mercado extranjero.

## **12. RECOMENDACIONES**

1.- Si bien queda demostrado que el ozono tiene una buena función antibacterial sobre los granos de quinua, se recomienda realizar un nuevo ensayo en el cual se utilice diferentes concentraciones de ozono aplicado al proceso de quinua, así poder verificar cuál de las variables es más efectiva para obtener una mejor inocuidad del producto final.

2.- Debemos implementar un programa de capacitación dirigido a los proveedores de materia prima sobre Buenas Prácticas Agrícolas, con la finalidad que la materia prima utilizada en el proceso tengas las condiciones adecuadas en tanto calidad e inocuidad muy a pesar de que pasen por un proceso industrial.

3.- Es recomendable que el personal encargado de realizar el control al proceso de quinua esté capacitado para poder identificar deficiencias durante el proceso de producción debido a que, si no se hace un buen control de calidad desde el momento en el que ingresa la materia prima, durante y al finalizar la producción, las probabilidades de tener problemas de inocuidad son muy altos. Esto implica verificar que todo el personal aplique las Buenas Practicas de Higiene, Buenas Prácticas de Manufactura durante todo momento.

### 13. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguayo, E. G., y Artes-Hernandez, F. (2017). Tratamientos químicos desinfectantes de hortalizas de IV gama: ozono, agua electrolizada y ácido peracético. *Agrociencia Uruguay*, pp.7-14.
- Anculle, M. (2017). *Problema y solución de exportación de Quinoa en grano-exigencia de calidad*. (tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina.
- AOAC Internacional (2002). Official Method 990.12 Aerobic Plate Counts in foods.
- AOAC Internacional (2002). Official Method 991.14 Coliform and Escherichia coli counts in foods.
- AOAC Internacional (2002). Official Method 997.02 Yeast and Mold Counts in Foods.
- Ayala, F. (2013). Desarrollo de estrategias de posicionamiento. Caso: Producto Quinoa. *Revista Perspectivas*, (32), 39-56.
- Brent, A., y Doan, J. W. (2003). Inactivation of fungi associated with Barley grain by gaseous ozone. *Journal of Environmental science and health*, 617-630.
- Brodowska, A., Nowak, A., Kondratiuk-Janyska, A., Piątkowski, M., y Śmigielski, K. (2017). Modelling the ozone-based treatments for inactivation of microorganisms. *International journal of environmental research and public health*, 14(10), 1196.

- Fairlie, A. (2016). *La quinua en el Perú cadena exportadora y políticas de gestión ambiental*. Lima: INTE-PUCP. Recuperado el 22 de Mayo del 2019 de: <http://repositorio.pucp.edu.pe/index/handle/123456789/54092>
- FAO. (2011) *La quinua: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial*. Recuperado el 04 de Junio del 2019 de: <http://www.fao.org/3/aq287s/aq287s.pdf>
- Han, Y., *et al.* (2001). Response surface modeling for the inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 on green peppers (*Capsicum annuum* L.) by chlorine dioxide gas treatments. *Journal of food protection*, 64(8), 1128-1133.
- Hernández, J. (2015). La quinua, una opción para la nutrición del paciente con diabetes mellitus. *Revista Cubana de Endocrinología*, 304-3012.
- INDECOPI. (2008). Procedimientos de muestreo para inspección por atributo. Parte 1: Esquemas de muestreo clasificados por límite de calidad aceptable (LCA) para inspección lote por lote. *Norma Técnica Peruana NTP 2859-1-2008* Lima, Perú.
- INDECOPI. (2014). Granos Andinos. Quinua. Requisitos. *Norma Técnica Peruana NTP 205.062*. Lima, Perú.
- INIA & IICA. (2015). *El mercado y la producción de Quinua en el Perú*. Recuperado el 01 de Junio del 2019 de: <https://www.iica.int/es/content/el-mercado-y-la-producci%C3%B3n-de-quinua-en-el-per%C3%BA>
- Isikber, A., & Athanassiou, G. (2015). The use of ozone gas for the control of insects and micro-organisms in stored products. *Journal of Stored Products Research*, 64, 139-145.

- Koo, W. (2018). *Agrodata Perú*. Recuperado el 20 de Marzo del 2019 de:  
<https://www.agrodataperu.com/2018/02/quinua-peru-exportacion-enero-2018.html>
- Ku, P. (2017). Perú como primer exportador de quinua a nivel mundial. *Rev. Quipukamayoc*, 25(47), 75-83.
- Márquez, L., y Pretell, C. & Minchón, C. (2011). Efecto del tratamiento desinfectante y tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de rebanadas de mango (*Mangifera indica*) Kent mínimamente procesado. *Pueblo Continente*, 385-403.
- Mendez, F., Maier, D. E., Mason, L. J., & Woloshuk, C. P. (2003). Penetration of ozone into columns of stored grains and effects on chemical composition and processing performance. *Journal of Stored Products Research*, 39(1), 33-44.
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2018). *Nota Técnica de Granos Andinos*. Recuperado de <https://www.minagri.gob.pe/portal/.../analisis-2018?...nota-tecnica-de-granos-andinos>.
- Mohammad, H. & Haddad, M. (2009). Efficacy of ozone to reduce microbial populations in date fruits. *Food control*, 20(1), 27-30.
- Murray, K., et al. (2018). Inactivation of *Listeria monocytogenes* on and within apples destined for caramel apple production by using sequential forced air ozone gas followed by a continuous advanced oxidative process treatment. *Journal of food protection*, 81(3), 357-364.
- Pandiselvam, R., et al. (2017). Application and kinetics of ozone in food preservation. *Ozone: Science & Engineering*, 39(2), 115-126.

- Pretell, C., Marquez, L. & Siche, R. (2016). Efecto del ozono gaseoso sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y apariencia general de *Punica Granatum* L. wonderful fresca. *Scientia Agropecuaria*, 173-180.
- Quiroga, C., & Escalera, R. (2011). Evaluación de la calidad nutricional y morfología del grano de variedades amargas de quinua beneficiadas en **seco, mediante el novedoso empleo** de un reactor de lecho fluidizado de tipo surtidor. *Revista Investigación & Desarrollo*, 1(10).
- Rojas, W., Vargas, A., & Pinto, M. (2016). La diversidad genética de la quinua: potenciales usos en el mejoramiento y agroindustria. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 3(2), 114-124.
- Santos, R.; *et al*, (2016). Ozone as fungicide in rice grains. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 20(3), 230-235.
- Selma, M. *et al*. (2008). Reduction by gaseous ozone of *Salmonella* and microbial flora associated with fresh-cut cantaloupe. *Food microbiology*, 25(4), 558-565.
- Sistema Integrado de la Información de Comercio Exterior (2019). *Exportación del producto quinua según sus principales mercados en Kg 2014- 2019*. Recuperado de: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/apb/ReporteProducto.aspx?psector=1025&preporte=prodmercvolu&pvalor=1943>
- Tiwari, B., *et al*. (2010). Application of ozone in grain processing. *Journal of Cereal Science*, 51(3), 248-255.

- Valdiviezo, B.; Pretell, C. & Marquez, V. (2016). Efecto de la concentración de ozono gaseoso sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y apariencia general en uva (*Vitis vinifera L.*) variedad red globe. *Agroindustrial Science*, 6(1), 7-15.
- Wu, J., Doan, H., & Cuenca, M. A. (2006). Investigation of gaseous ozone as an anti-fungal fumigant for stored wheat. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 81(7), 1288-1293.
- Zorlugenc, B.; *et al*, (2008). The influence of gaseous ozone and ozonated water on microbial flora and degradation of aflatoxin B1 in dried figs. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3593-3597.

## **14. ANEXOS**

**ANEXO 1.- EVOLUCION DE LAS EXPORTACIONES DEL PRODUCTO QUINUA  
SEGUN SUS PRINCIPALES MERCADOS 2005 – 2017**

Tabla 5.

*Exportación de quinua (Chenopodium quinoa) durante los años 2006-2017.*

	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017
<b>Estados Unidos</b>	377.661,24	633.319,36	947.866,20	1.328.508,98	1.207.211,89	3.051.734,31	5.144.697,81	7.656.532,89	10.421.048,55	19.111.365,47	20.536.564,45	20.515.449,07	21.308.941,26
<b>Canadá</b>	27.270,01	19.134,35	37.684,70	47.137,06	100.189,76	228.774,12	403.133,81	671.426,69	1.657.009,49	4.026.278,35	3.431.162,85	3.264.858,63	4.316.555,65
<b>Países Bajos (Holanda)</b>	17.174,24	24.148,89	70.671,20	24.038,03	54.884,87	20.245,00	110.031,83	346.501,18	676.129,81	2.198.936,06	3.396.523,53	4.961.237,42	3.535.260,89
<b>Italia</b>	5.122,79	4.421,07	6.811,51	5.148,50	6.140,25	79.780,18	384.890,64	274.867,31	407.823,42	1.321.971,70	2.182.284,06	3.197.899,39	3.517.928,20
<b>Reino Unido</b>	0,05	0,00	141,87	2.034,31	28.040,87	5.991,52	22.381,91	203.941,38	1.090.196,88	1.951.411,72	2.948.684,25	3.494.313,48	2.707.394,47
<b>España</b>	24.866,11	26.405,44	43.947,98	46.718,54	32.704,42	27.677,76	36.538,65	40.522,74	38.459,98	307.592,53	526.863,85	2.719.834,57	2.685.141,25
<b>Francia</b>	103,25	171,92	19,990,25	1.976,83	10.046,81	75.226,76	23.927,68	101.962,17	685.565,63	1.244.899,56	2.003.554,36	2.635.283,49	2.441.057,14
<b>Brasil</b>	10.384,00	25,00	26,00	0,00	23.141,71	32.982,19	160.150,86	313.066,17	534.813,79	972.181,89	1.071.641,59	1.404.379,65	1.699.634,31
<b>Alemania</b>	68.733,00	131.041,76	80.915,31	102.600,00	280.210,53	362.974,56	511.536,40	466.993,09	604.448,15	1.532.100,15	1.789.623,64	1.758.950,18	1.639.033,89
<b>Australia</b>	0,00	370,00	2.622,00	1.030,00	43.847,35	135.347,11	342.893,68	573.954,75	1.376.551,32	1.778.596,16	1.343.569,90	1.451.613,57	1.448.821,16
<b>Chile</b>	16.013,00	8.471,00	13.737,23	14.130,00	36.067,90	36.491,12	103.640,88	117.868,17	84.538,39	297.652,52	548.523,31	901.668,47	1.252.522,99
<b>Israel</b>	0,00	379,960,00	67,670,00	94.920,00	406.331,00	225.566,36	185.674,90	403.283,65	555.593,82	864.265,40	1.251.866,04	1.252.503,08	1.094.302,35
<b>Bélgica</b>	0,00	4.057,00	39,880,00	3.080,87	276,20	390,69	0,00	42.574,00	12,08	238.398,02	375.834,11	174.525,14	804.350,00
<b>Taiwán</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	34,07	3.937,26	81.285,26	157.522,69	362.225,37	670.876,84
<b>México</b>	0,00	1.714,00	1.380,72	23.208,00	6.335,00	20.295,00	12.772,71	35.241,40	91.320,57	488.511,79	626.171,41	470.318,64	596.735,87
<b>Polonia</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	40.390,00	100.820,00	130.717,67	318.542,14	490.765,00
<b>Dinamarca</b>	510,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	4.018,18	0,00	2.014,00	0,00	73.708,03	229.318,00	447.158,31
<b>Federación Rusa</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	15.068,18	45.693,73	22.125,00	137.241,36	89.893,92	183.951,47	300.394,15	446.651,32

<b>Hong Kong</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3.234,57	27.526,20	41.703,33	277.797,53	303.762,87	380.130,37
<b>Japón</b>	18.821,34	5.848,95	103.941,20	205.236,00	145.768,04	138.953,42	118.048,27	101.794,72	158.079,80	219.299,23	457.675,26	578.520,55	355.326,71
<b>Vietnam</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	28.370,00	132.456,82	313.353,96
<b>Nueva Zelanda</b>	17.065,00	34.721,82	66.130,96	112.237,99	93.379,07	95.081,04	163.229,87	171.651,36	297.297,21	284.204,32	259.515,70	126.154,97	270.350,99
<b>Irlanda (Eire)</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1.658,00	1.101,50	0,00	254.720,00
<b>Sudáfrica</b>	0,00	1.020,00	0,00	0,00	34.217,50	0,00	44.617,00	40.453,72	79.580,00	191.860,76	39.627,99	152.665,06	237.629,51
<b>Emiratos Árabes Unidos</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	704,40	4.779,19	49.040,75	100.155,73	158.843,96	229.983,39
<b>Argentina</b>	0,00	0,00	0,00	1.995,00	0,00	18.437,00	22.140,00	20.060,00	0,00	25.240,00	99.704,27	223.773,44	218.336,18
<b>Grecia</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	39.251,17	196.275,85	210.578,65
<b>Turquía</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	2.997,39	0,00	0,00	33.122,52	20.779,91	55.583,33	469.377,88	332.696,29	194.578,21
<b>Suecia</b>	3.711,44	26.815,00	46.650,00	73.493,33	75.511,95	76.605,00	61.600,00	74.510,87	98.420,69	142.921,08	173.479,80	186.964,52	193.404,53
<b>India</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	510,00	57.225,00	74.797,27	39.489,54	82.680,55	157.740,92
<b>Colombia</b>	0,00	0,00	0,00	6.558,36	0,00	459,96	42.340,00	516,27	168,61	12.328,81	4.706,73	40.417,39	152.102,45
<b>Singapur</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	824,40	2.286,05	0,00	6.146,02	50.537,96	90.192,58	171.777,28	134.239,39
<b>Tailandia</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	19,88	48.095,00	48.039,04	18.804,80	149.616,17	128.877,91
<b>Arabia Saudita</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,09	0,00	22.738,35	55.641,47	40.080,46	126.587,24
<b>Uruguay</b>	2.030,00	0,00	0,00	5.060,37	12.020,80	12.060,00	22.315,91	25.750,91	50.285,80	49.264,80	88.503,20	90.450,83	124.723,98
<b>Irán (República Islámica)</b>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	15.867,00	114.040,31
<b>Panamá</b>	105,90	890,32	122,00	51,19	48,28	60.865,38	0,00	18.582,41	1.134,50	59.961,59	33.755,88	131.690,78	112.965,29

## ANEXO 2.- RESULTADO ESTADISTICO

### COLIFORMES TOTALES

#### General

Familia	Enlace	Convergencia	Escala
Negative Binomial(0.4271)	log	Alcanzada	1.00

#### Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Deviance
120	1794.27	1808.21	-892.14	148.94

*AIC y BIC menores implica mejor*

El Deviance/N es menor a 3. Es un buen ajuste del modelo

#### Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Etapas	3	116	29.50	<0.0001

Al menos una etapa difiere a las demás (p-value < 0.05).

#### Coliformes Totales - Medias ajustadas y errores estándares para Etapas

*Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0*

*LSD Fisher (Alfa=0.05)*

*Procedimiento de corrección de p-valores: No*

Etapas	PredLin	E.E.	Media	E.E.	
MP	8.29	0.28	3992.67	1115.50	A
SECADO	7.34	0.28	1533.33	428.43	B
OZONO 15'	6.46	0.28	640.33	178.95	C
OZONO 30'	4.72	0.28	112.00	31.35	D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)*

## AEROBIOS MESÓFILOS TOTALES

### General

Familia	Enlace	Convergencia	Escala
Negative Binomial(0.6561)	log	Alcanzada	1.00

### Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Deviance
120	3172.10	3186.03	-1581.05	146.37

*AIC y BIC menores implica mejor*

El Deviance/N es menor a 3. Es un buen ajuste del modelo

### Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Etapas	3	116	80.21	<0.0001

Al menos una etapa difiere a las demás (p-value < 0.05).

### Aerobios Mesofilos Totales - Medias ajustadas y errores estándares para Etapas

*Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0*

*LSD Fisher (Alfa=0.05)*

*Procedimiento de corrección de p-valores: No*

Etapas	PredLin	E.E.	Media	E.E.	
MP	14.98	0.23	3201966.67	721735.45	A
SECADO	12.36	0.23	233463.33	52623.59	B
OZONO 15'	11.40	0.23	89516.67	20177.47	C
OZONO 30'	10.24	0.23	27963.33	6303.11	D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)*

## MOHOS

### General

Familia	Enlace	Convergencia	Escala
Negative Binomial(0.4952)	log	Alcanzada	1.00

### Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Deviance
120	1777.44	1791.38	-883.72	146.86

*AIC y BIC menores implica mejor*

El Deviance/N es menor a 3. Es un buen ajuste del modelo

### Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Etapas	3	116	37.81	<0.0001

Al menos una etapa difiere a las demás (p-value < 0.05).

### Mohos - Medias ajustadas y errores estándares para Etapas

*Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0*

*LSD Fisher (Alfa=0.05)*

*Procedimiento de corrección de p-valores: No*

Etapas	PredLin	E.E.	Media	E.E.				
MP	8.53	0.26	5058.33	1312.41	A			
SECADO	6.85	0.26	946.00	245.50		B		
OZONO 15'	5.94	0.26	381.33	99.00			C	
OZONO 30'	4.74	0.26	114.33	29.73				D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)*

## LEVADURAS

### General

Familia	Enlace	Convergencia	Escala
Negative Binomial (0.6346)	log	Alcanzada	1.00

### Medidas de ajuste del modelo

N	AIC	BIC	logLik	Deviance
119	1820.34	1834.23	-905.17	146.30

*AIC y BIC menores implica mejor*

El Deviance/N es menor a 3. Es un buen ajuste del modelo

### Pruebas de hipótesis marginales (Wald) para los efectos fijos

Source	numDF	denDF	F-value	p-value
Etapas	3	115	53.26	<0.0001

Al menos una etapa difiere a las demás (p-value < 0.05).

### Levaduras - Medias ajustadas y errores estándares para Etapas

*Inversa de la función de enlace con efecto aleatorio=0*

*LSD Fisher (Alfa=0.05)*

*Procedimiento de corrección de p-valores: No*

Etapas	PredLin	E.E.	Media	E.E.	
MP	8.69	0.23	5961.03	1389.66	A
SECADO	7.31	0.23	1497.00	343.17	B
OZONO 15'	5.93	0.23	374.67	85.94	C
OZONO 30'	4.80	0.23	121.67	27.96	D

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)*

### ANEXO 3.- QUINUA DESTINADA PARA EXPORTACIÓN



*Figura 11.* Quinoa negra para exportación  
Fuente: Propia

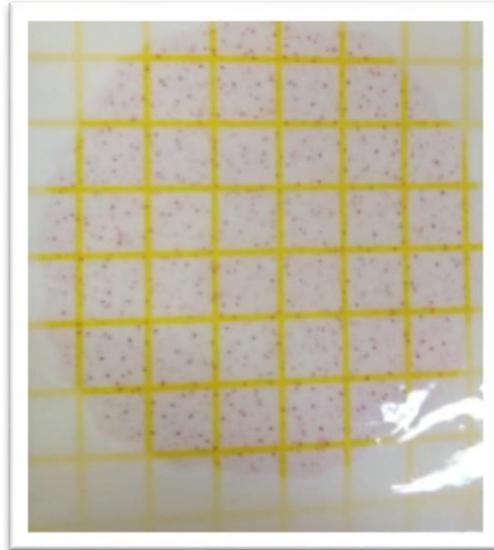


*Figura 12.* Quinoa roja para exportación  
Fuente: Propia

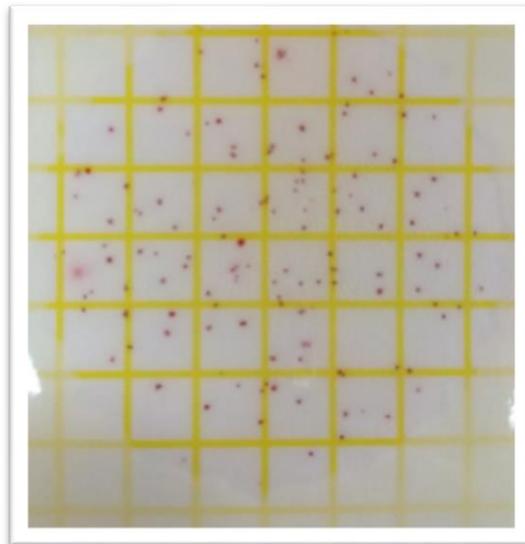


*Figura 13.* Quinoa blanca para exportación  
Fuente: Propia

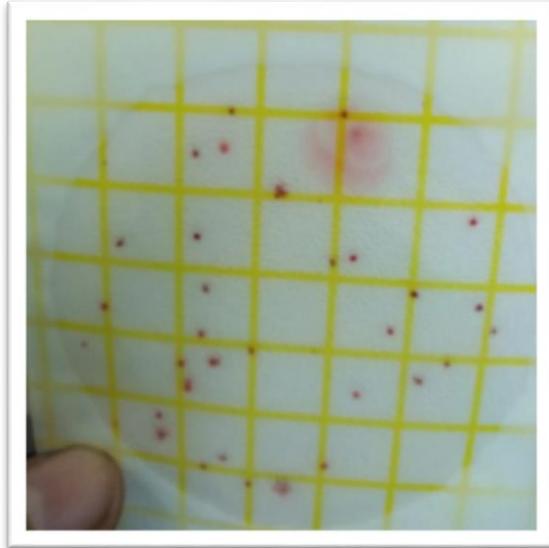
**ANEXO 4.- RECUENTO DE MICROORGANISMOS INDICADORES DE CALIDAD EN QUINUA PARA EXPORTACIÓN**



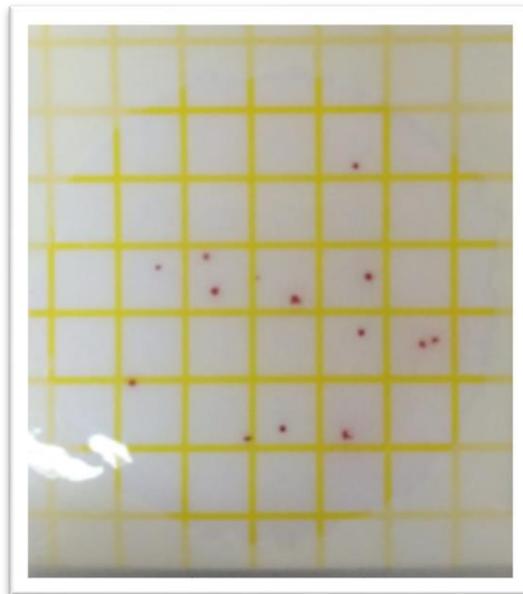
*Figura 14.* Recuento de Aerobios Mesofilos Totales en la etapa de Materia Prima  
Fuente: Propia



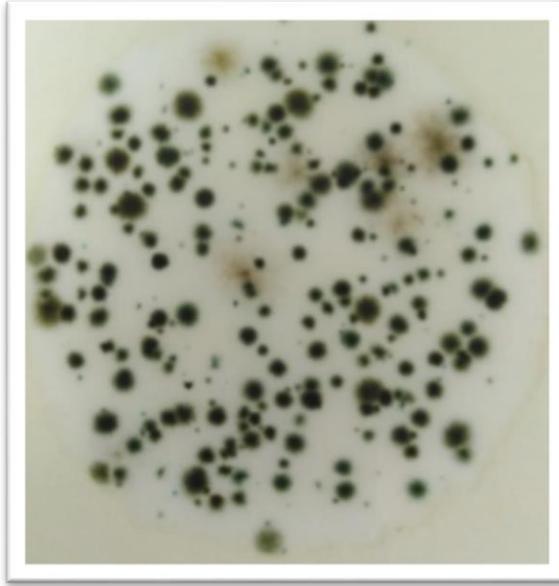
*Figura 15.* Recuento de Aerobios Mesofilos Totales posterior a la etapa de secado  
Fuente: Propia



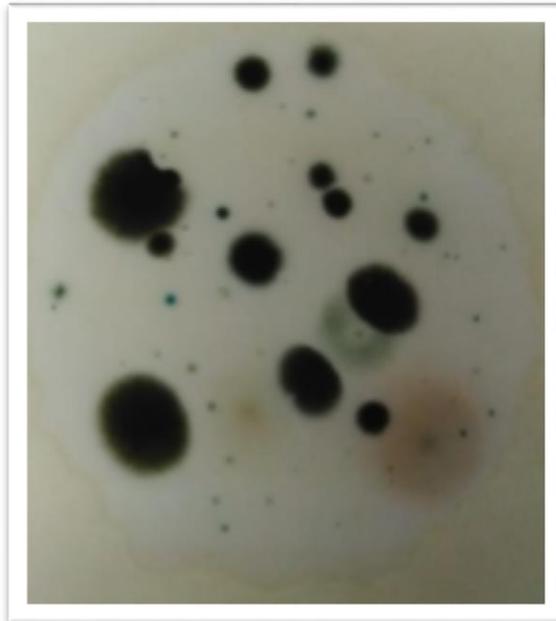
*Figura 16.* Recuento de Aerobios Mesofilos Totales posterior a la etapa de ozono 15 minutos  
Fuente: Propia



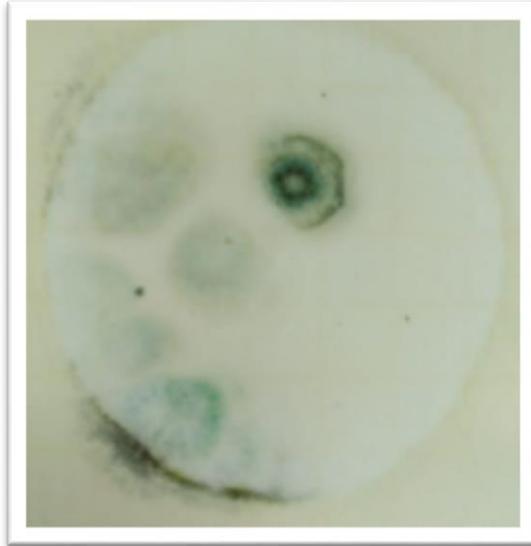
*Figura 17.* Recuento de Aerobios Mesofilos Totales posterior a la etapa de ozono 30 minutos  
Fuente: Propia



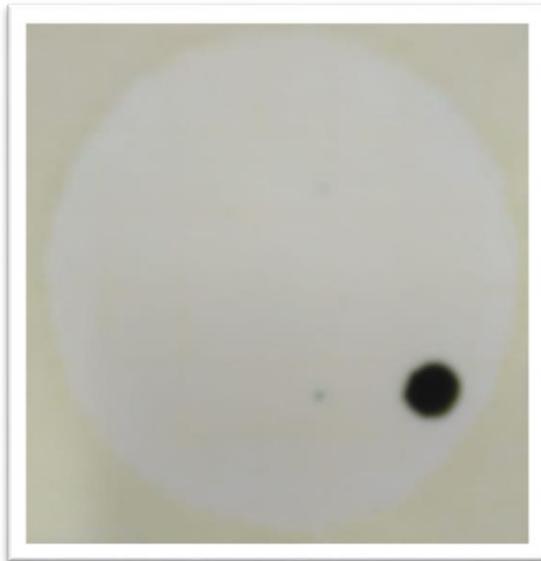
*Figura 18.* Recuento de Mohos y Levaduras posterior a la etapa de Materia Prima  
Fuente: Propia



*Figura 19.* Recuento de Mohos y Levaduras posterior a la etapa de Secado  
Fuente: Propia



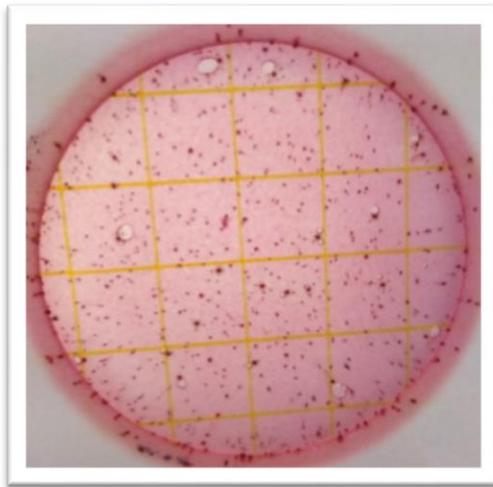
*Figura 20.* Recuento de Mohos y Levaduras posterior a la etapa de ozono 15 minutos  
Fuente: Propia



*Figura 21.* Recuento de Mohos y Levaduras posterior a la etapa de ozono 30 minutos  
Fuente: Propia



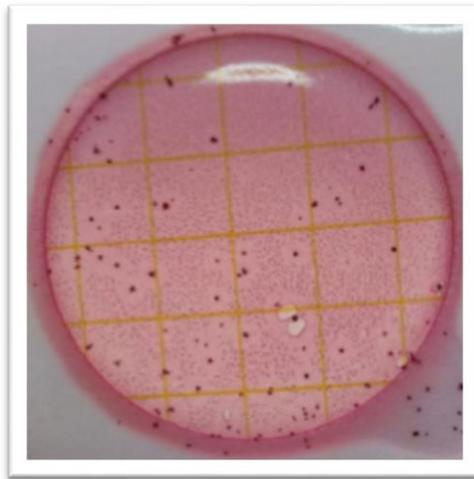
*Figura 22.* Recuento de Coliformes Totales y *Escherichia coli* posterior a la etapa Materia Prima  
Fuente: Propia



*Figura 23.* Recuento de Coliformes Totales y *Escherichia coli* posterior a la etapa de Secado  
Fuente: Propia



*Figura 24.* Recuento de Coliformes Totales y *Escherichia coli* posterior a la etapa ozono 15 minutos  
Fuente: Propia



*Figura 25.* Recuento de Coliformes Totales y *Escherichia coli* posterior a la etapa ozono 30 minutos  
Fuente: Propia