

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**



“PRODUCCIÓN DE HARINA DE QUINUA PIGMENTADA POR *Monascus purpureus* SUPLEMENTADA CON HIDROLIZADO DE PESCADO Y CLORURO DE SODIO”

**Presentada por:
FRANZ DEYVIS TUCTA HUILLCA**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima - Perú

2024

Tucta Huillca Franz Deyvis

INFORME DE ORIGINALIDAD

1%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

0%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

- 1** Eliana Pereira, Christian Encina-Zelada, Lillian Barros, Ursula Gonzales-Barron, Vasco Cadavez, Isabel C.F.R. Ferreira. "Chemical and nutritional characterization of Chenopodium quinoa Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food", Food Chemistry, 2019
Publicación <1%
- 2** Submitted to Universidad Nacional Agraria La Molina
Trabajo del estudiante <1%
- 3** repositorio.lamolina.edu.pe
Fuente de Internet <1%

Excluir citas Activo

Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias 10 words

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

**ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

**“PRODUCCIÓN DE HARINA DE QUINUA PIGMENTADA POR
Monascus purpureus SUPLEMENTADA CON HIDROLIZADO DE
PESCADO Y CLORURO DE SODIO”**

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE**

Presentada por:

FRANZ DEYVIS TUCTA HUILLCA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Dra Indira Betalleluz. Pallardel
PRESIDENTE

Dr. Marcial Silva Jaimes
ASESOR

Dr. Eduardo Morales Soriano
MIEMBRO

Mg.Sc. Beatriz Hatta Sakoda
MIEMBRO

Dr. Christian Encina Zelada
CO-ASESOR

DEDICATORIA

A mis padres por la comprensión y apoyo durante todo este tiempo enseñándome su amor incondicional y perpetuo.

A mi compañera de vida Evelyn que compartimos el amor por la ciencia avanzando cada día en el camino que nos hemos propuesto.

A Dios, por sus enseñanzas demostrándome que sus planes son perfectos.

AGRADECIMIENTOS

- ✓ Al Dr. Marcial Ibo Silva Jaimes, asesor de mi tesis, por darme la oportunidad de seguir participando en los proyectos a su cargo y todo el apoyo brindado durante la investigación.
- ✓ Al Dr. Christian Encina Zelada, co-asesor de mi tesis, por los consejos oportunos durante la investigación, el apoyo en el análisis estadístico y la interpretación de los resultados obtenidos en la tesis.
- ✓ A los miembros de mi jurado, la Dra. Indira Betalleluz, Mg. Sc. Beatriz Hatta y al Dr. Eduardo Morales por sus oportunas observaciones y comentarios en el desarrollo de mi tesis.
- ✓ A Ph.D. Úrsula Gonzales-Barrón y Ph.D. Vasco Cadavez por el apoyo brindado en mi estancia en Portugal y España, apoyándome en la investigación realizada.
- ✓ Al grupo de investigación del Centro de Investigação de Montanha (CIMO), por el apoyo brindado en mi estancia en Portugal.
- ✓ A los investigadores del Centro Tecnológico da Carne (CETECA) por el apoyo brindado en mi estancia en España.
- ✓ Al profesor Juan Gabriel Juscamaita Morales, por sus consejos y el apoyo brindado en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental-Biorremediación.
- ✓ A mis compañeros del Laboratorio de Biotecnología Ambiental-Biorremediación y biorremediación por el apoyo brindado.
- ✓ A mis amigos del Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Sonia, Cristina, Kevin y Gabriela.
- ✓ A mis amigos Natalia, Michel, Yessenia, Elton y Williams por su increíble amistad y el apoyo durante el avance de mi tesis.
- ✓ A la familia de Evelyn: Carmen, Alison, Bill y Pedro que me apoyaron durante todo este tiempo.
- ✓ Este trabajo es financiado por CONCYTEC-PROCIENCIA en el marco del Proyecto de Investigación Básica 2019-01 [contrato 383-2019- FONDECYT], denominado: “Síntesis de metabolitos: estatinas y pigmentos naturales a partir de la fermentación de quinua con *Monascus purpureus*, enriquecida con fuentes de Nitrógeno y NaCl”.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2. 1 <i>Monascus purpureus</i>	4
2. 1. 1. Taxonomía de <i>Monascus purpureus</i>	5
2. 1. 2. Reproducción de <i>Monascus purpureus</i>	6
2. 1. 3. Fermentación sólida de <i>Monascus purpureus</i>	8
2. 1. 4. Alimentos tradicionales de <i>Monascus purpureus</i>	12
2. 1. 5. Condiciones para un adecuado crecimiento	13
2. 1. 6. Metabolitos.....	14
2. 2 <i>Chenopodium quinoa</i>	17
2. 2. 1. Cultivo de quinua	17
2. 2. 2. Grano de quinua.....	19
2. 2. 3. Valor nutricional y composición química.....	19
2. 3 Hidrolizado de pescado.....	23
2. 4 Cloruro de sodio.....	25
2. 5 Espacio de color L*a*b*	25
2. 6 Diseño Box Behnken	26
III. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3. 1. Lugar de ejecución.....	28
3. 2. Cepa de interés.....	28
3. 2. 1. <i>Monascus purpureus</i>	28
3. 3. Materiales.....	28
3. 3. 1. Materias primas e insumos	28
3. 3. 2. Materiales de vidrio y plástico	28
3. 3. 3. Reactivos y medios de cultivo.....	29
3. 3. 4. Equipos.....	29
3. 4. Programas estadísticos	30
3. 5. Métodos	30
3. 5. 1. Producción de hongo y esporas.....	30
3. 5. 2. Producción de harina de quinua fermentada por <i>Monascus purpureus</i>	30

3. 5. 3. Procesamiento de la muestra.....	31
3. 5. 4. Análisis de color.....	31
3. 5. 5. Evaluación de la composición proximal.....	31
3. 5. 6. Evaluación de las propiedades tecnofuncionales	33
3. 5. 7. Análisis estadístico	35
IV.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	38
4. 1. Tiempo mínimo de fermentación por <i>M. purpureus</i>	38
4. 2. Optimización del proceso de fermentación en estado sólido de quinua por <i>Monascus purpureus</i>	50
4. 3. Composición proximal.....	65
4. 4. Propiedades tecnofuncionales	66
4. 4. 1. Capacidad de retención de agua (CRA) y Capacidad de absorción de aceite (CAA) ...	67
4. 4. 2. Actividad emulsionante (AE) y Estabilidad emulsionante (EE)	69
4. 4. 3. Capacidad de formación de espuma (CFE) y Estabilidad de la espuma (EEp) .	70
V. CONCLUSIONES	72
VI.RECOMENDACIONES.....	73
VII.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
VIII.ANEXOS.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: <i>Taxonomía de <i>Monascus purpureus</i></i>	6
Tabla 2: <i>Taxonomía de <i>Chenopodium quinoa</i></i>	17
Tabla 3: <i>Caracterización del grano de la quinua negra, roja y blanca</i>	20
Tabla 4: <i>Composición química del grano de quinua</i>	20
Tabla 5: <i>Comparación de la quinua con los alimentos más usados a nivel mundial</i>	22
Tabla 6: <i>Diseño experimental de Box-Behnken con catorce experimentos en total con un punto central</i>	35
Tabla 7: <i>Valores de color CIELAB (L^*, a^*, b^*, C^* y h°) durante 14 días de fermentación en sustrato sólido de los granos de quinua por <i>M. purpureus</i></i>	39
Tabla 8: <i>Valores de color CIELAB (L^*, a^*, b^*, C^* y h°) durante 14 días a distintas concentraciones de cloruro de sodio, en la fermentación de quinua con <i>M. purpureus</i></i> ...	41
Tabla 9: <i>Valores de color CIELAB (L^*, a^*, b^*, C^* y h°) al octavo día con distintas concentraciones de cloruro de sodio, en la fermentación de quinua por <i>M. purpureus</i></i>	43
Tabla 10: <i>Análisis de los parámetros de color L^*, a^*, b^*, C^* y h° mediante un Diseño Box Behnken de la fermentación en sustrato sólido de quinua usando <i>M. purpureus</i> con tres factores</i> :	50
Tabla 11: <i>Composición proximal de la harina de quinua fermentada y sin fermentar</i>	66
Tabla 12: <i>Propiedades tecnofuncionales</i>	67

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>Morfología de Monascus</i>	4
Figura 2: <i>Reproducción sexual y asexual de Monascus</i>	7
Figura 3: <i>Producción del arroz rojo en bandejas de bambú</i>	9
Figura 4: <i>Producción de la fermentación en sustrato sólido de Monascus</i>	10
Figura 5: <i>Estructura molecular de rubropuntamina, monascorubramina, rubropunctatina, monascorubrina, monascina y ankaflavina</i>	11
Figura 6: <i>Principales estructuras químicas de los pigmentos de Monascus</i>	14
Figura 7: <i>Estructura de la monacolina K y citrinina</i>	15
Figura 8: <i>Estructura de la molécula de citrinina</i>	16
Figura 9: <i>Distribución mundial de la producción de quinua</i>	18
Figura 10: <i>Sección longitudinal del grano de quinua</i>	19
Figura 11: <i>El diagrama del espacio de color CIELAB</i>	26
Figura 12: <i>Esquema del diseño experimental para la producción de harina de quinua fermentada por M. purpureus suplementada con hidrolizado de pescado y cloruro de sodio</i>	37
Figura 13: <i>Evaluación de la luminosidad (L*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con M. purpureus</i>	44
Figura 14: <i>Evaluación de las coordenadas cromáticas rojo/verde (a*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con M. purpureus</i>	45
Figura 15: <i>Evaluación de las coordenadas cromáticas amarillo/azul (b*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con M. purpureus</i>	45
Figura 16: <i>Evaluación de la intensidad del color (C*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con M. purpureus</i>	46
Figura 17: <i>Evaluación del ángulo de tono (h°) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con M. purpureus</i>	47
Figura 18: <i>Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación de la luminosidad (L*) en la harina de quinua fermentada por Monascus purpureus</i>	52

Figura 19: <i>Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación de las coordenadas rojo/verde (a*) en la harina de quinua fermentada por Monascus purpureus</i>	54
Figura 20: <i>Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación de las coordenadas amarillo/azul (b*) en la harina de quinua fermentada por Monascus purpureus</i>	56
Figura 21: <i>Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación del croma (C*) en la harina de quinua fermentada por Monascus purpureus</i>	58
Figura 22: <i>Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación del ángulo de tono (h°) en la harina de quinua fermentada por Monascus purpureus</i>	60

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua adicionado 0.05% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.....	84
Anexo 2.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua adicionado 0.1% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.....	85
Anexo 3.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua adicionado 0.2% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.....	86
Anexo 4.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua adicionado 0.4% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.....	87
Anexo 5.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.05% en matraces de 250 mL.....	88
Anexo 6.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.1% en matraces de 250 mL.....	89
Anexo 7.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.2% en matraces de 250 mL.....	90
Anexo 8.Fermentación de <i>Monascus purpureus</i> en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.4% en matraces de 250 mL.....	91
Anexo 9.Análisis estadístico de la optimización de L^*	92
Anexo 10.Análisis estadístico de la optimización de a^*	93
Anexo 11.Análisis estadístico de la optimización de b^*	94
Anexo 12.Análisis estadístico de la optimización de C^*	95
Anexo 13.Análisis estadístico de la optimización de h°	96
Anexo 14.Análisis estadístico de la proteína de la harina fermentada y no fermentada.....	97
Anexo 15.Análisis estadístico de la ceniza de la harina fermentada y no fermentada.....	98
Anexo 16.Análisis estadístico de la grasa de la harina fermentada y no fermentada.....	99
Anexo 17.Análisis estadístico de carbohidratos de la harina fermentada y no fermentada....	100
Anexo 18.Análisis estadístico de la humedad de la harina fermentada y no fermentada.....	101
Anexo 19.Análisis estadístico de la materia seca de la harina fermentada y no fermentada.....	102
Anexo 20.Análisis estadístico de la capacidad de retención de agua (CRA) para la harina fermentada y no fermentada.....	103

Anexo 21. Análisis estadístico de la capacidad de absorción de aceite (CAA) para la harina fermentada y no fermentada.....	104
Anexo 22. Análisis estadístico de la actividad emulsionante (AE) de aceite para la harina fermentada y no fermentada.....	105
Anexo 23. Análisis estadístico de la estabilidad emulsionante (EE) de aceite para la harina fermentada y no fermentada.....	106
Anexo 24. Análisis estadístico de la capacidad de formación de espuma (CFE) de aceite para la harina fermentada y no fermentada.....	107
Anexo 25. Análisis estadístico de la estabilidad de la espuma (EEp) de aceite para la harina fermentada y no fermentada.....	108

RESUMEN

Monascus purpureus es un buen productor de pigmentos que han sido útiles en la industria alimentaria desde hace muchos años. En diversas investigaciones se han utilizado residuos agroindustriales para producir los pigmentos, sin embargo, la desventaja es que para separarlos de sus matrices se requieren solventes poco amigables con el medio ambiente. Es por ello que se podría utilizar directamente la producción de pigmentos en una matriz alimenticia como la quinua, mejorando la producción mediante la adición de suplementos como hidrolizado de pescado y cloruro de sodio para obtener un buen rendimiento. El octavo día de fermentación fue el tiempo adecuado para la producción de harina roja, obteniéndose valores de 57.75, 26.15, 15.90, 30.49 y 31.48 para el análisis de L*, a*, b*, C* y h° respectivamente en la optimización a una concentración de cloruro de sodio de 0.14%, pH 5.39 y la adición de 0.88% de hidrolizado de pescado para la mejor harina roja producida. Además, se analizaron las propiedades tecnofuncionales que dieron como resultado una capacidad de retención de agua de $2,39 \pm 0,06$ g/g, capacidad de retención de aceite de 1.13 ± 0.01 g/g, capacidad emulsionante de $60.11 \pm 0.56\%$, estabilidad de la emulsión de $56.47 \pm 1.21\%$, capacidad espumante de $2 \pm 1\%$ y estabilidad de la espuma de $57.44 \pm 8.48\%$, mientras que la composición proximal resultó 27.99 ± 0.54 , 4.45 ± 0.43 , 7.45 ± 1.02 , 54.42 ± 1.46 , 5.68 ± 0.67 y 94.32 ± 0.67 para proteínas, cenizas, grasas, hidratos de carbono, humedad y materia seca respectivamente, obteniéndose una harina roja que puede ser aplicada en la industria alimentaria total o parcialmente.

Palabras clave: *Monascus purpureus*; hidrolizado de pescado, propiedad tecnofuncional, optimización, harina, pigmento.

ABSTRACT

Monascus purpureus is a good producer of pigments that have been useful in the food industry for many years, in many investigations agro-industrial waste has been used to produce the pigments, however the disadvantage is that to separate them from their matrices requires environmentally unfriendly solvents, which is why the production of pigments in a food matrix such as quinoa could be used directly, improving production by adding supplements such as fish hydrolysate and sodium chloride to obtain a good yield. The eighth day of fermentation was the right time for the production of red flour, obtaining values of 57.75, 26.15, 15.90, 30.49 and 31.48 for the analysis of L*, a*, b*, C* y h° respectively in the optimisation at a sodium chloride contraction of 0.14%, pH 5.39 and the addition of 0.88% of fish hydrolysate for the best red flour produced. In addition, the techno-functional properties were analysed, which resulted in water holding capacity of 2.39 ± 0.06 g/g, oil holding capacity of 1.13 ± 0.01 g/g, emulsifying capacity of $60.11 \pm 0.56\%$, emulsion stability of $56.47 \pm 1.21\%$, foaming capacity of $2 \pm 1\%$ and foam stability of $57.44 \pm 8.48\%$, while proximate analysis yielded 27.99 ± 0.54 , 4.45 ± 0.43 , 7.45 ± 1.02 , 54.42 ± 1.46 , 5.68 ± 0.67 and 94.32 ± 0.67 for protein, ash, fat, carbohydrate, moisture and dry matter respectively, resulting in a red flour that can be used in the food industry in full or in part.

Keywords: *Monascus purpureus*; fish hydrolysate; technofunctional property; optimization; meal; pigment.

I. INTRODUCCIÓN

Una de las principales propiedades sensoriales para que las personas sientan que un alimento es atractivo para su consumo es el color, una percepción óptica y química en nosotros, sin embargo, esta característica tiende a cambiar de manera rápida en los productos alimentarios que no obtuvieron un adecuado procesamiento y almacenamiento, siendo sensibles a distintos factores como el calor, oxígeno, luz y ácidos (Babitha *et al.*, 2007b).

La importancia de utilizar aditivos alimentarios para mejorar el color que se pierde es de mucha importancia para la industria alimentaria, además el uso de los colorantes sintéticos en los alimentos es una preocupación por parte de los consumidores ya que está relacionado con efectos secundarios indeseables como toxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad (Vendruscolo *et al.*, 2016). Asimismo, las personas en todo el mundo están cambiando sus hábitos alimenticios a la búsqueda de un estilo de vida más saludable que contempla alimentos que vayan más allá de una nutrición básica, buscando mayores beneficios extra para la salud y el bienestar (Admassu *et al.*, 2018).

La genero *Monascus* es productor de pigmentos naturales que van desde el amarillo brillante hasta el rojo intenso; el hongo es muy utilizado en los países de Asia durante muchos siglos, siendo China el mayor productor del fermentado de arroz rojo produciendo alrededor de 20 000 toneladas que son distribuidos en todo el mundo llegando a un aproximado de mil millones de consumidores, usado para preservar el sabor y color en diferentes matrices alimentarias como en la carne, salsa de pescado, vinos de arroz, soja roja, escabeche, etc. Además del uso dentro de la medicina tradicional China (Burke, 2015; Feng *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2019).

Los pigmentos producidos por *Monascus* son del grupo de las azafilonas que pueden aceptar una alta tensión de electrones generando piridonas los cuales muestran sus propiedades

cromóforas en la estructura del pigmento lo que le da la característica de su color, por estas razones los pigmentos de *Monascus* pueden ser usados como estabilizadores, emulsionantes, antimicrobianos, antioxidantes, antiinflamatorios (De Oliveira *et al.*, 2022).

El hongo *Monascus* necesita de fuentes de carbono, nitrógeno entre otros componentes para un correcto crecimiento y la producción de compuestos de interés, siendo la fuente de carbono importante en la formación de las estructuras carbonadas de los compuestos metabólicos secundarios, por otro lado, las fuentes nitrogenadas son esenciales para la producción de los pigmentos (Hong *et al.*, 2020).

El grano de quinua es una fuente importante de proteína y carbohidratos que ha sido utilizado como un sustento en las poblaciones indígenas durante miles de años. Hoy en día representa una dieta importante en todo el mundo considerado como un “super alimento” por todas sus cualidades, siendo considerado un alimento con propiedades terapéuticas que son importantes para el desarrollo de alimentos funcionales, con un perfil de aminoácidos, carbohidratos, lípidos, ácidos grasos, vitaminas y minerales, que por lo general superan a los cereales (Graf *et al.*, 2015; Ihsani, 2021; Pereira *et al.*, 2019).

La regulación ambiental hoy en día genera la necesidad de las industrias pesqueras a buscar una alternativa adecuada de tratamiento de los subproductos, es por ello que una alternativa es la producción de hidrolizados de pescado mediante hidrólisis enzimática, que son una fuente rica en proteínas generando péptidos pequeños y aminoácidos libres, los cuales son de fácil asimilación que son usados para la fortificación de diferentes productos alimentarios (Asaduzzaman & Chun, 2014).

Por otro lado, se ha demostrado que el cloruro de sodio favorece el crecimiento celular y la producción de pigmentos de *M. purpureus* inhibiendo la síntesis de compuestos indeseables en la fermentación (Zhen *et al.*, 2019). Los pigmentos de origen natural en su gran mayoría son inestables y presentan dificultades dentro del método de extracción donde suelen tener impurezas, arrastrando consigo compuestos orgánicos como proteínas y azúcares no deseados en los productos finales de la industria alimentaria (De Oliveira *et al.*, 2022).

Es por ello que se pretende utilizar a la quinua como una nueva matriz alimentaria fermentada por *Monascus purpureus*, agregando péptidos libres provenientes del hidrolizado

de pescado y NaCl para potenciar la producción de pigmentos dentro de la propia matriz alimentaria con el fin de crear un nuevo sustrato que sea una alternativa en la producción de alimentos más saludables.

Por todo lo antes mencionado, el objetivo general de la presente investigación fue producir harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus* suplementada con hidrolizado de pescado y cloruro de sodio. Mientras que los objetivos específicos fueron: (1) Determinar el tiempo mínimo de fermentación en sustrato sólido de los granos de quinua fermentados por *Monascus purpureus*. (2) Determinar los parámetros óptimos del cultivo de la fermentación en estado sólido de quinua por *Monascus purpureus*, (3) Evaluar la composición proximal y las propiedades tecnofuncionales de la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 *Monascus purpureus*

Los hongos del género *Monascus* son filamentosos y saprófitos los cuales fueron nominados por el científico de origen francés Van Tieghem en el 1895, siendo uno de los hongos más utilizados en los países asiáticos para la producción de un fermentado de arroz conocido con diferentes nombres como “moho de rojo”, “arroz rojo koji”, “ang-kak”, “akakoji”, “arroz rojo fermentado”, “arroz rojo kójico”, “arroz rojo koji”, “anka” o “RYR” (Bule *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2021). El hongo produce pigmentos en sus hifas y en las estructuras como el cleistotecio (Figura 1).

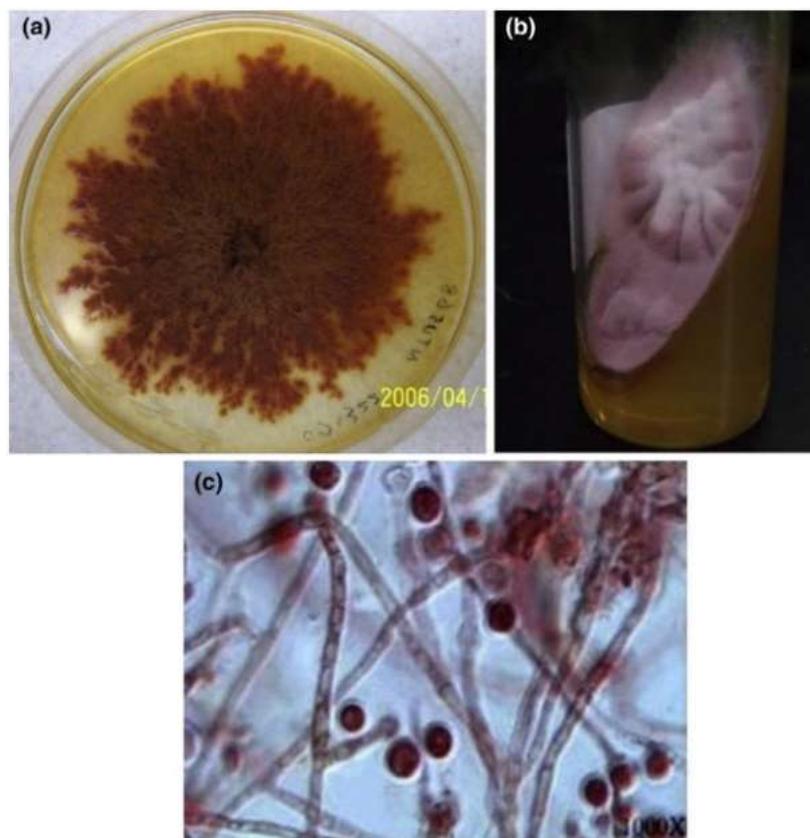


Figura 1: Morfología de *Monascus*. (a) cultivo en placas Petri, (b) cultivo en tubo inclinado, (c) visualización microscópica de *Monascus*.

Fuente: Pan *et al.*, (2014)

Se han encontrado documentos en diferentes países de Asia del proceso de la fermentación arroz que datan de los años 800 d.C., los cuales lo consideran como un alimento tradicional dentro de su gastronomía, además de ser un colorante alimentario, los productos de la fermentación también son incorporados en la medicina tradicional de estos países para aliviar los síntomas de indigestión, disentería y dolores (Bule *et al.*, 2019; Shao *et al.*, 2014).

Para la producción del fermentado de arroz se utiliza este cereal pulido que es llevado a cocción por vapor, luego de enfriarse es inoculado por el hongo dejando fermentar por varios días, mientras va tornando su color característico (Song *et al.*, 1997).

Durante el proceso de fermentación del hongo, se producen diferentes metabolitos de interés industrial, entre ellos los más conocidos son los pigmentos y la monacolina que son motivos de diferentes investigaciones, además de producirse otros metabolitos que pueden ser usados en distintas áreas como el ácido gamma amino butírico, esteroides, isoflavonas, ácidos grasos insaturados, proteasas y esterasas (Shao *et al.*, 2014).

2. 1. 1. Taxonomía de *Monascus purpureus*

Dentro de la Colección Americana de Cultivos Tipo conocido por sus siglas en inglés ATCC se encuentra un registro de más de treinta tipos de cepas siendo los más representativos al género *Monascus*: *M. frigidanus*, *M. purpureus*, *M. pilosus* y *M. ruber* los cuales son encontrados en productos de fermentación; en la Tabla 1 se observa que el género *Monascus* pertenece al filo Ascomycota y la familia de las Monascaceae (Higa *et al.*, 2020; Ma *et al.*, 2000).

En las investigaciones del género *Monascus* se han llegado a cultivar a temperaturas que van desde los 30 a 35°C como óptimas para su crecimiento, además de ser considerado como hongo aeróbico, saprófito y mesófilo, posee un metabolismo respiro-fermentativo es decir que en condiciones de cultivo anaeróbicas y con un exceso de glucosa el hongo puede producir etanol considerándose dentro de la categoría de *Cabtree* negativo con una respiración limitada (Lima *et al.*, 2023).

Tabla 1: Taxonomía de *Monascus purpureus*.

Dominio	Eukarya
Reino	Fungi
Sub-reino	Dikarya
Filo	Ascomycota
Sub-filo	Pezizomycotina
Clase	Eurotiomycetes
Sub-clase	Eurotiomycetes
Orden	Eurotiales
Familia	Monascaceae
Género	<i>Monascus</i>
Especie	<i>Monascus purpureus</i>

fuelle: velázquez, 2013

2. 1. 2. Reproducción de *Monascus purpureus*

El género *Monascus* pertenece a un grupo de hongos que son homotálicos, es decir que puede reproducirse de forma sexual mediante la formación de cleistotecio que contiene las ascosporas y una reproducción asexual mediante la formación de conidios, estos tipos de reproducción con esporas asexuales o sexuales es una estrategia de reproducción muy efectiva para su crecimiento (Wu *et al.*, 2021).

El hongo *Monascus* tiene reproducción sexual y asexual como se puede observar en la Figura 2 donde en la reproducción sexual se observa que los anteridios (an) son células multinucleadas que tienen forma de tubo extendido, en la parte inferior de estos anteridios se va formando el ascogonio (ag), el ascogonio formado se va separando de la parte inferior y superior dando origen al tricógino, luego se fusionan el anteridio y tricógino, mientras tanto los núcleos del tricógino van desapareciendo antes del ingreso de los núcleos que provienen del ascogonio, una vez donados los núcleos por los anteridios estos se marchitan, los núcleos que se encuentran en el tricógino migran hacia el ascogonio por los pequeños poros, el ascogonio comienza a agrandarse y se comienzan a juntar los núcleos en pares, estos empiezan a formar 11 hifas ascógenas (ah) que formarán una pequeña cantidad de ascos; por debajo del órgano formado se encuentran las células de la pared peridial (p), estas forman a las hifas ascógenas descubiertas que son de una o dos capas formando un asco (a) totalmente cerrado, en ese momento la membrana del asco y las hifas ascógenas desaparecen. Por último, las ascosporas que se encuentran aisladas tienden a depositarse en el ascogonio

y son liberadas mediante la regeneración de las paredes celulares peridiales, comenzando un nuevo ciclo. La reproducción asexual se da mediante los conidios que van formando las hifas que posteriormente formarán el micelio y las estructuras (Pan & Hsu, 2014).

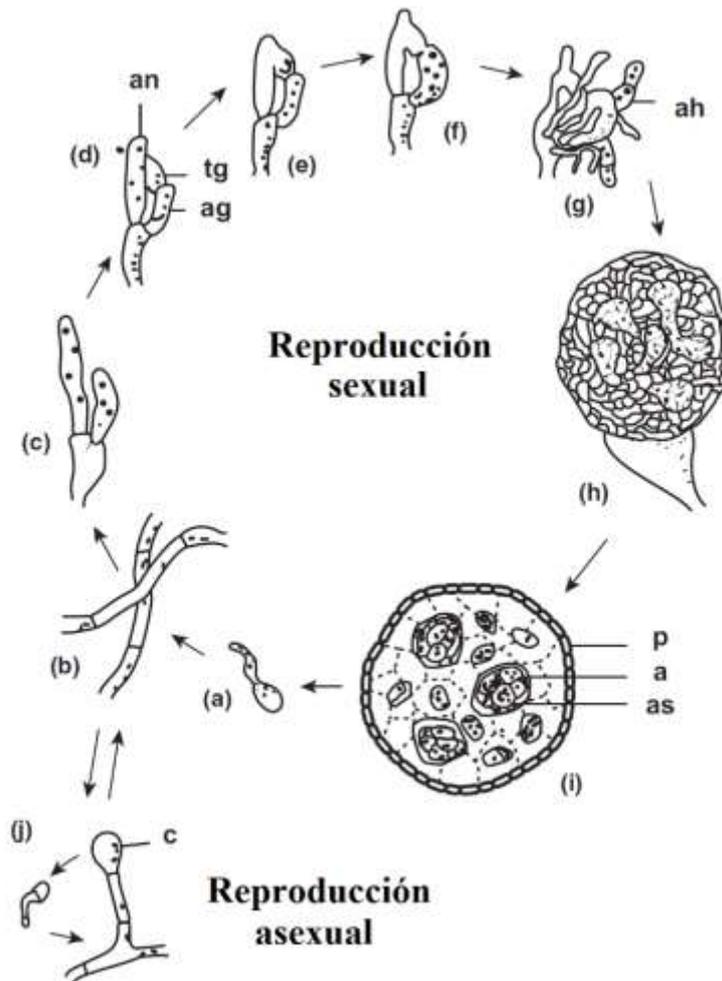


Figura 2: Reproducción sexual y asexual de *Monascus*. Anteridio (an), Ascogonio (ag), Tricógeno (tg), Hifas ascógenas, Células de la pared peridial (p), Ascospora (as), Conidios (c); Ascospora forma hifas vegetativas (1-2), Ascospora forma hifas vegetativas (3-7), Ascogonio maduro (8-9), Reproducción asexual de conidios unicelulares (10)

Fuente: Pan & Hsu, (2014)

2. 1. 3. Fermentación sólida de *Monascus purpureus*

El proceso de fermentación en estado sólido es usado como una tecnología adecuada para la producción de pienso para animales, biocombustibles, alimentos, productos industriales y químicos. Además de ser importante en los bioprocesos para la biolixiviación, biorremediación, biopulping, entre otros, ofreciendo distintas ventajas (Babitha *et al.*, 2007b).

Una de las alternativas más eficaces para fermentar hongos es mediante el uso de la fermentación en estado sólido frente a la fermentación en estado líquido, donde el sustrato para la fermentación sólida debe contener los nutrientes necesarios para un desarrollo óptimo del hongo, este sustrato le sirve como un apoyo en el anclaje de las hifas durante su crecimiento, por otro lado estudios distintos han señalado que el uso de este tipo de fermentación genera un hábitat propicio para el desarrollo del hongo, dando las condiciones adecuadas resultan beneficiosas en la producción de los metabolitos de interés a un bajo costo del proceso (Velmurugan *et al.*, 2011).

Los procesos de fermentación en estado sólido se caracterizan por la ausencia de agua libre, pero es un requerimiento esencial del microorganismo que el sustrato tenga la suficiente humedad para poder aumentar su crecimiento favoreciendo su metabolismo (Slaný *et al.*, 2020).

Cuando se trabaja con fermentados sólidos, se debe considerar de suma importancia que el sustrato tenga los nutrientes necesarios para un correcto desarrollo de los microorganismos, además de que este sustrato sea lo suficientemente sólido para dar soporte al desarrollo del hongo (Babitha *et al.*, 2007b).

Durante los procesos fermentativos el sustrato es un elemento indispensable en el proceso, pero a su vez los parámetros como la temperatura, pH y oxígeno contribuyen a regular los procesos fermentativos tanto en fermentaciones en estado sólido o fermentación sumergida, siendo de consideración entender estos parámetros para garantizar una buena producción de los metabolitos deseados (Srianta *et al.*, 2016).

Los pigmentos producidos por este hongo se han usado como colorante natural en diferentes alimentos entre ellos carnes, aceites comestibles, galletas, pan, pasteles, bebidas entre otros (Srianta *et al.*, 2016).

a) Producción del fermentado de arroz en la antigüedad

Hace cientos de años la producción del arroz rojo por *Monascus* en China se preparó utilizando granos de arroz los cuales eran triturados y descascarados hasta obtener un arroz limpio y selecto, estos granos se remojaran por un periodo de siete días hasta percibir un olor putrefacto, luego de ello son llevados a los ríos cercanos a las montañas con la finalidad de remojarlos hasta disminuir el mal olor, después el arroz es cocido con vapor por un tiempo determinado, posteriormente es enfriado en agua fría para luego llevarlo nuevamente a vapor hasta tener una adecuada consistencia dejándolo reposar hasta que se enfríe, una vez enfriado se adiciona el inóculo que proviene de un preparado de arroz rojo con agua de alumbre, siendo mezclado constantemente hasta una buena homogeneización, luego es llevado a bandejas de bambú (Figura 3) dejándolo reposar en un ambiente con techos altos con acceso directo al sol del atardecer, las bandejas se agitan cada dos horas durante todo el día hasta la fecha de su cosecha (Song *et al.*, 1997).

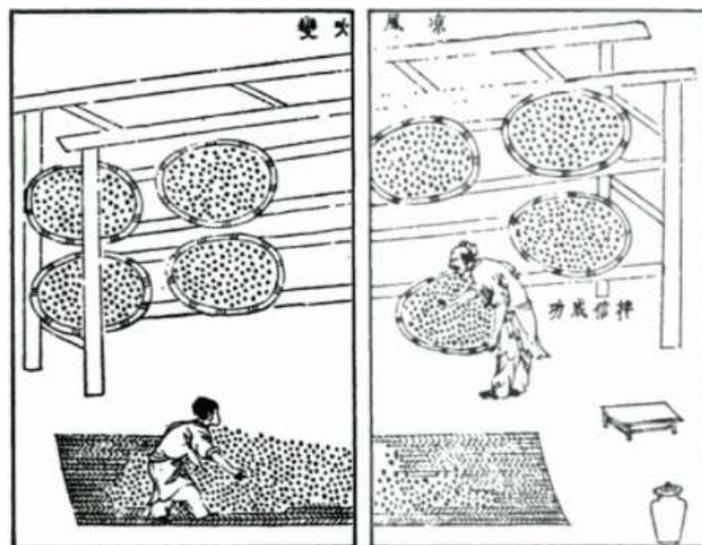


Figura 3: Producción del arroz rojo en bandejas de bambú

Fuente: Song *et al.*, (1997)

b) Producción del fermentado de arroz en la actualidad

Este proceso de fermentación, es un proceso común en la naturaleza, donde los ambientes con una humedad suficiente y el sustrato adecuado favorecen el desarrollo de los microorganismos, es por ello que se entiende que estos procesos fueron tomados desde la antigüedad para basarse en los procesos modernos fermentativos. Estos procesos son usados con frecuencia con los residuos de la agroindustria, donde se llevan los requisitos mínimos en el gasto de energía, agua siendo respetuosos con el medio ambiente resolviendo los problemas de desechos y favoreciendo la producción de compuestos para la industria (Babitha *et al.*, 2007a).

En la actualidad la producción del arroz rojo mediante la fermentación sólida con *Monascus* se utiliza el arroz no glutinoso (*Oryza sativa* L.) como fuente de sustrato (Figura 4), este arroz se lava con abundante agua y luego se vierte a los recipientes ZENG donde se cocer a vapor, una vez cocido se deja enfriar para agregar el inóculo de *Monascus* que proviene de un lote de alta calidad, luego de ello se homogeniza bien, estos recipientes son llevados a temperatura de 25-28°C durante 2 a 4 semanas, durante todo este tiempo la mezcla debe seguirse homogenizando y en caso que faltara agua se debe adicionar. Una vez pasado el tiempo de fermentación y que el fermentado haya tomado un color rojo intenso se procede a llevar a reservorios y continuar con otros procesos según sea su finalidad como productos (Chen *et al.*, 2015).



Figura 4: Producción de la fermentación en sustrato sólido de *Monascus*

Fuente: Traducido de Chen *et al.*, (2015)

Para preparar los fermentados de arroz se comienza elaborando la “Semilla Koji”, el sustrato adecuado en este cultivo es usar un arroz alargado no glutinoso, este arroz es lavado de forma continua, posterior a ello se deja remojando por un periodo de 24h y luego se escurre. Este arroz es cocido y mientras se enfría se adiciona un acidificante al medio que puede ser vinagre o una solución de alumbre. Posteriormente se adiciona la “Semilla Koji” mezclando homogéneamente y se deja incubar a temperatura de 32°C aproximadamente. Durante el tiempo de fermentación se sigue homogeneizando, en caso de ser necesario se procede a agregar agua para mantener la humedad. En promedio se deja fermentar durante dos semanas en la cual se observará al pasar de los días que el arroz se tornará a un color rojo intenso (Bule *et al.*, 2019).

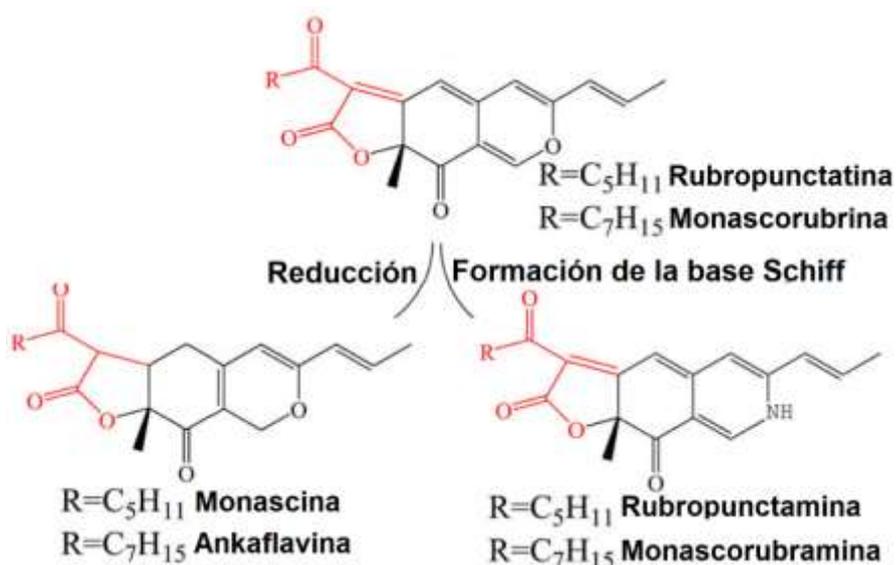


Figura 5: Estructura molecular de rubropuntamina, monascorubramina, rubropunctatina, monascorubrina, monascina y ankaflavina.

Fuente: Traducido De Chen *et al.*, (2015)

Dentro de la producción del fermentado con *Monascus*, el hongo produce diferentes tipos de metabolitos secundarios siendo los de mayor importancia los pigmentos (Figura 5), estos pigmentos son una mezcla de compuestos y los más conocidos y estudiados son los de color rojo (rubropuntamina y monascorubramina), naranja (rubropunctatina y monascorubrina) y amarillo (monascina y ankaflavina) (Srianta *et al.*, 2016).

2. 1. 4. Alimentos tradicionales de *Monascus purpureus*

Durante los procesos tecnológicos y el almacenamiento de los alimentos se van perdiendo parte de su apariencia original, es por ello que se adiciona un pigmento para que intensifiquen el color natural, con ello aumentar su aceptabilidad en el mercado. Los consumidores presentan una atención especial a color del alimento que van a adquirir, convirtiéndose el color en un atributo sensorial muy importante inclusive antes de una degustación (Vendruscolo *et al.*, 2016).

En los países orientales se fermenta *Monascus* en granos de arroz que luego del proceso de incubación se muelen para ser usados como pigmentos alimentarios (Babitha *et al.*, 2007b). Durante mucho tiempo las especies del género *Monascus* son utilizadas para la elaboración de alimentos tradicionales como los vinos tintos, tofu, carnes, salchichas, jamones y otros productos. Así como los pigmentos que provienen de fuentes biológicas (Haque *et al.*, 2016).

Dentro de los países de Asia, es común utilizar el hongo *Monascus* para poder producir alimentos y bebidas alcohólicas mediante el proceso de fermentación, dentro de estas bebidas la más representativa en China es el vino de arroz rojo conocido como “Hon Jju” (Takeshita *et al.*, 2016). En Japón se utiliza el pigmento rojo producido por *Monascus* en distintos alimentos como el pescado picado rojo y la carne de cangrejo artificial, con el fin de darle un color atractivo (Takeshita *et al.*, 2016).

La aplicación de los pigmentos de *Monascus* es usarse como colorante alimentario, complemento alimentario, medicina tradicional de los países asiáticos; en el caso del colorante alimentario, se viene utilizando los colores rojos y amarillos en el procesamiento de carne, pescado, aceite comestible, galletas, pan, pasteles y bebidas (Bule *et al.*, 2019; Srianta *et al.*, 2016).

Las carnes procesadas, el jamón, salchicha, ketchup son alimentos a los cuales se les adiciona colorantes alimentarios para hacerlos más atractivos. Por ejemplo, en investigaciones se usaron salchicha de Toulousa, salchicha seca, salchicha de Estrasburgo y paté de hígado, que fueron coloreados con pigmentos provenientes de *Monascus*, los cuales demostraron ser más atractivos con respecto a los aditivos tradicionales, ya que estos pigmentos naturales daban un mejor sabor y textura a los productos (Vendruscolo *et al.*, 2016). En investigaciones

recientes se han usado los pigmentos en salsas, donde demostraron tener una estabilidad a condiciones de pH básicos y cercanos a la neutralidad (Vendruscolo *et al.*, 2016).

Los pigmentos no solo son utilizados por su color, también han mostrado consigo bioactividades como antiinflamatorias, anticancerígenas, antimicrobianas, antidiabetes y antiobesidad (Srianta *et al.*, 2016).

2. 1. 5. Condiciones para un adecuado crecimiento

Los microorganismos en general requieren condiciones específicas para un correcto desarrollo, en el caso de las especies de *Monascus*, las condiciones adecuadas pueden ayudar para que el cultivo produzca compuestos de interés industrial. Entre algunas de estas condiciones de cultivos específicas son la temperatura, pH, oxígeno y nutrientes (Pineda *et al.*, 2016).

- Temperatura: En diferentes estudios se han determinado que la producción de pigmentos de *Monascus spp.* se lleva a cabo a 30°C como temperatura óptima (Velázquez *et al.*, 2016).
- pH: Un factor importante en la producción de pigmentos de *Monascus spp.* es el pH inicial, las investigaciones realizadas a distintos pH en el medio señalan que el color amarillo se produce en mayor cantidad a pH 5.0 y 6.0 (Velázquez *et al.*, 2016).
- Oxígeno: *Monascus spp.*, es incapaz de crecer en medios anaerobios, aunque puede crecer en medios limitados de oxígeno (Pineda *et al.*, 2016).
- Fuente de nutrientes: La composición de nutrientes del medio de cultivo es indispensable para un adecuado desarrollo del microorganismo, siendo los carbohidratos compuestos importantes en el aumento de biomasa y la fuente nitrogenada en la producción de pigmentos (Pineda *et al.*, 2016).

Las especies de *Monascus* no puede crecer sin presencia de oxígeno es decir no son microorganismos anaeróbicos. Con sustratos ricos en carbonos estos hongos pueden crecer en condiciones limitadas de oxígeno, produciendo consigo etanol y CO₂, pero con una menor producción de pigmentos, mientras que si se aumenta el flujo de oxígeno esta producción de etanol tiende a disminuir y aumenta la producción de pigmentos (De Carvalho *et al.*, 2006).

2. 1. 6. Metabolitos

a) Pigmentos

Los pigmentos (Figura 6) que provienen de fuentes naturales como los producidos por *Monascus* vienen tomando un mayor valor económico en el mundo como agentes para dar color, teniendo múltiples ventajas para la industria, como ser de fácil manejo, producción con sustratos de bajo costo, son solubles en solventes de bajo costo como el agua y el etanol, además de poseer diferentes metabolitos con principios bioactivos y ser seguros cuando se tienen las condiciones adecuadas (Vendruscolo *et al.*, 2016).

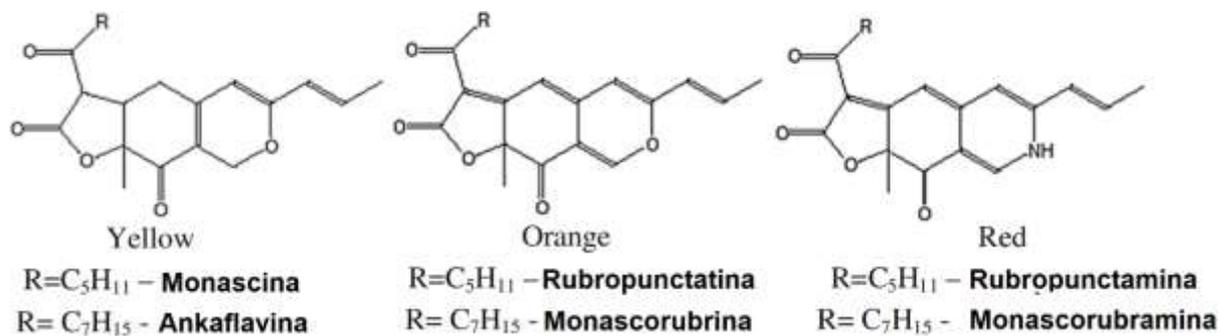


Figura 6: Principales estructuras químicas de los pigmentos de *Monascus*.

Fuente: Traducido De Vendruscolo *et al.*, (2016)

El género *Monascus* tiene distintas rutas metabólicas para poder convertir el sustrato orgánico en metabolitos de interés como los pigmentos, alcoholes, agentes antibióticos, antihipertensivos, enzimas, ácidos grasos, compuestos de sabor, floculantes, cetonas, ácidos orgánicos, antioxidantes, vitaminas, metabolitos antimicrobianos, sustancias análogas a la lovastatina (Haque *et al.*, 2016; Vendruscolo *et al.*, 2016).

Entre sus rutas puede producir compuestos bioactivos como policétidomonacolininas, ácido dimerómico, isoflavonas, ácido γ aminobútrico y pigmentos, siendo los pigmentos del grupo de las azafilonas que provienen de la biosíntesis de policétidos donde las enzimas policétidos sintasa y los ácidos grasos sintasa son las que juegan un papel importante en esta vía, teniendo 6 metabolitos que se aplican como aditivos alimentarios y en productos farmacéuticos como Monascina y ankaflavina (color amarillo), monascorubrina y rubropunctatina (color naranja) y rubropunctamina y monascorubramina (color rojo) (Bule *et al.*, 2009; Haque *et al.*, 2016; Srianta *et al.*, 2016). En el metabolismo de los pigmentos la

fuentes de carbono y nitrógeno son importantes para modular la producción de pigmentos (Hong *et al.*, 2020; Srianta *et al.*, 2016).

b) Monacolina K

Uno de los metabolitos de interés industrial en la fermentación de *Monascus* es la producción de la monacolina K (Figura 7), la cual es considerada una estatina que inhibe por competencia enzimática ya que tiene una alta afinidad a la enzima HMG-CoA reductasa, la inhibición de esta enzima ha demostrado que en estudios con animales ha generado un efecto hipolipidémico *in vivo* durante la disminución de los triglicéridos, colesterol total, lipoproteínas de baja densidad y el aumento de la lipoproteína de alta densidad, por otra parte se considera a esta estatina propiedades antiinflamatorias, reducción de trombosis e inclusive reducir el riesgo a padecer Alzheimer (Patakova, 2013; Wu *et al.*, 2021).

La monacolina K es una estatina bioactiva que es análogo a la monacolina producida por *Aspergillus terreus* la cual se encuentra aprobada por la FDA como una lovastatina; adicional a ello el género *Monascus* también produce otro tipo de monacolinas como la J, L, M y X, estos metabolitos podrían variar dependiendo de las fuentes que se utilicen para el crecimiento del hongo (Bule *et al.*, 2009).

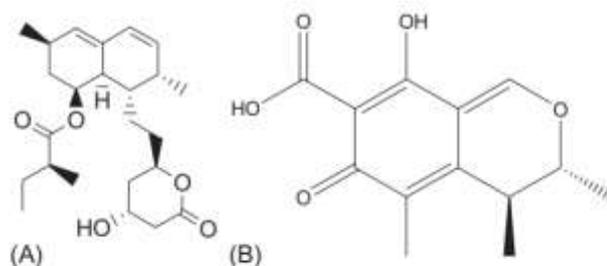


Figura 7: Estructura de la monacolina K y citrinina

Fuente: Bule *et al.*, (2009).

c) Citrinina

La citrinina (Figura 8) es una micotoxina producida por algunos hongos durante la fermentación, es un compuesto policétido que inicialmente en el año 1995 se indicó que las especies de *M. purpureus* y *M. ruber* lo producían, luego de ello se descartó dentro de esta clasificación de producción a *M. ruber* ya que no contenía el gen *pksCT* que es esencial para

la síntesis del policétido sintasa que interactúa en la síntesis de citrinina encontrado en *M. purpureus*, sin embargo en las últimas investigaciones realizadas a *M. ruber* se encontró que produce una micotoxina que es análogo a la citrinina (Patakova *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2015).

En investigaciones realizadas sobre la producción de citrinina en la fermentación de *M. purpureus* se ha determinado que tienen efectos genotóxicos y citotóxicos en cultivos de células de mamíferos, pero también se ha descrito que es un buen antimicrobiano para ciertas bacterias Gram positivas y Gram negativas (Tu *et al.*, 2016).

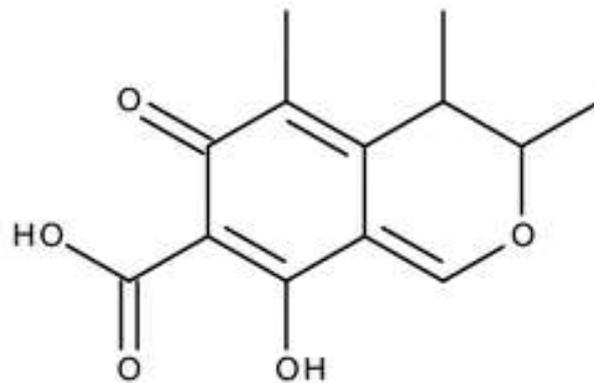


Figura 8: Estructura de la molécula de citrinina

Fuente: Patakova *et al.*, (2013).

Existe preocupación por la citrinina dentro de los productos elaborados con el arroz rojo o mediante una fermentación con el hongo *Monascus* es por ello que la Unión Europea y Estados Unidos cesarán por un tiempo su uso, mientras que en los países de Asia se mantuvo la producción del fermentado pero con un control estricto de los niveles de citrinina en sus productos, donde consideraron un límite del compuesto por ejemplo en Japón es de 200 µg/kg, mientras que en Corea del Sur es 50 µg/kg, por otro lado la Unión Europea considera 100 µg/kg de citrinina por kg de producto (Husakova *et al.*, 2021; Patakova *et al.*, 2013).

Otros metabolitos secundarios producidos por *Monascus* se están usando en investigaciones como antifatiga, antidiabetes, antioxidante, antihipertensivo, antiinflamatorio, neuroprotector, antihiperlipidémico, antitumoral, antibiosis, etc. Han sido probados en más de veinte alimentos, no encontrándose efectos adversos (Bule *et al.*, 2009).

2.2 *Chenopodium quinoa*

El año 2013 se consideró por la Naciones Unidas como el “Año internacional de la Quinoa”, se sabe que muy pocas plantas han recibido esta denominación; este cultivo es considerado un grano por excelencia por su gran aporte proteico además de que puede ser cultivado en diferentes agroecosistemas, siendo domesticado por la cultura precolombina hace más de 7000 años. Hoy en día se conoce que su valor nutricional es alto por contener diferentes tipos de aminoácidos esenciales, fibra, lípidos, carbohidratos, vitaminas y minerales, además de ser libre en gluten y aportar un bajo índice glucémico (Jarvis *et al.*, 2017). La quinoa pertenece a la familia Amaranthaceae y división Magnoliophyta (Tabla 2) como características importantes de su taxonomía (Campos, 2018).

Tabla 2: Taxonomía de *Chenopodium quinoa*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Caryophyllales
Familia	Amaranthaceae
Subfamilia	Chenopodioideae
Género	<i>Chenopodium</i>
Especie	<i>Chenopodium quinoa</i> .
Nombre común:	Quinoa, quinoa

Fuente: Campos, (2018)

2.2.1. Cultivo de quinoa

Chenopodium quinoa Willd., es una especie alotetraploide ($2n = 4X = 36$), la cual es considerado un cultivo muy nutritivo que se puede adaptar a diferentes agroecosistemas, donde su domesticación se pudo haber originado hace más de 7000 años por las culturas precolombinas (Jarvis *et al.*, 2017).

La quinua es una planta de las regiones andinas considerada como un pseudocereal, esta especie se cultivó en diferentes altitudes, teniendo una producción en las zonas por debajo del nivel del mar y las mesetas altas del altiplano en diferentes condiciones climáticas, ya que esta especie tiene una amplia diversidad genética que le permite adaptarse a diferentes ambientes adversos (Nowak *et al.*, 2016).

La quinua es un alimento tradicional utilizada por su alto valor nutritivo además de ser representativa para los pueblos indígenas durante siglos, cultivándose en Perú, Bolivia, Ecuador, Argentina, Chile y Colombia (Figura 9), siendo su uso de gran importancia en la alimentación de algunos países de Europa que han introducido dicha siembra en los últimos años, aun así, dicha producción es baja en comparación a los principales países de producción (Vilcacundo & Hernández-Ledesma., 2017).

Los países con mayor producción y exportación de los granos de quinua en el mundo son Perú y Bolivia, seguido por Ecuador, Estados Unidos, Canadá, Chile, Argentina, Colombia y México, aunque este cultivo puede encontrarse en diferentes regiones en el mundo. Colombia por ejemplo produce este grano en los alrededores de Bogotá, Ecuador en sus zonas montañosas y en el Perú se cultivan en diferentes regiones. En el diagrama de la izquierda se observan las variedades productivas dentro del mejoramiento genético del rango de su distribución (Medina *et al.*, 2010; Ruiz *et al.*, 2014).



Figura 9: Distribución mundial de la producción de quinua.

Fuente: Traducido de Ruiz *et al.*, (2014).

El consumo de este grano es de aproximadamente 5000 años, siendo de diferentes estructuras, algunas pequeñas, redondas o planas además de diferenciarse del color entre negro a gris, amarillo y rojo. En algunos pueblos es consumido durante el desayuno como un alimento básico en la dieta, así como en la dieta cotidiana que es el maíz y la papa (Prego & Otegui., 1998).

2. 2. 2. Grano de quinua

El grano de quinua tiene la característica de tener un embrión periférico considerado como campilótrofo teniendo un cuerpo basal que es el lugar del tejido de almacenamiento o también llamado perispermo. Una vez que madura la semilla de quinua (Figura 10) el endospermo se encuentra por la zona micropilar del grano, teniendo entre uno o dos capas del tejido celular (Prego & Otegui., 1998).

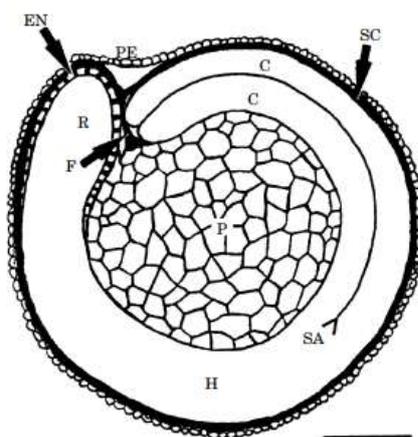


Figura 10: Sección longitudinal del grano de quinua. El pericarpio (PE), Hipocótilo (H), cotiledones (C), Endospermo (EN), Funículo (F), Perispermo (P), Pericarpio (PE), Raíz (R), Disparar ápice (SA). Barra 500 μ m.

Fuente: Prego & Otegui, (1998)

2. 2. 3. Valor nutricional y composición química

La quinua es fuente de aminoácidos importantes como la lisina, treonina y metionina, estos aminoácidos se encuentran en menor proporción en los cereales, además la quinua es una fuente de minerales y vitaminas importantes para una correcta alimentación. Es por ello que se considera un adecuado sustituto total o parcial en la producción de panes, galletas, crepes, etc. Por otro lado, la quinua es considerada un alimento de sustitución total en la producción

de alimentos para las personas celiacas como buena alternativa a los cereales de uso común (Stikic *et al.*, 2012).

Las investigaciones realizadas por Pereira *et al.* (2019) determinaron el valor nutricional de tres diferentes variedades de quinua (negra, roja y blanca), datos mostrados en la Tabla 3, donde observaron que el principal macronutriente es el carbohidrato seguido de las proteínas, grasas y cenizas.

Tabla 3: Caracterización del grano de la quinua negra, roja y blanca

Tipo de muestra	Humedad (g/100g fw)	Ceniza (g/100g dw)	Proteínas (g/100g dw)	Grasa (g/100g dw)	Hidratos de carbono (g/100g dw)	Energía (kcal/100g dw)
Negro	9,7 ± 0,3	2.7 ± 0.2	14,6 ± 0,4ab	6,8 ± 0,3	76,1 ± 0,5a	424 ± 2
Rojo	9,6 ± 0,2	2.8 ± 0.2	15,6 ± 0,4a	6.4 ± 0.3	75,3 ± 0,5b	420 ± 2
Blanca	9,3 ± 0,2	2.6 ± 0.1	14,4 ± 0,3b	6,0 ± 0,2	77,0 ± 0,3a	420 ± 1

Fuente: Pereira *et al.*, (2019)

Pereira *et al.* (2019) también analizaron la composición química de los granos de quinua (negra, roja y blanca) que son presentados en la Tabla 4, siendo encontrados los azúcares como arabinosa, fructosa, glucosa y sacarosa, de los cuales la sacarosa es el azúcar principal de todos los tipos de quinua analizados, además sugieren que las semillas independientemente del tipo de color tienen un índice glucémico bajo.

Tabla 4: Composición química del grano de quinua

Código de ejemplo	Arabinosa (g/100 g dw)	Fructosa (g/100 g dw)	Glucosa (g/100 g dw)	Sacarosa (g/100 g dw)	Total (g/100 g dw)
Negro	0,50 ± 0,05	0,27 ± 0,05	0,64 ± 0,08	1,7 ± 0,3	3,1 ± 0,3
Rojo	0,63 ± 0,04	0,20 ± 0,05	0,47 ± 0,09	1,3 ± 0,2	2,6 ± 0,2
Blanco	0,62 ± 0,03	0,25 ± 0,04	0,61 ± 0,07	1,4 ± 0,2	2,9 ± 0,1

Fuente: Pereira *et al.*, (2019)

En la Tabla 5 se puede observar una comparación de la quinua con los alimentos más usados a nivel mundial como el arroz y el trigo. Se puede evidenciar como la quinua tiene una cantidad mayor de proteínas, también los aminoácidos esenciales presentes que son un requerimiento que sugiere la FAO y OMS, tiene además un alto valor de lisina, metionina, treonina que están de forma limitada en el trigo y maíz; al igual que las vitaminas riboflavina (B2), piridoxina (B6) y el ácido fólico que son de gran importancia, pero hay poca cantidad en el arroz y trigo; por último los minerales que contiene la quinua como calcio, magnesio, hierro, cobre y zinc es de gran importancia siendo superior a los granos comunes (Vilcacundo & Hernández-Ledesma., 2017).

Tabla 5: Comparación de la quinua con los alimentos más usados a nivel mundial

Proximal	Quinoa (cruda)	Trigo	Arroz	Minerales ^b	Quinoa (cruda)	Trigo	Arroz	Vitaminas ^b	Quinoa (cruda)	Trigo	Arroz	Aminoácidos esenciales ^c	Quinoa (cruda)	Trigo	Arroz
Energía (kcal)	357–368	340	354	Ca	27.5–148.7	35	22	Ácido ascórbico (C)	4.0–16.4	ND	ND	His	1.4–5.4	2.4	2.4
Proteína total	13.1–16.7	11.3	6.8	Fe	1.4–16.7	5	1.4	α-Tocoferol (E)	2.6–5.4	1.4	0.7	IIE	0.8–7.4	4.3	4.3
Grasa total^a	5.5–7.4	1.7	0.7	Mg	26.0–502.0	103	NA	Tiamina (B1)	0.3–0.4	0.5	0.2	Leu	2.3–9.4	8.3	8.3
Carbohidratos^a	59.9–74.7	63.7	79.7	P	140.0–530.0	393	119	Riboflavina (B2)	0.3–0.4	0.1	0.1	Lys	2.4–7.8	3.6	3.6
Fibra^a	7.0–11.7	12.2	0.6	K	696.7–1475.0	478	80	Niacina (B3)	1.1–1.5	5.1	4.4	Met	0.3–9.1	2.4	2.4
Ceniza^a	2.7–3.8	1.5	0.5	Na	11.0–31.0	2	31	Piridoxina (B6)	0.5	0.3	0.3	Cys	0.1–2.7	2.1	2
				Zn	2.8–4.8	3.7	0.6	Folato	0.2	0.1	0.1	Phe + Tyr	2.7–10.3	8.7	8.7
				Cu	1.0–9.5	0.4	0.1					Thr	2.1–8.9	3.6	3.6
												Trp	0.6–1.9	1.2	1.2
												Val	0.8–6.1	6.1	6.1

Fuente: Vilcacundo & Hernández-Ledesma., (2017)

En múltiples investigaciones se ha determinado que la quinua muestra beneficios para los consumidores de alto riesgo como los niños, ancianos, gestantes, además de personas que presentan algún tipo de enfermedades como anemia, diabetes, obesidad y dislipidemia. Las sustancias fitoquímicas proporcionan diferentes beneficios para la salud humana, por ejemplo, los fitoesteroles presentes compiten en la absorción intestinal del colesterol ayudando a la reducción de las lipoproteínas y con ello una disminución en el colesterol sérico (Vilcacundo & Hernández-Ledesma, 2017).

2.3 Hidrolizado de pescado

El pescado no solo es una fuente rica de proteínas para los países en vía de desarrollo sino además es una fuente de ingreso económico a nivel mundial, se ha estimado que en el mundo más de mil millones de personas dependerán del comercio pesquero. En la industria del pescado solo es aprovechable el 40% del producto comestible dejando consigo un alto porcentaje del 60% de material no aprovechable (subproductos), estos subproductos también son generados por una mala manipulación o almacenamiento del pescado trayendo consigo pérdidas económicas a la industria, además de generar contaminación al medio ambiente (Dekkers *et al.*, 2011; Oosterveer, 2008).

Desde la industria pesquera hasta los mercados, se genera una gran cantidad de desechos durante todo el procedimiento, estos desechos en su gran mayoría son descartados produciendo una contaminación y la pérdida de fuente proteica que podría ser utilizada en la producción de alimentos. Los subproductos que se generan como la cabeza, escamas, vísceras, colas, estructuras óseas y pieles son ricos en proteínas, así que pueden ser usados para obtener hidrolizados, harinas, ensilados de pescado, etc. El hidrolizado de pescado ha generado una mayor atención por el alto contenido de proteínas, donde la producción puede darse por diferentes métodos de hidrólisis como ácida, alcalina, térmica y enzimática (Harikrishna *et al.*, 2017; Yathisha *et al.*, 2022).

En los últimos años se han realizado múltiples investigaciones relacionadas al procesamiento de subproductos de la pesca con el fin de obtener un producto de alta calidad, donde la hidrólisis química y disolventes orgánicos no llevaron a buenos resultados en la conservación de aminoácidos, pero durante estos últimos años la aplicación de enzimas

biológicas generó consigo péptidos bioactivos de alta calidad proveniente de fuentes como músculo de sardina, atún y piel de pescado (Benhabiles *et al.*, 2012).

Una de las importantes características de la hidrólisis enzimática es el control en los procesos que dan rápida reacción y una calidad alta de los productos que se obtienen. Siendo considerado como un método más apropiado para obtener proteínas manteniendo consigo su valor nutricional, sin embargo, para obtener un mejor rendimiento se requiere de parámetros óptimos en su producción, como la concentración de enzima, pH, tiempo y temperatura (Noman *et al.*, 2018).

La hidrólisis enzimática es más ventajosa frente a la hidrólisis química ya que las reacciones son suaves, además de que produce un mínimo de productos indeseables dando una calidad y rendimiento a los productos. Por ejemplo, enzimas como la alcalasa ha sido eficaz en la hidrólisis de proteínas de pescado ya que puede lograr una hidrólisis adecuada en periodos cortos produciendo proteínas de alta calidad con propiedades nutricionales y funcionales (Roslan *et al.*, 2014).

Existen diferentes tipos de enzimas para poder hidrolizar la proteína de pescado como alcalasa, papaína, pepsina, flavourzyme, neutrase, protamex, tripsina, a-quimotripsina, proteasa N, proteasa A, pancreatina, pronasa, bromelina, criotina F, orientasa, validasa y termolisina. Siendo de mayor uso la papaína que proviene de la papaya (*Carica papaya* L.) la cual puede descomponer las proteínas hasta fracciones de polipéptidos hasta tener aminoácidos disponibles como fuente de alimento de humanos y animales (Noman *et al.*, 2018).

Mediante la hidrólisis enzimática endógena y exógena los péptidos bioactivos del pescado se liberan mediante los procesos dando consigo aminoácidos importantes. Investigaciones de hidrolizados de pescado demuestran que estos tienen propiedades antioxidantes que provinieron de fuentes de pescado como capelán, caballa, lenguado de aleta amarilla, abadejo de Alaska, salmón del Atlántico, hoki, congrio y scad. Siendo de uso industrial enzimas como la alcalasa, flavourzyme y papaína (Hsu, 2010).

2.4 Cloruro de sodio

Los microorganismos son afectados por el entorno sea mediante un estrés abiótico y biótico generando consigo una respuesta de parte de ellos, algunos pueden desarrollar mecanismos para poder contrarrestar el estrés salino (NaCl), siendo un estrés por toxicidad iónica u osmótica (Dikshit & Tallapragada, 2013).

El estrés osmótico producido por la concentración de sales, tiene respuesta por los microorganismos, estos han podido desarrollar mecanismos para tolerar estas condiciones adversas, desarrollando consigo sistemas para contrarrestar el efecto producido por este estrés como la producción de osmolitos y sistemas de transporte para retirar las concentraciones de sodio. La conservación de metabolitos primarios y secundarios por la célula mediante reacciones bioquímicas mantienen las fuentes de energía y metabolitos que van a ser esenciales para el crecimiento del microorganismo. En diferentes investigaciones se utiliza el estrés salino para producir metabolitos de interés en la industria (Babitha *et al.*, 2007a; Dikshit & Tallapragada, 2013).

2.5 Espacio de color L*a*b*

En el año 1976 el espacio de color CIE L*a*b (CIELAB) fue introducido por la Comisión Internacional de Iluminación, como un espacio tridimensional que consta de tres ejes (Figura 11) con su respectivo rango de valores: L* como la luminosidad, a* los colores rojo y verde, b* los colores azul y amarillo. Estos valores pueden variar en diferentes rangos siendo L* una variación de escala de grises con valores de 0 (negro) hasta el 100 (blanco), mientras que los valores para el rango de a* y b* puede variar desde -128 (a*: verde, b*azul) hasta un valor de +127 (a*: rojo, b* amarillo). El uso del CIELAB utiliza el asterisco (*) para poder diferenciarlo de otros sistemas de colores. Con el uso del sistema en sus tres dimensiones deja la posibilidad de obtener 6,5 millones de distintos colores (Chamberlain *et al.*, 2022; Ly *et al.*, 2020).

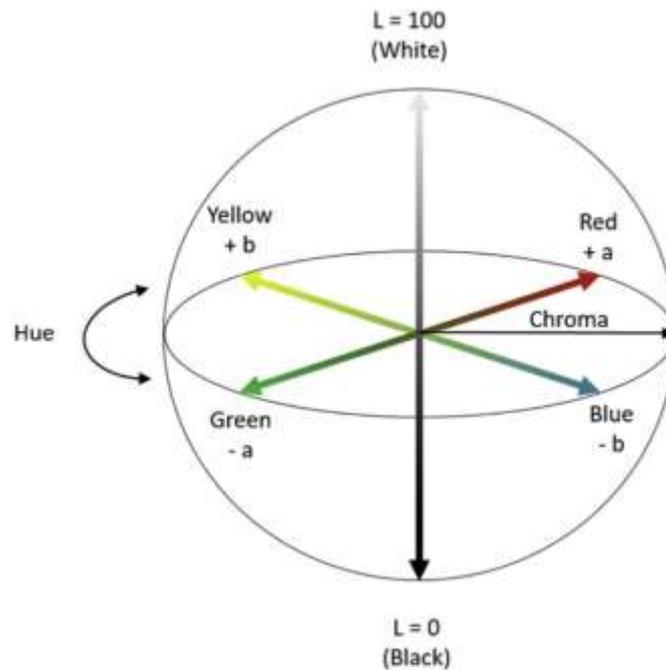


Figura 11: El diagrama del espacio de color CIELAB. L^* indica luminosidad siendo “0” (negro) y 100 (blanco), $+a^*$ (rojo), $-a^*$ (verde), $+b^*$ (amarillo), $-b^*$ (azul)

Fuente: Ly *et al.*, (2020)

2.6 Diseño Box Behnken

En diferentes investigaciones la optimización es determinada utilizando distintos parámetros en el proceso, la cual demanda altos costo en reactivos, insumos y tiempo dentro de la investigación, mediante la metodología de superficie respuesta que es confiable y accesible a usar se pueden reducir enormemente los costos y tiempo en la ejecución de una investigación llegando a ser práctica para la optimización en la producción de pigmentos (Abdel-Raheem *et al.*, 2022).

Para el diseño de superficie respuesta se requiere utilizar tres factores que van a proporcionar una relación entre uno o más respuestas, contando con diferentes ventajas como la disminución de números de experimentos, idoneidad de los experimentos en múltiples factores, respuesta rápida teniendo que los efectos lineales o cuadráticos obtenidos de las variables construyen un gráfico de contorno y una ecuación del modelo que se ajusta a los experimentos determinando un valor óptimo (Sayyad *et al.*, 2007).

Los modelos estadísticos con fines de optimizar la producción de metabolitos de interés variando los factores del medio de cultivo, están tomando mucha importancia dentro de la biotecnología por ser fáciles e idóneos de aplicar, donde un diseño de superficie respuesta es el Box-Behnken que se ha utilizado para determinar los niveles óptimos para la extracción de pigmentos naturales de *Rhodotorula* sp. (Muthezhilan *et al.*, 2014).

El diseño Box-Behnken (BBD) se ha utilizado ampliamente en diferentes investigaciones para poder planificar experimentos obteniendo factores principales y las condiciones de optimización, este diseño tiene menos puntos disminuyendo el costo de investigación con la misma cantidad de factores a utilizar siendo un buen diseño para la metodología de superficie respuesta por lo que podemos obtener un modelo cuadrático (Kunthakudee *et al.*, 2020).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3. 1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los siguientes laboratorios:

- ✓ Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- ✓ Laboratorio de Biotecnología Ambiental – Biorremediación perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- ✓ Laboratorio de Investigación e instrumentación de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina.
- ✓ Centro de Investigaçãõ de Montanha (CIMO-IPB), Bragança, Portugal

3. 2. Cepa de interés

3. 2. 1. *Monascus purpureus*

En la presente investigación se utilizó la cepa del hongo *M. purpureus* de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT 2955), el cual fue suministrada por el Proyecto de Investigación “Desarrollo y validación de un proceso de fermentación con *Monascus purpureus* para la obtención de harinas funcionales pigmentadas de granos andinos y su aplicación en productos alimentarios” con contrato [IDIBIO-1-P-306-17 INNÓVATE PERÚ].

3. 3. Materiales

3. 3. 1. Materias primas e insumos

- ✓ Harina de quinua blanca de Juli sin saponinas
- ✓ Granos de quinua blanca de Juli sin saponinas
- ✓ Hidrolizado de pescado

3. 3. 2. Materiales de vidrio y plástico

- ✓ Tips (100, 1000 mL)
- ✓ Tubos para centrífuga (10 y 50 mL)
- ✓ Propipeta, pisetas (100 mL).
- ✓ Fiolas (25 mL)
- ✓ Matraz (250 mL)
- ✓ Probeta (100, 1000 mL)
- ✓ Placas de Petri
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Beaker (50 mL)
- ✓ Bureta (50 mL)
- ✓ Micropipetas de 20-200 μ L, 100-1000 μ L.
- ✓ Otros: Asa de Kohle, bolsas ziploc, cuchillos, escobilla, espátulas, magnetos, mortero, mechero de bunsen.

3. 3. 3. Reactivos y medios de cultivo

- ✓ Agua destilada marca ALKOFARMA
- ✓ Cloruro de sodio marca CDH®
- ✓ Glutamato monosódico CDH®
- ✓ Etanol 95% marca Biogenics lab SAC
- ✓ NaOH CDH®
- ✓ HCl marca J.T. BAKER®ACS

3. 3. 4. Equipos

- ✓ Agitador magnético
- ✓ Autoclave marca RELES
- ✓ Balanza analítica marca Digital precisión®
- ✓ Baño maría
- ✓ Cámara de flujo laminar modelo BSC-1500IIA2-X marca BIOBASE
- ✓ Campana de extracción de gases
- ✓ Centrífuga
- ✓ Estufa
- ✓ Incubadora marca MMM Group

- ✓ Refrigeradora
- ✓ Vórtex

3. 4. Programas estadísticos

Los datos obtenidos se procesaron con el programa estadístico R versión 4.3.1

3. 5. Métodos

3. 5. 1. Producción de hongo y esporas

La cepa fue reactivada en un medio de Agar Papa Dextrosa (PDA) e incubada a 30 °C por 7 días, una vez reactivada la cepa se propagó en medios de Agar Harina de Quinoa (AHQ) ajustando el pH a 6 e incubándolo a 30 °C por 7 días, luego de ello se replicó la cepa hasta obtener el lote necesario para la investigación conservándose a 4 °C. A las placas de Petri invadidas por el hongo se le adicionaron 10 mL de Tween-80 (0.01%), se hicieron raspados continuos con una espátula de Drigalski removiendo las esporas del hongo, este líquido con las esporas fue filtrado y llevado a un tubo de centrifuga el cual fue agitado en un vortex durante 5 minutos. La suspensión de esporas fue cuantificada utilizando la cámara de Neubauer y azul de lactofenol, se ajustó la suspensión hasta obtener 1.0×10^6 esporas/mL, la suspensión de esporas fue utilizada como inóculo en todos los ensayos (Ketkaeo *et al.*, 2022; Nimnoi & Lumyong, 2011; Tucta-Huillca *et al.*, 2022).

3. 5. 2. Producción de harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*

- a. Determinación del tiempo mínimo de fermentación:

La fermentación sólida se realizó en matraces de 250 mL, en los cuales se agregaron 30 g de (sustrato), 1% de hidrolizado de pescado (p/p), diferentes porcentajes de cloruro de sodio al 0.05, 0.1, 0.2, 0.4% de NaCl (p/p) y 25 mL de agua destilada, se ajustó cada uno de los matraces a un pH de 6. Los medios preparados fueron esterilizados en autoclave a 15 libras, 121 °C durante 15 min. Una vez autoclavado se dejó enfriar y se procedió a inocular con la suspensión de esporas de *M. purpureus* previamente preparada (1.0×10^6 esporas/mL), luego se incubó a 30 °C durante 14 días. Se retiró 4 matraces cada dos días para sus respectivos análisis.

b. Optimización de los parámetros del cultivo de fermentación

La fermentación sólida se realizó en matraces de 250 mL, en los cuales se agregaron 30 g de quinua y 25 mL de agua destilada, por cada matraz se hizo el respectivo tratamiento como se indica en la Tabla 6, siendo los parámetros a pH 5, 6 y 7; cloruro de sodio 0.05, 0.1 y 0.15% (p/p) e hidrolizado de pescado 0.5, 1 y 1.5% (p/p). Cada uno de los tratamientos fueron esterilizados a 15 libras, 121 °C durante 15 min. Una vez esterilizados se dejaron enfriar, luego de ello se procedió a inocular con la suspensión de esporas ($1,0 \times 10^6$ esporas/mL) de *M. purpureus* y por último fueron incubados a 30 °C durante 8 días.

3. 5. 3. Procesamiento de la muestra

Los granos de quinua fermentados en cada una de las etapas fueron secados a 60 °C por un periodo de 24 horas o hasta que alcancen un peso constante (Srianta *et al.*, 2016). Una vez secados fueron retirados, luego se procedió con la molienda (60 mesh) de cada uno de los tratamientos. Cada muestra se guardó a 4 °C hasta su respectivo análisis.

3. 5. 4. Análisis de color

El color de las harinas pigmentadas por la fermentación de *M. purpureus* fue determinado usando un colorímetro CM-5 (Minolta Camera Co., Osaka, Japón). La escala utilizada para analizar el color fue CIELAB L*a*b*. El equipo se calibró utilizando la placa de calibración (blanco/100%), luego se añadió cada muestra por separado en la mini placa Petri hasta no dejar espacio libre en la base, después en el equipo se presionó la tecla MEAS para obtener los resultados del análisis, luego se limpió la placa Petri y se midió un nuevo tratamiento, continuando con el respectivo análisis mencionado.

3. 5. 5. Evaluación de la composición proximal

a. Determinación de materia seca

De la harina fermentada se pesó 1g en un crisol y se llevó a secar a 105 °C por 3 horas, una vez transcurrido el tiempo se llevó la muestra a un desecador por 20 minutos, luego se pesó la muestra. Se calculó la materia mediante la siguiente formula (AOAC, 1990):

$$\text{Materia seca (\%)} = \frac{\text{peso del crisol con muestra seca} - \text{peso del crisol vacío}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

b. Determinación de humedad

EL porcentaje de humedad se determinó mediante la siguiente formula (AOAC, 1990):

$$\text{Humedad (\%)} = 100 - \text{Materia seca}$$

c. Determinación de cenizas

La muestra de materia seca fue incinerada en una mufla a 550 °C por 3 horas, transcurrido el tiempo se dejó enfriar en el desecador durante 20 minutos, luego se pesó en una balanza analítica y se utilizó la formula con el dato obtenido (AOAC, 1990):

$$\text{Cenizas (\%)} = \frac{\text{peso del crisol con cenizas} - \text{peso del crisol vacío}}{\text{peso del crisol con muestra seca} - \text{peso del crisol vacío}} \times 100$$

d. Determinación de grasa

En un cartucho de celulosa se pesaron 3 g de la muestra, el cartucho se tapó con algodón hidrófilo y se llevó al equipo de Soxhlet. En los vasos de aluminio del equipo se adicionaron 50 mL de éter de petróleo previamente secado y pesado. La extracción se hizo por un periodo de 60 minutos a una temperatura de 110 °C, una vez transcurrido el tiempo se llevó el envase de aluminio a una estufa a 105 °C por 8 horas para eliminar el solvente, se dejó enfriar en un desecador durante 20 minutos y se pesó en la balanza analítica. La determinación se realizó mediante la fórmula (AOAC, 1990):

$$\text{Grasa (\%)} = \frac{\text{peso del vaso con residuo de grasa} - \text{peso del vaso}}{\text{peso de la muestra}} \times 100$$

e. Determinación de proteína

Se pesaron 0.2 g de muestra de harina seca en los tubos de digestión, se agregó una pastilla catalizadora con 7 mL de ácido sulfúrico concentrado. La digestión se realizó en 3 etapas hasta llegar a una temperatura de 400 °C por 150 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente se hizo una fase de destilación y por último se hizo una titulación a la muestra con HCl 0.1N. Se calculó mediante la siguiente fórmula (AOAC, 1990):

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{(V2 - V1) \times N \times 1.4 \times F}{P}$$

Donde:

- V2: Volumen de HCl gastado en la muestra (mL)
- V1: Volumen de HCl gastado en el blanco (mL)
- N: Normalidad del HCl al 0.1N
- F: Factor de conversión (cantidad de nitrógeno presente en los aminoácidos de las proteínas de la harina).
- P: Peso de la muestra

f. Determinación de carbohidratos

Se determino el porcentaje de carbohidratos mediante diferencia siguiendo la formula (Delgado-García *et al.*, 2022).

$$\text{Carbohidratos (\%)} = 100 - (\text{humedad} + \text{ceniza} + \text{grasa} + \text{proteína})$$

3. 5. 6. Evaluación de las propiedades tecnofuncionales

Capacidad de retención de agua (CRA)

Se pesó un gramo de cada muestra de harina en un tubo de centrífuga previamente pesado y se agregaron 10 mL de agua destilada. Las muestras se llevaron en vórtice durante un minuto y se dejaron reposar durante 30 minutos a 25 ± 2 °C antes de centrifugarse a 10000 rpm durante 25 minutos. El exceso de agua se decantó invirtiendo los tubos sobre papel absorbente y se dejó drenar las muestras durante 5 minutos. Los pesos de las muestras de agua ligada se determinaron por diferencia (Elkhalifa & Bernhardt, 2010).

Capacidad de absorción de aceite (CAA)

La capacidad de absorción de aceite se evaluó de manera similar a la capacidad de retención de agua con la diferencia de que se agregaron 10 mL de aceite de girasol refinado en lugar de agua destilada. Los pesos de las muestras de aceite ligado se determinaron por diferencia (Elkhalifa & Bernhardt, 2010).

Actividad emulsionante (AE)

Se siguió el protocolo de Elkhalfa & Bernhardt (2010), donde las emulsiones se prepararon con 2 g de harina de quinua fermentada, mezclando 20 mL de agua destilada fría (4 °C) y 20 mL de aceite de girasol refinado en un tubo de centrifuga de 50 mL, luego las muestras se agitaron en un vortex durante 1 minuto, posterior a ello los tubos se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 minutos. La altura de la capa emulsionada, como porcentaje de la altura total del material se utilizaron para calcular la actividad emulsionante con la siguiente fórmula:

$$AE(\%) = \frac{\textit{Altura de la capa de emulsión}}{\textit{Altura de toda la capa}} \times 100$$

Estabilidad emulsionante (EE)

La estabilidad de la emulsión se midió mediante centrifugación de las muestras en las mismas condiciones después de calentar la emulsión en un baño de agua a 80 ° C durante 30 minutos y enfriar a temperatura ambiente (25±2 ° C). La altura de la capa emulsionada, como porcentaje de la altura total del material, se utilizó para calcular la estabilidad emulsionante utilizando la siguiente fórmula:

$$EE(\%) = \frac{\textit{Altura de la capa de emulsion después de calentar}}{\textit{Altura de toda la capa}} \times 100$$

La altura se midió en centímetros utilizando una regla graduada transparente.

Capacidad de formación de espuma (CFE)

Para la determinación de la capacidad espumante de las muestras se siguió el método empleado por Elkhalfa & Bernhardt (2010), donde en una licuadora se agregaron 2 g y 100 mL de agua destilada, se homogenizo la mezcla durante 1 minuto a temperatura ambiente, luego de ello se transfirió a una probeta graduada de 250 mL, y se anotó el volumen de la espuma. La capacidad de formación de espuma se expresó como el aumento porcentual en volumen utilizando la siguiente fórmula:

$$CFE(\%) = \frac{\textit{volumen despues de batir} - \textit{volumen antes de batir}}{\textit{volumen antes de batir}} \times 100$$

Estabilidad de la espuma (EEp)

Luego de analizar la capacidad de formación de espuma, se controló durante 60 minutos la caída del volumen formado por la espuma y se determinó con la siguiente formula:

$$EEp (\%) = \frac{\text{volumen de espuma despues del periodo de tiempo}}{\text{volumen de espuma inicial}} \times 100$$

3. 5. 7. Análisis estadístico

Objetivo 1: Las variables independientes analizadas en este objetivo fueron los días de fermentación mientras que las variables dependientes fueron L*, a*, b*, C* y h°. Los datos obtenidos fueron analizados mediante el programa estadístico R versión 4.3.1, con un ANOVA multifactorial para los días de fermentación y el cloruro de sodio.

Objetivo 2: La producción de una harina roja fermentada por *Monascus purpureus* empleando como sustrato quinua se realizó utilizando tres parámetros importantes: pH (5, 6 y 7), concentración de cloruro de sodio (0.05, 0.10 y 0.15%) y el contenido de fuente nitrogenada de hidrolizado de pescado (0.5, 0.1 y 1.5%) como se observa en la Tabla 6. Se utilizó un modelo de regresión polinómica de segundo orden para modelar la producción de harina roja.

Tabla 6: Diseño experimental de Box-Behnken con catorce experimentos en total con un punto central

Nº de corrida	pH	Sal	FN
1	6	0.05	0.50
2	5	0.15	1.00
3	7	0.10	1.50
4	6	0.15	0.50
5	6	0.15	1.50
6	6	0.10	1.00
7	6	0.10	1.00
8	5	0.05	1.00
9	7	0.10	0.50
10	5	0.10	0.50
11	5	0.10	1.50
12	6	0.05	1.50
13	7	0.15	1.00
14	7	0.05	1.00

Los resultados obtenidos fueron analizados en el programa estadístico R versión 4.3.1, considerando el coeficiente de determinación (R^2), el análisis de varianza (ANOVA). Para la representación de las ecuaciones se eliminaron los que no presentaron significancia ($p > 0.05$), obteniendo una ecuación cuadrática para cada uno de los análisis.

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_{ii}^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \dots \dots \dots \text{Ecuación 1}$$

β_0 = Término compensatorio; β_i = Término dependiente; β_{ii} = Efecto cuadrático del factor de entrada x_i ; β_{ij} = Efecto de interacción lineal- lineal entre el factor de entrada x_i y x_j .

Objetivo 3: Fue analizado con el programa Statgraphics Centurion XVI, donde se hizo un análisis de one-way ANOVA y los factores de significancia ($p < 0.05$) fueron analizado posteriormente mediante la prueba post hoc de Tukey para cada uno de los resultados obtenidos en la composición proximal y las propiedades tecnofuncionales.

El diseño experimental de los tres objetivos mencionados anteriormente para la producción de la harina roja por *Monascus purpureus* con hidrolizado de pescado y cloruro de sodio se presentan en la Figura 12

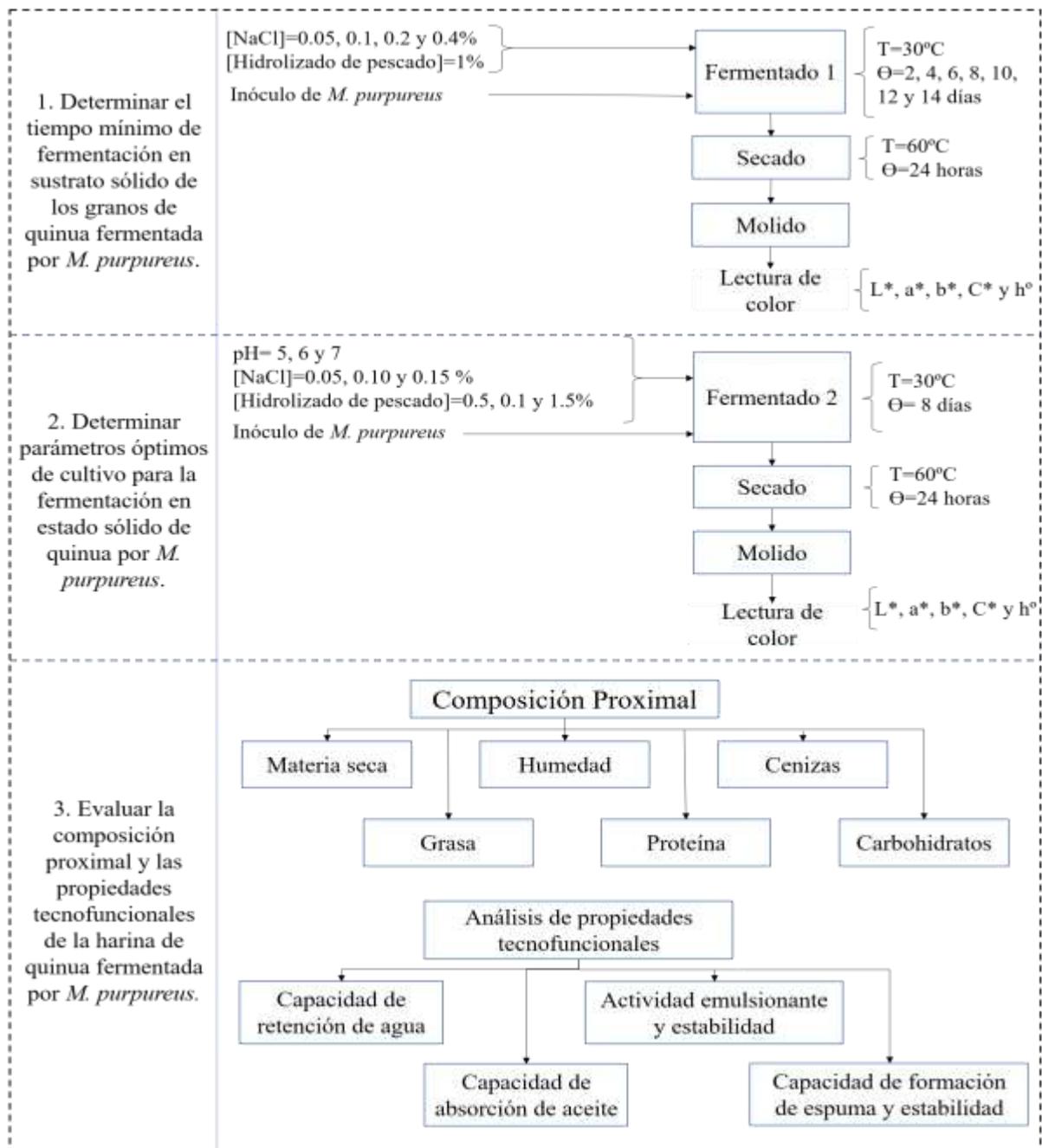


Figura 12: Esquema del diseño experimental para la producción de harina de quinua fermentada por *M. purpureus* suplementada con hidrolizado de pescado y cloruro de sodio.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Tiempo mínimo de fermentación por *M. purpureus*

La evaluación de los valores obtenidos de L^* , a^* , b^* , C^* y h° luego del proceso de fermentación por un periodo de 14 días se presentan en la Tabla 7 y sus imágenes representativas en placas Petri y matraces se observan en los Anexos 1-8.

La luminosidad (L^*) que se encuentra en el rango de 44.43 a 62.89, durante el periodo de 14 días las medias tienden a disminuir, donde no se encontraron diferencias significativas en los días 8, 14 y 10 obteniendo una media de luminosidad de 44.43 ± 2.933 , 45.97 ± 2.867 y 46.07 ± 3.295 respectivamente.

Las medias obtenidas de la tendencia al rojo y verde (a^*) se encuentran en un rango de 6.81 a 19.62 donde las coordenadas cromáticas son valores positivos que indicarían que se encuentra en la zona de colores rojos, teniendo que a medida que pasaban los días los valores obtenidos aumentaban orientando su tonalidad a un rojo más intenso, obteniendo las medias de mayor valor de 19.03 ± 1.486 , 19.51 ± 0.991 y 19.62 ± 1.179 para los días 6, 10 y 8 respectivamente los cuales no presentaron diferencias significativas.

Las medias obtenidas de la tendencia al amarillo y azul (b^*) se encuentran en un rango de 18.32 al 28.13, los valores obtenidos son positivos e indicarían que se encuentran en las coordenadas de cromaticidad de los valores amarillos, a medida que pasaban los días fermentación estos valores comenzaron a disminuir siendo los de menores valores 18.85 ± 1.136 , 18.32 ± 1.020 y 18.48 ± 1.109 en los días 10, 12 y 14 respectivamente, los cuales no presentaron diferencias significativas entre ellos.

Las medias obtenidas al analizar el croma (C^*) se encuentran en un rango de 25.59 a 29.02, los valores de las medias van disminuyendo a medida que pasan los días de fermentación el cual indicaría que el rango de saturación de color disminuye, los menores

valores fueron 25.59 ± 0.803 y 26.05 ± 1.236 para los días 12 y 14 respectivamente los cuales no presentaron diferencias significativas entre ellos.

Los datos obtenidos para el ángulo de tono (h°) se presentan en el rango de 44.00 a 76.39, las medias obtenidas van disminuyendo su valor a medida que aumentan los días de fermentación acercando su valor al color rojo (0°), los menores ángulos obtenidos en la fermentación fueron de 44.90 ± 3.960 , 44.00 ± 2.790 , 45.75 ± 2.422 y 45.28 ± 2.592 para los días 8, 10, 12 y 14 respectivamente, los cuales no presentaron diferencias significativas.

Tabla 7: Valores de color CIELAB (L^* , a^* , b^* , C^* y h°) durante 14 días de fermentación en sustrato sólido de los granos de quinua por *M. purpureus*.

Día	L	a^*	b^*	C^*	h°
0	62.89 ± 0.987^e	6.81 ± 0.137^a	28.13 ± 0.397^e	28.94 ± 0.385^e	76.39 ± 0.337^e
2	62.39 ± 1.528^e	8.11 ± 0.393^b	27.87 ± 0.802^e	29.02 ± 0.840^e	73.79 ± 0.594^d
4	57.70 ± 2.099^d	12.71 ± 2.013^c	25.74 ± 1.984^d	28.79 ± 1.634^{de}	63.66 ± 4.644^c
6	49.04 ± 2.551^c	19.03 ± 1.486^{ef}	21.27 ± 1.879^c	28.61 ± 1.279^{de}	48.14 ± 4.079^b
8	44.43 ± 2.933^a	19.62 ± 1.179^f	19.59 ± 1.765^b	27.79 ± 0.929^{cd}	44.90 ± 3.960^a
10	46.07 ± 3.295^{ab}	19.51 ± 0.991^f	18.85 ± 1.136^{ab}	27.15 ± 0.698^{bc}	44.00 ± 2.790^a
12	47.25 ± 3.501^{bc}	17.84 ± 0.875^d	18.32 ± 1.020^a	25.59 ± 0.803^a	45.75 ± 2.422^a
14	45.97 ± 2.867^{ab}	18.32 ± 1.294^{de}	18.48 ± 1.109^{ab}	26.05 ± 1.236^{ab}	45.28 ± 2.592^a

Los resultados son expresados como la media \pm DS (desviación estándar). Las letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

Los datos mostrados anteriormente indicarían que la tonalidad de color rojo (a^*) y el ángulo de tono (h°) muestran una tendencia al rojo, que en ambos casos se obtuvieron un mayor y menor rendimiento respectivamente al octavo día, no encontrándose diferencias significativas entre los siguientes valores.

Dentro de la industria de producción de metabolitos secundarios de interés es necesario tener como objetivo la evaluación del tiempo de fermentación, Kin *et al.* (2011) indican que el tiempo de fermentación del hongo no debe prologarse más allá de alcanzar la producción adecuada, ya que de seguir el proceso de fermentación representaría mayores costos en la producción de los metabolitos, siendo el octavo día en la presente investigación en donde los valores obtenidos llegaron a una producción mayor del color rojo, no presentando diferencias significativas con los otros días de mayor producción obteniendo un adecuado tiempo de fermentación.

Del análisis obtenido en la Tabla 7 los valores indicarían que solo se tendría que fermentar hasta el octavo día, en la Tabla 8 se muestran todos los resultados anteriores a diferentes concentraciones de NaCl (0.05, 0.1, 0.2 y 0.4%), para el octavo día donde se observa que los valores de L^* , a^* y C^* no mostraron diferencias significativas dentro de los niveles, para el valor de b^* tres de cuatro no mostraron diferencias significativas. Es por ello que se hizo un análisis solo al octavo día para observar el comportamiento de las concentraciones de NaCl, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 9.

Tabla 8: Valores de color CIELAB (L*, a*, b*, C* y h°) durante 14 días a distintas concentraciones de cloruro de sodio, en la fermentación de quinua con *M. purpureus*.

Na Cl	Dí a	L	a*	b*	C*	h°
0.0	0	63.30 ± 0.628 ^g	6.77 ± 0.140 ^a	28.44 ± 0.392 ^k	29.23 ± 0.408 ^{efg}	76.61 ± 0.160 ^j
0.1	0	62.08 ± 1.712 ^{fg}	6.92 ± 0.176 ^a	27.86 ± 0.495 ^k	28.71 ± 0.461 ^{defg}	76.05 ± 0.502 ^j
0.2	0	63.24 ± 0.140 ^g	6.76 ± 0.053 ^a	28.04 ± 0.363 ^k	28.85 ± 0.364 ^{defg}	76.45 ± 0.079 ^j
0.4	0	62.94 ± 0.500 ^g	6.80 ± 0.134 ^a	28.18 ± 0.146 ^k	28.99 ± 0.171 ^{defg}	76.44 ± 0.200 ^j
0.0	2	62.39 ± 1.349 ^{fg}	8.102 ± 0.253 ^{ab}	28.44 ± 0.867 ^k	29.57 ± 0.897 ^{fg}	74.10 ± 0.220 ^j
0.1	2	62.22 ± 2.062 ^{fg}	7.895 ± 0.277 ^{ab}	27.51 ± 0.769 ^{jk}	28.62 ± 0.799 ^{cdefg}	73.99 ± 0.335 ^j
0.2	2	62.64 ± 1.712 ^{fg}	8.146 ± 0.527 ^{ab}	27.63 ± 0.783 ^k	28.81 ± 0.848 ^{defg}	73.58 ± 0.821 ^{ij}
0.4	2	62.32 ± 1.596 ^{fg}	8.275 ± 0.505 ^{ab}	27.89 ± 0.755 ^k	29.09 ± 0.823 ^{efg}	73.48 ± 0.753 ^{ij}
0.0	4	57.14 ± 1.761 ^{efg}	15.03 ± 0.484 ^{ef}	24.48 ± 2.404 ^{hij}	28.74 ± 2.303 ^{defg}	58.36 ± 1.678 ^g
0.1	4	59.26 ± 1.419 ^{fg}	10.08 ± 0.175 ^{bc}	25.99 ± 0.482 ^{ijk}	27.88 ± 0.463 ^{abcdefg}	68.80 ± 0.453 ^{hi}
0.2	4	58.33 ± 1.644 ^{fg}	13.83 ± 0.370 ^{de}	24.40 ± 0.673 ^{ghi}	28.06 ± 0.500 ^{abcdefg}	60.44 ± 1.192 ^g
0.4	4	56.07 ± 2.545 ^{def}	11.91 ± 0.972 ^{cd}	28.07 ± 1.186 ^k	30.50 ± 1.370 ^g	67.03 ± 1.311 ^h
0.0	6	47.90 ± 2.666 ^{bc}	19.95 ± 1.007 ^{ijklm}	19.37 ± 0.798 ^{abcde}	27.82 ± 1.122 ^{abcdefg}	44.17 ± 1.292 ^{abcd}
0.1	6	50.41 ± 3.336 ^{cd}	17.61 ± 1.309 ^{gh}	22.58 ± 1.345 ^{fgh}	28.64 ± 1.834 ^{cdefg}	52.07 ± 0.798 ^f
0.2	6	47.28 ± 0.661 ^{abc}	20.07 ± 0.349 ^{ijklm}	21.21 ± 1.033 ^{cdef}	29.20 ± 0.950 ^{efg}	46.56 ± 1.057 ^{bcde}
0.4	6	50.56 ± 1.558 ^{cde}	18.48 ± 1.587 ^{ghijkl}	21.94 ± 2.544 ^{efgh}	28.78 ± 1.142 ^{defg}	49.77 ± 5.595 ^{ef}
0.0	8	44.66 ± 0.532 ^{abc}	20.27 ± 0.323 ^{lm}	17.89 ± 1.342 ^{ab}	27.05 ± 1.099 ^{abcdef}	41.39 ± 1.774 ^a
0.1	8	45.46 ± 2.403 ^{abc}	18.82 ± 1.268 ^{ghijklm}	21.37 ± 0.645 ^{defg}	28.49 ± 0.703 ^{bcdefg}	48.66 ± 2.487 ^{def}
0.2	8	40.84 ± 2.469 ^a	20.88 ± 0.112 ^{lm}	18.49 ± 1.343 ^{abcd}	27.90 ± 0.952 ^{abcdefg}	41.48 ± 1.938 ^a

0.4	8	46.77 ± 2.209 ^{abc}	18.53 ± 0.312 ^{ghijkl}	20.62 ± 0.689 ^{bcdef}	27.72 ± 0.537 ^{abcdefg}	48.05 ± 1.100 ^{def}
0.0	10	42.42 ±	20.24 ±	18.06 ±	27.13 ±	41.76 ±
	5	3.958 ^{ab}	0.885 ^{lm}	0.405 ^{ab}	0.697 ^{abcdef}	1.438 ^{ab}
0.1	10	47.66 ± 2.388 ^{bc}	19.15 ± 0.738 ^{hijklm}	19.05 ± 0.515 ^{abcde}	27.02 ± 0.768 ^{abcdef}	44.86 ± 0.995 ^{abcde}
0.2	10	45.52 ± 0.910 ^{abc}	20.10 ± 0.668 ^{klm}	18.28 ± 0.660 ^{abc}	27.18 ± 0.167 ^{abcdef}	42.30 ± 1.950 ^{abc}
0.4	10	48.69 ± 1.196 ^{bc}	18.54 ± 0.740 ^{ghijkl}	19.99 ± 1.594 ^{abcdef}	27.29 ± 1.133 ^{abcdef}	47.09 ± 2.781 ^{cdef}
0.0	12	45.95 ±	18.23 ±	17.56 ±	25.32 ±	43.92 ±
	5	5.080 ^{abc}	0.629 ^{ghijkl}	0.517 ^a	0.804 ^a	0.289 ^{abcd}
0.1	12	46.11 ± 2.854 ^{abc}	17.92 ± 0.466 ^{ghijk}	18.36 ± 1.449 ^{abcd}	25.68 ± 0.916 ^{ab}	45.64 ± 2.752 ^{abcde}
0.2	12	46.43 ± 2.452 ^{abc}	18.18 ± 0.424 ^{ghijkl}	18.49 ± 0.817 ^{abcd}	26.17 ± 0.483 ^{abcd}	44.96 ± 1.901 ^{abcde}
0.4	12	50.52 ± 1.470 ^{cde}	16.68 ± 0.543 ^{fg}	18.86 ± 0.987 ^{abcd}	25.18 ± 0.849 ^a	48.48 ± 1.671 ^{def}
0.0	14	46.79 ±	19.36 ±	17.64 ±	26.21 ±	42.34 ±
	5	4.098 ^{abc}	1.013 ^{hijklm}	1.017 ^{ab}	0.907 ^{abcd}	2.437 ^{abc}
0.1	14	46.59 ± 1.505 ^{abc}	17.85 ± 0.847 ^{ghi}	18.35 ± 0.647 ^{abcd}	25.61 ± 0.801 ^a	45.81 ± 1.577 ^{abcde}
0.2	14	45.72 ± 3.576 ^{abc}	18.51 ± 0.556 ^{ghijkl}	18.24 ± 0.517 ^{abc}	25.76 ± 0.664 ^{abc}	45.09 ± 0.188 ^{abcde}
0.4	14	44.76 ± 2.409 ^{abc}	17.88 ± 2.105 ^{ghij}	19.70 ± 1.181 ^{abcdef}	26.62 ± 2.212 ^{abcde}	47.87 ± 2.041 ^{def}

Los resultados son expresados como la media ± DS (desviación estándar). Las letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticas significativas (p<0.05)

Los datos obtenidos se analizaron al octavo día de fermentación (Tabla 9), donde los valores obtenidos en la luminosidad (L*) se encuentran en el rango de 40.84 y 46.77 siendo los de menor media 44.66 ± 0.532 y 40.84 ± 2.469 para las concentraciones 0.05 y 0.2% de NaCl respectivamente que no presentaron diferencias significativas.

Las medias obtenidas de la tendencia al rojo y verde (a*) se encuentran en un rango de 18.53-20.88, los valores obtenidos se encuentran en la zona positiva es decir en la zona de color rojo, siendo las mayores medias 20.27 ± 0.323 y 20.88 ± 0.112 para las concentraciones 0.05 y 0.2% de NaCl respectivamente que no presentaron diferencias significativas.

Tabla 9: Valores de color CIELAB (L*, a*, b*, C* y h°) al octavo día con distintas concentraciones de cloruro de sodio, en la fermentación de quinua por *M. purpureus*.

NaCl (%)	L*	a*	b*	C*	h°
0.05	44.66 ± 0.532 ^{ab}	20.27 ± 0.323 ^{bc}	17.89 ± 1.342 ^a	27.05 ± 1.100 ^a	41.39 ± 1.774 ^a
0.1	45.46 ± 2.403 ^b	18.82 ± 1.268 ^{ab}	21.37 ± 0.645 ^c	28.49 ± 0.703 ^a	48.66 ± 2.487 ^b
0.2	40.84 ± 2.469 ^a	20.88 ± 0.112 ^c	18.49 ± 1.343 ^{ab}	27.90 ± 0.952 ^a	41.48 ± 1.938 ^a
0.4	46.77 ± 2.209 ^b	18.53 ± 0.312 ^a	20.62 ± 0.689 ^{bc}	27.72 ± 0.537 ^a	48.05 ± 1.100 ^b

Los resultados son expresados como la media ± DS (desviación estándar). Las letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticas significativas (p<0.05).

Las medias obtenidas de la tendencia al amarillo y azul (b*) se encuentran en un rango de 17.89 a 21.37, siendo los valores positivos que indicarían que se encuentra en la zona amarilla, las menores medias obtenidas fueron 17.89 ± 1.342 y 18.49 ± 1.343 para las concentraciones de 0.05 y 0.2% NaCl respectivamente que no mostraron diferencias significativas.

Las medias obtenidas al analizar el croma (C*) se encuentran en un rango de 27.05-28.49, dentro del rango para cada una de las medias analizadas no presentaron diferencias significativas entre ellas siendo 27.05 ± 1.100, 28.49 ± 0.703, 27.90 ± 0.952 y 27.72 ± 0.537 para las concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4% NaCl respectivamente, ello indicaría que no hubo una variación notable en la saturación de color.

El rango de las medias del ángulo de tono (h°) se encuentra entre 41.38-48.66 siendo las de menor media 41.39 ± 1.774 y 41.48 ± 1.938 para las concentraciones de 0.05 y 0.2% NaCl respectivamente que no presentaron diferencias significativas, los menores valores obtenidos se acercan al valor de color rojo el cual tiene un ángulo de cero.

Los valores mostraron una tendencia entre las concentraciones de 0.05 y 0.2% de NaCl, consideración que una menor concentración de 0.05% representaría un menor gasto en los recursos económicos en la fermentación, aun así, el rango es estrecho para una decisión es por ello que se consideró en una segunda etapa tres niveles de concentración de NaCl dentro de este rango.

El cloruro de sodio afecta a los microorganismos generando un estrés osmótico en ellos, para poder contrarrestar este estrés han desarrollado mecanismos de tolerancia produciendo metabolitos que ayudan a regular las concentraciones de sales, estos metabolitos dependiendo de la naturaleza puede tener un uso industrial como en el caso de *Monascus*, donde se ha reportado que a una concentración moderada de cloruro de sodio puede aumentar la producción de pigmentos mientras que a una alta concentración se inhibe la producción (Babitha *et al.*, 2007a; Dikshit & Tallapragada, 2013).

En la Figura 13 se puede observar el comportamiento de los datos obtenidos midiendo la medias de la luminosidad, donde se observa que los tratamientos inician con una alta luminosidad y a medida que van pasando los días de fermentación los valores obtenidos comienza a disminuir, es decir la fermentación producida por el hongo en quinua disminuye el valor de la luminosidad a medida que pasa el tiempo debido a la producción de distintos metabolitos que interfieren en la luminosidad propia de los granos de quinua inicial, a partir del octavo día se aprecia que la fermentación no muestra diferencias significativas con los posteriores días en las distintas concentraciones de cloruro de sodio.

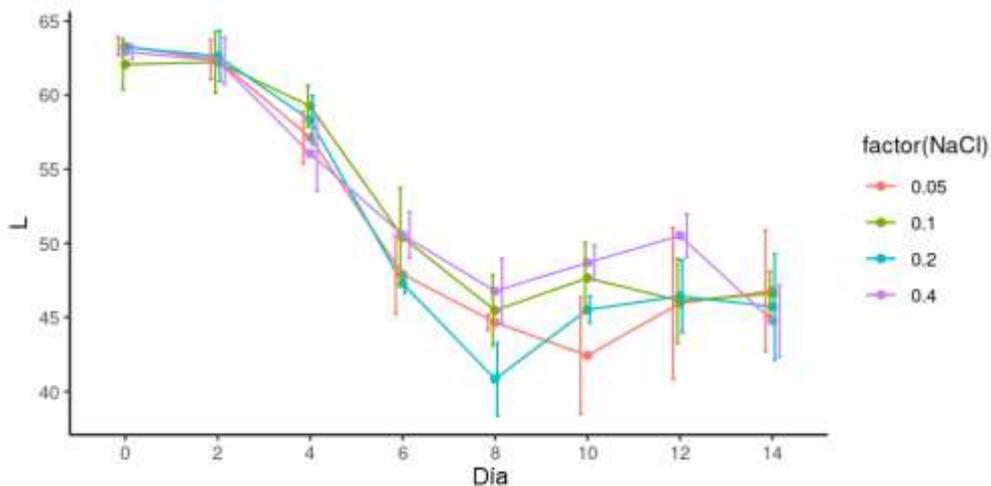


Figura 13: Evaluación de la luminosidad (L^*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con *M. purpureus*.

En la Figura 14 se puede observar el comportamiento de los datos obtenidos en las medias del color rojo (+a), las cuales al inicio del tratamiento fueron valores bajos y a medida que los días de fermentación avanzaban, la producción de pigmentos (sobre todo el rojo) de *Monascus purpureus* aumentaba, con ello la intensidad del color, obteniéndose un

incremento exponencial en los días 2, 4 y 6 donde posterior a estos días la producción no mostró diferencias significativas entre las medias.

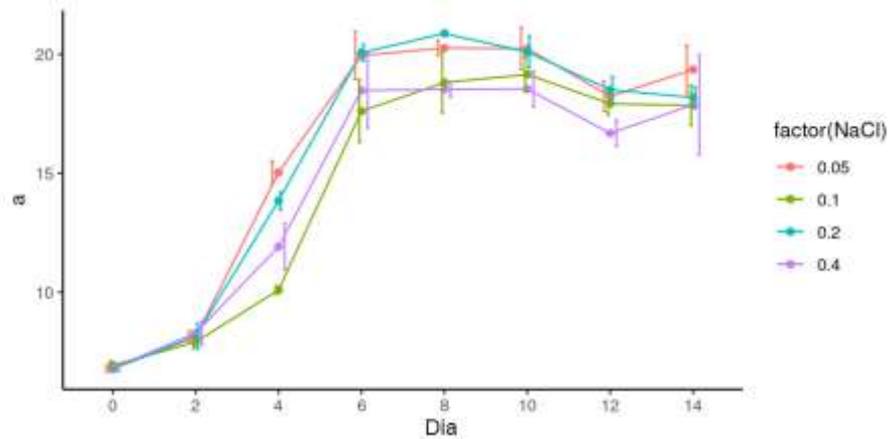


Figura 14: Evaluación de las coordenadas cromáticas rojo/verde (a*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con *M. purpureus*.

En la Figura 15 se puede observar el comportamiento de los datos obtenidos, las medias con tendencia al amarillo o azul (b*) donde los datos obtenidos son positivos es decir una tendencia al color amarillo, iniciando con un valor alto y a medida que la fermentación continua la tendencia de la media es a descender, encontrándose valores no significativos a partir del día 8 en adelante a valores bajos de concentraciones de sales de 0.05 y 0.2%.

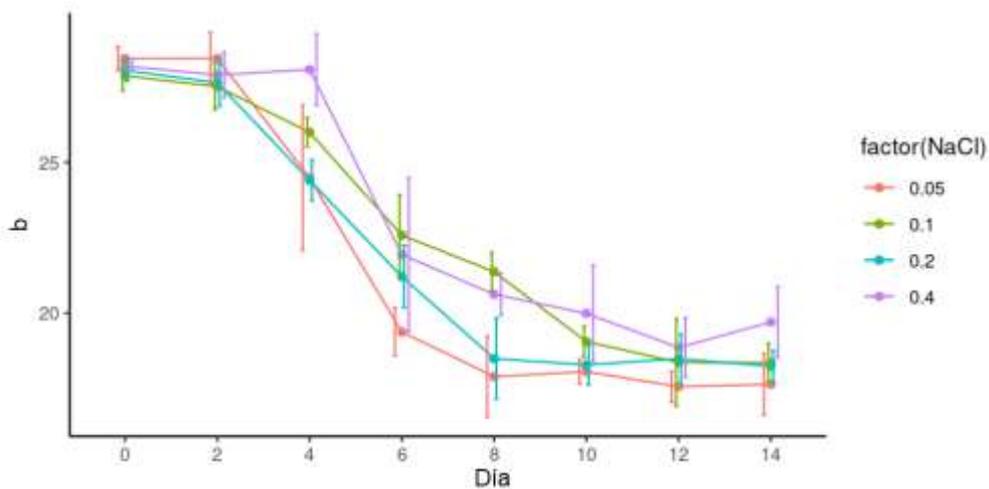


Figura 15: Evaluación de las coordenadas cromáticas amarillo/azul (b*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con *M. purpureus*.

En la Figura 16 se puede observar el comportamiento de los datos obtenidos como las medias del croma (C^*) teniendo una característica más dispersa que otras figuras, pero con una tendencia a disminuir el valor C^* a medida que transcurren los días de fermentación donde los parámetros resaltados en las tablas anteriores para este análisis se demuestran al octavo día con una concentración de 0.05%.

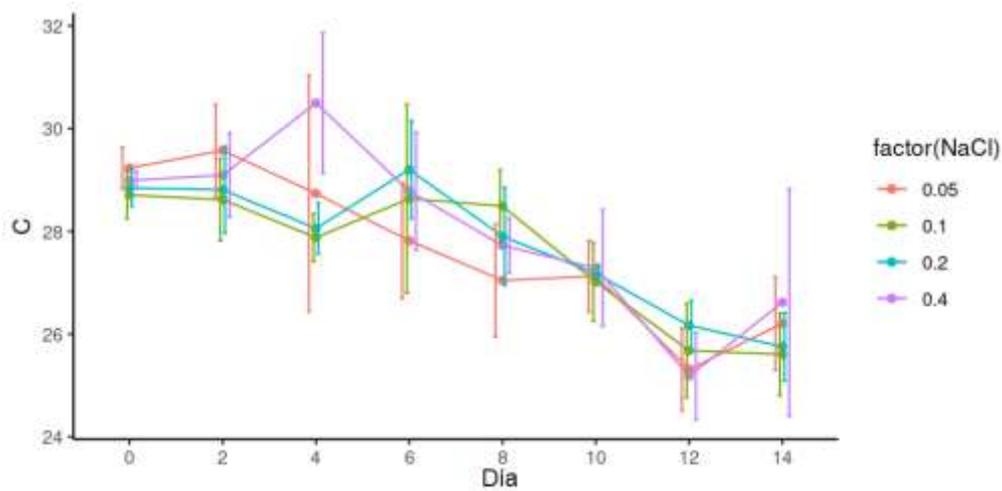


Figura 16: Evaluación de la intensidad del color (C^*) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con *M. purpureus*.

En la Figura 17 se puede observar el comportamiento de los datos obtenidos como las medias del ángulo de tono, teniendo en consideración que los tratamientos inician con un mayor ángulo (cercano al color amarillo) y a medida que transcurren los días de fermentación estos valores tienden a disminuir acercándose al ángulo del color rojo (0°) debido a la producción de los pigmentos rojos de *M. purpureus*, además a partir del día 8 no se observaron diferencias significativas con los otros valores a una concentración de 0.05%.

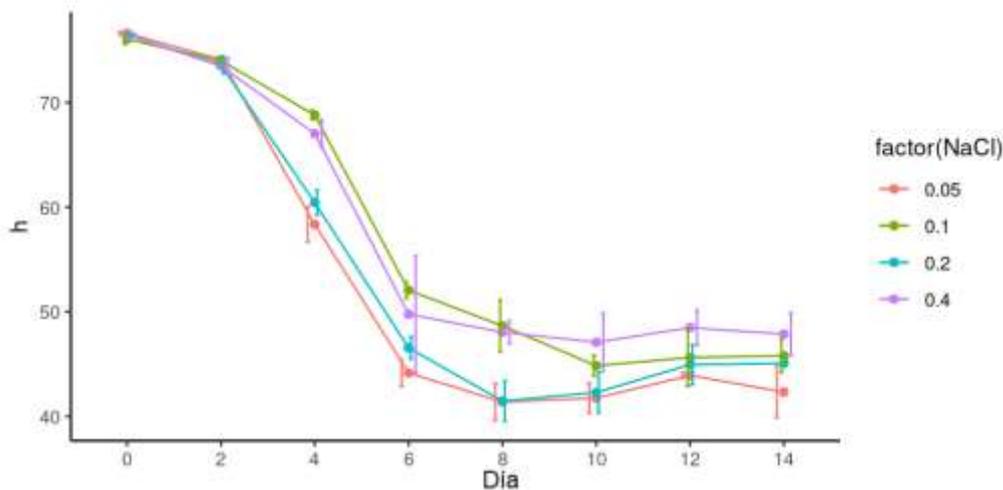


Figura 17: Evaluación del ángulo de tono (h°) a distintas concentraciones de cloruro de sodio por 14 días de fermentación de quinua con *M. purpureus*

Durante el periodo de fermentación se observa un aumento de a^* y el descenso de L^* , b^* , C^* y h° como se muestran en las Figuras 14, 13, 15, 16 y 17 respectivamente, siendo el de mayor importancia la Figura 14, la cual presentó un modelo que se asemeja a la fase de crecimiento de un microorganismo cuando la harina es pigmentada a medida que pasa el tiempo de fermentación.

Según Srianta *et al.* (2016) reconocer las fases de crecimiento es de suma importancia dentro de la producción de metabolitos secundarios indicando que los primeros días el microorganismo utiliza la fuente de carbono y nitrógeno para formar sus metabolitos primarios propios de su desarrollo y crecimiento, posteriormente se fomenta la producción de metabolitos secundarios como los pigmentos observándose de forma exponencial entre los días 2 al 6 de la investigación, obteniendo una mayor producción estable al día 8.

Por otro lado, en la presente investigación se observa que al primer día de fermentación se encuentra la fase de latencia (*lag*) donde el microorganismo se va adaptado a las condiciones del medio, de igual manera Babitha *et al.* (2007b) reportaron este tiempo de latencia en el primer día cuando fermentaron a *Monascus* en semillas de *Artocarpus heterophyllus*.

Srianta *et al.* (2016) investigaron distintas fuentes de sustratos en fermentación sólida con *Monascus purpureus*, los fermentados fueron analizados mediante cromatografía en capa fina para observar la producción de los pigmentos en diferentes periodos de incubación, sus análisis demostraron que en el sustrato de arroz se obtuvo una producción de pigmentos mayor al cuarto día, seguido del sorgo en grano descascarado al quinto día, posterior a ello el maíz y el salvado de sorgo, demostrando que el sustrato afecta al tiempo de producción de los pigmentos producidos por *M. purpureus*.

La investigación realizada por Babitha *et al.* (2007b) utilizando la semilla de *Artocarpus heterophyllus* (árbol de yaca) en fermentación sólida con *Monascus*, demostró que la producción máxima de pigmentos se obtuvo al sexto día, posterior a este tiempo observaron que hubo una disminución en la producción de los pigmentos.

Los investigadores Chen *et al.*, (2021) utilizaron el orujo de papa como sustrato de fermentación de *Monascus*, donde obtuvieron un aumento exponencial en la producción de pigmentos durante el tercer día llegando a su máxima producción al día 7, posterior a estos días la producción de pigmentos se vio afectada disminuyendo su concentración en el medio.

Velmurugan *et al.* (2011) utilizaron como sustrato el maíz para la producción de pigmentos mediante la fermentación de sustrato sólido de *Monascus*, donde obtuvieron que la mayor producción de pigmentos amarillo y rojo también fue al día 7 e indicaron de forma similar a Chen *et al.* (2021) que posterior a este tiempo de fermentación se observó una disminución de la producción de pigmentos.

Carvalho *et al.* (2007) determinaron que el tiempo de fermentación óptimo en la producción de pigmentos utilizando sustratos como el arroz y yuca, dieron resultados óptimos al día 7 y 10-11 respectivamente, indicando que la diferencia en el tiempo de fermentación se debió a que el arroz tiene una mayor disponibilidad en comparación con el almidón o la carencia de algunos nutrientes de la yuca.

Monteiro *et al.* (2021) obtuvieron un mayor tiempo de fermentación en la producción de pigmentos por *Monascus* en medio sólido utilizando como sustrato granos de trigo donde obtuvieron la mayor producción de color rojo al día 14. Según las investigaciones

realizadas por Embaby *et al.* (2018) utilizando diferentes cepas de *Monascus* demostraron que la producción óptima de pigmentos rojos y anaranjados se puede dar en un rango de tiempo entre 5 a 16 días mostrando un rango amplio que dependerá de la eficiencia de la cepa trabajada y del medio de fermentación.

Según las investigaciones señaladas anteriormente el tiempo de fermentación de *Monascus*, depende del tipo de sustrato donde es fermentado, siendo el tiempo un factor importante en el paso a la industrialización, donde un menor tiempo durante el proceso daría un menor costo de producción (Embaby *et al.*, 2018). En la presente investigación al octavo día de producción se obtiene una tonalidad roja de la harina de quinua. Por otro lado, la concentración de cloruro de sodio da un rango de trabajo aun por investigar en concentraciones de 0.05 a 0.2% el cual fue un factor de investigación en el siguiente objetivo.

4. 2. Optimización del proceso de fermentación en estado sólido de quinua por *Monascus purpureus*

En la Tabla 10 se observan los parámetros de color L*, a*, b*, C* y h° analizados en el diseño Box Behnken con 14 pruebas experimentales y 3 repeticiones variando el pH (5, 6 y 7), sal (0.05, 0.1, 0.2 y 0.4%) y el contenido de fuente nitrogenada (0.5, 1.0 y 1.5%) en la optimización de harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*.

Tabla 10: Análisis de los parámetros de color L*, a*, b*, C* y h° mediante un Diseño Box Behnken de la fermentación en sustrato sólido de quinua usando *M. purpureus* con tres factores: pH (5, 6 y 7), concentración de sal (0.05, 0.10, 0.15%) y el contenido de fuente nitrogenada (0.5, 1.0 y 1.5%)

Tratamiento	pH	Sal	FN	L*	a*	b*
1	5	0.05	1.0	47.08 ± 0.242	26.84 ± 0.575	14.76 ± 0.259
2	5	0.10	0.5	49.16 ± 0.901	25.49 ± 0.466	14.03 ± 0.294
3	5	0.10	1.5	52.04 ± 0.587	23.87 ± 0.124	15.05 ± 0.341
4	5	0.15	1.0	52.82 ± 0.217	26.23 ± 0.278	15.87 ± 0.123
5	6	0.05	0.5	40.93 ± 0.586	28.76 ± 0.221	14.54 ± 0.055
6	6	0.05	1.5	47.68 ± 0.953	24.55 ± 0.374	14.58 ± 0.192
7	6	0.10	1.0	55.04 ± 0.651	26.19 ± 0.183	15.75 ± 0.345
8	6	0.10	1.0	54.20 ± 0.431	26.31 ± 0.261	15.96 ± 0.166
9	6	0.15	0.5	52.80 ± 0.837	25.30 ± 1.013	15.38 ± 0.415
10	6	0.15	1.5	51.02 ± 0.444	23.94 ± 0.221	15.45 ± 0.170
11	7	0.05	1.0	47.22 ± 0.497	27.35 ± 0.274	14.16 ± 0.292
12	7	0.10	0.5	49.00 ± 0.472	25.48 ± 0.391	15.04 ± 0.375
13	7	0.10	1.5	50.01 ± 0.874	23.33 ± 0.306	13.33 ± 0.346
14	7	0.15	1.0	50.49 ± 0.031	24.15 ± 0.282	14.10 ± 0.306

Los resultados son expresados como la media ± DS (desviación estándar).

Los datos obtenidos del análisis de luminosidad (L*) se observan en la Tabla 10, los cuales fueron analizados mediante un ANOVA para la creación del modelo final de la ecuación de superficie respuesta en la optimización para la fermentación de una harina roja pigmentada por *Monascus purpureus*.

El análisis de modelo se observa en el Anexo 9, el modelo creado es un polinomio de segundo orden que presentó un coeficiente de regresión ajustado ($R^2=0.93$), lo que indica que se tiene un 93% de variabilidad, ello se podría explicar por la variable independiente, los términos lineales (pH, NaCl y FN), cuadráticos (pH^2 , $NaCl^2$ y FN^2) y las interacciones (pH:NaCl y NaCl:FN) lo cual fueron analizados con un $p<0.05$ de la luminosidad (L^*) de la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*, los demás términos fueron eliminados porque no fueron significativos para el modelo.

$$L^* = -51.39 + 20.35pH + 507.06NaCl + 34.22FN - 12.4pH * NaCl - 85.43NaCl * FN - 1.64pH^2 - 1433.33NaCl^2 - 11.73FN^2 \dots\dots\dots Ecuación (2)$$

En la Figura 18, a) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de para el porcentaje del contenido de fuente nitrogenada 1.03%, b) se muestra la gráfica de contorno con el punto central del contenido de fuente nitrogenada al 1% obteniendo un rango para pH de 5 a 6.5 y la concentración de sal de 0.1 a 0.14%, c) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de pH de 5.74, d) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de pH de 6 obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 0.9 a 1.2% y la concentración de sal de 0.11 a 0.13% e) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de la concentración de sal 0.12%, f) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de la concentración de sal de 0.1% obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 1.0 a 1.2% y un pH de 5.4 a 6.2.

Por lo tanto, las condiciones óptimas se determinaron a 1.03% del contenido de fuente nitrogenada (FN), pH 5.74 y una concentración de sal de 0.12%. En estas condiciones, se puede alcanzar un rendimiento máximo de luminosidad (L^*) de 55.36.

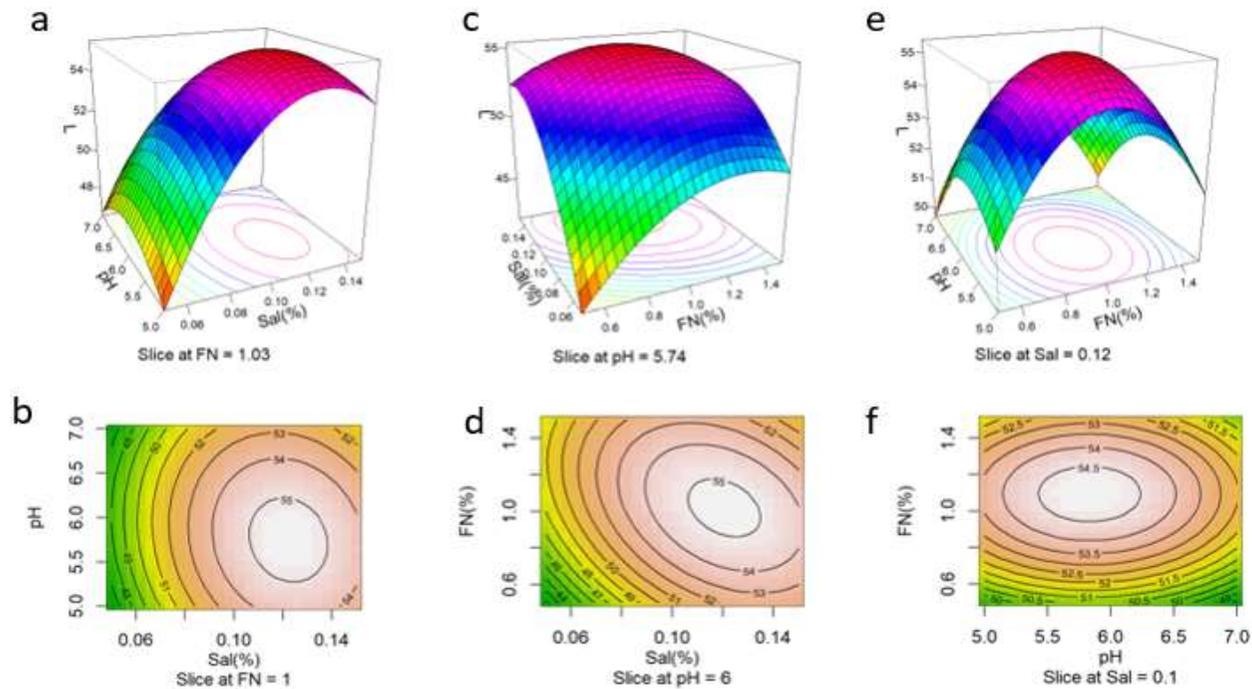


Figura 18: Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación de la luminosidad (L^*) en la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*. a) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo FN=1.03% en función de pH y Sal (%), b) Gráfica de contorno cortado en el punto central FN=1% en función de pH y Sal (%), c) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo pH=5.74 en función de FN(%) y Sal (%), d) Gráfica de contorno cortado en el punto central pH=6 en función de FN(%) y Sal (%), e) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo Sal=0.12% en función de pH y FN(%), f) Gráfica de contorno cortado en el punto central Sal=0.1% en función de pH y FN(%).

Los datos obtenidos del análisis de coordenadas rojo/verde (a^*) se observan en la Tabla 10, los cuales fueron analizados mediante un ANOVA para la creación del modelo final de la ecuación de superficie respuesta en la optimización para la fermentación de una harina roja pigmentada por *Monascus purpureus*.

El análisis de modelo se observa en el Anexo-10 el modelo creado es un polinomio de segundo orden que presentó un coeficiente de regresión ajustado ($R^2=0.91$), lo que indica que se tiene un 91% de variabilidad, ello se podría explicar por la variable independiente, los términos lineales (pH y FN), cuadráticos (pH^2 , $NaCl^2$ y FN^2) y las interacciones ($NaCl:pH$ y $NaCl:FN$) lo cual fueron analizados con un $p<0.05$ de las coordenadas rojo/verde (a^*) de la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*, los demás términos fueron eliminados porque no fueron significativos para el modelo.

$$a^* = 2.05 + 8.42pH + 3.8FN + 27.77NaCl * FN - 13.95NaCl * pH - 0.61pH^2 + 181.56NaCl^2 - 4.46FN^2 \dots\dots\dots Ecuación (3)$$

En la Figura 19, a) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de para el porcentaje del contenido de fuente nitrogenada 0.88%, b) se muestra la gráfica de contorno con el punto central del contenido de fuente nitrogenada al 1% obteniendo un rango para pH de 5.6 a 7 y la concentración de sal de 0.05 a 0.06%, c) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de pH de 5.39, d) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de pH de 6 obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 0.5 a 0.9% y la concentración de sal de 0.05 a 0.06% e) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de la concentración de sal 0.14%, f) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de la concentración de sal de 0.1% obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 0.6 a 0.8% y un pH de 5.4 a 6.2

Por lo tanto, las condiciones óptimas se determinaron a 0.88% del contenido de fuente nitrogenada (FN), pH 5.39 y una concentración de sal de 0.14%. En estas condiciones, se puede alcanzar un rendimiento máximo del color rojo($+a^*$) de 26.15

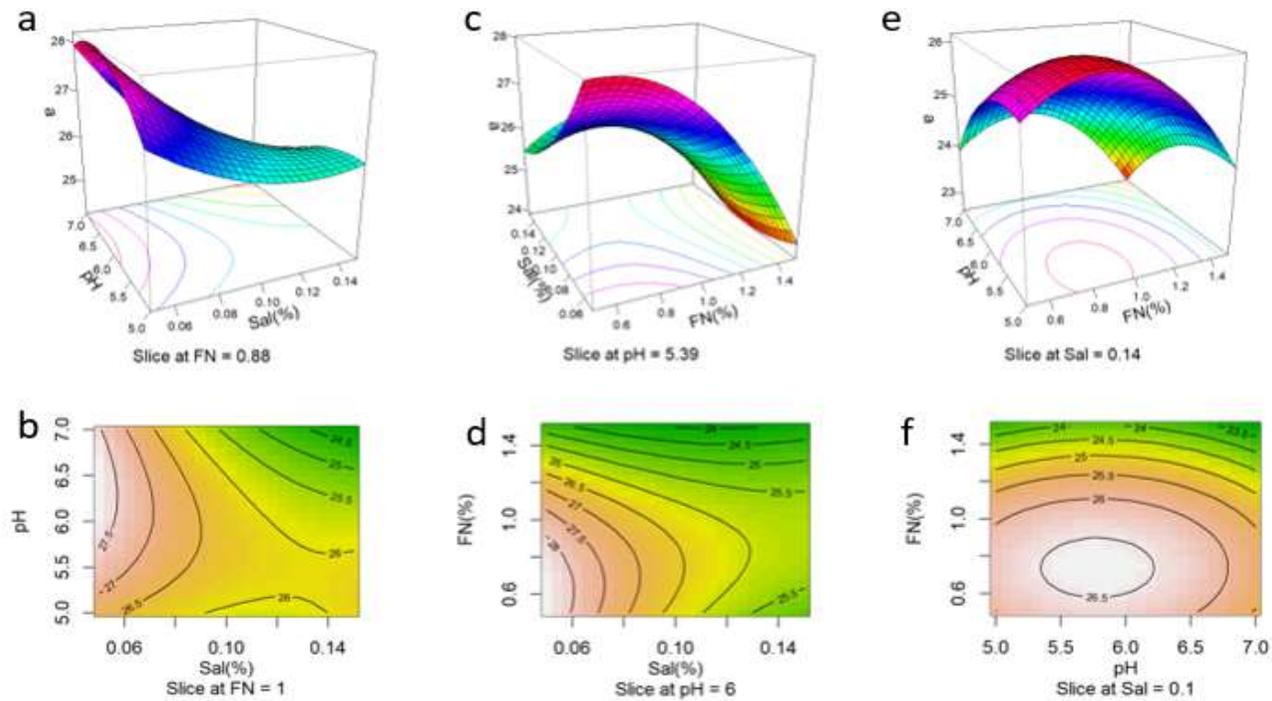


Figura 19: Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación de las coordenadas rojo/verde (a*) en la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*. a) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo FN=0.88% en función de pH y Sal (%), b) Gráfica de contorno cortado en el punto central FN=1% en función de pH y Sal (%), c) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo pH=5.39 en función de FN(%) y Sal (%), d) Gráfica de contorno cortado en el punto central pH=6 en función de FN(%) y Sal (%), e) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo Sal=0.14% en función de pH y FN(%), f) Gráfica de contorno cortado en el punto central Sal=0.1% en función de pH y FN(%).

Los datos obtenidos del análisis de coordenadas amarillo/azul (b^*) se observan en la Tabla 10, los cuales fueron analizados mediante un ANOVA para la creación del modelo final de la ecuación de superficie respuesta en la optimización para la fermentación de una harina roja pigmentada por *M. purpureus*.

El análisis de modelo se observa en el Anexo-11, el modelo creado es un polinomio de segundo orden que presentó un coeficiente de regresión ajustado ($R^2=0.82$), lo que indica que se tiene un 82% de variabilidad, ello se podría explicar por la variable independiente, los términos lineales (pH, NaCl y FN), cuadráticos (pH^2 , $NaCl^2$ y FN^2) y las interacciones (pH:NaCl y pH:FN) lo cual fueron analizados con un $p<0.05$ de las coordenadas amarillo/azul (b^*) de la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*, los demás términos fueron eliminados porque no fueron significativos para el modelo.

$$b^* = -29.13 + 12.1pH + 62.28NaCl + 12.93FN - 5.87pH * NaCl - 1.36pH * FN - 0.88pH^2 - 100.83NaCl^2 - 2.45FN^2 \dots\dots\dots Ecuación (4)$$

En la Figura 20, a) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de para el porcentaje del contenido de fuente nitrogenada 1.1%, b) se muestra la gráfica de contorno con el punto central del contenido de fuente nitrogenada al 1% obteniendo un rango para pH de 5.4 a 6 y la concentración de sal de 0.12 a 0.15%, c) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de pH de 5.54, d) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de pH de 6 obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 0.7 a 1.3% y la concentración de sal de 0.9 a 0.15% e) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de la concentración de sal 0.15%, f) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de la concentración de sal de 0.1% obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 0.8 a 1.3% y un pH de 5.4 a 6.1

Por lo tanto, las condiciones óptimas se determinaron a 1.1% del contenido de fuente nitrogenada (FN), pH 5.54 y una concentración de sal de 0.15%. En estas condiciones, se puede alcanzar un rendimiento máximo de la coordenada amarillo ($+b^*$) de 16.10

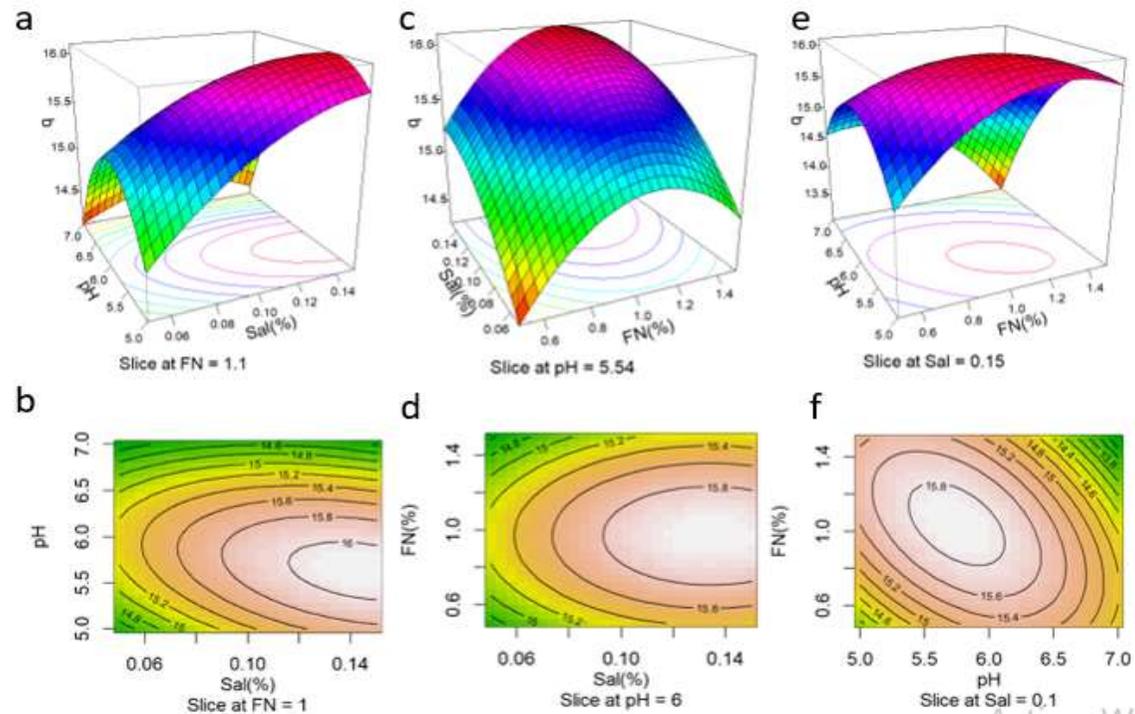


Figura 20: Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación de las coordenadas amarillo/azul (b*) en la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*. a) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo FN=1.1 en función de pH y Sal (%), b) Gráfica de contorno cortado en el punto central FN=1% en función de pH y Sal (%), c) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo pH=5.54 en función de FN(%) y Sal (%), d) Gráfica de contorno cortado en el punto central pH=6 en función de FN(%) y Sal (%), e) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo Sal=0.15% en función de pH y FN(%), f) Gráfica de contorno cortado en el punto central Sal=0.1% en función de pH y FN(%)

Los datos obtenidos del análisis de croma (C*) se observan en la Tabla 10, los cuales fueron analizados mediante un ANOVA para la creación del modelo final de la ecuación de superficie respuesta en la optimización para la fermentación de una harina roja pigmentada por *M. purpureus*.

El análisis de modelo se observa en el Anexo-12, el modelo creado es un polinomio de segundo orden que presentó un coeficiente de regresión ajustado ($R^2=0.9$), lo que indica que se tiene un 90% de variabilidad, ello se podría explicar por la variable independiente, los términos lineales (pH y FN), cuadráticos (pH^2 , $NaCl^2$ y FN^2) y las interacciones (pH:NaCl, pH:FN y NaCl:FN) lo cual fueron analizados con un $p < 0.05$ de croma (C*) de la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*, los demás términos fueron eliminados porque no fueron significativos para el modelo.

$$C^* = -10.9 + 13.07pH + 10.6FN - 12.17pH * NaCl - 0.91pH * FN + 26.945NaCl * FN - 0.95pH^2 + 160.8NaCl^2 - 4.96FN^2 \dots\dots\dots\text{Ecuación (5)}$$

En la Figura 21, a) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de para el porcentaje del contenido de fuente nitrogenada 0.93%, b) se muestra la gráfica de contorno con el punto central del contenido de fuente nitrogenada al 1% obteniendo un rango para pH de 5.6 a 6.5 y la concentración de sal de 0.05 a 0.06%, c) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de pH de 5.55, d) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de pH de 6 obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 0.5 a 0.9% y la concentración de sal de 0.05 a 0.06% e) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de la concentración de sal 0.12%, f) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de la concentración de sal de 0.1% obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 0.6 a 1.1% y un pH de 5.3 a 6.4

Por lo tanto, las condiciones óptimas se determinaron a 0.93% del contenido de fuente nitrogenada (FN), pH 5.55 y una concentración de sal de 0.12%. En estas condiciones, se puede alcanzar un rendimiento máximo de croma (C*) de 30.53.

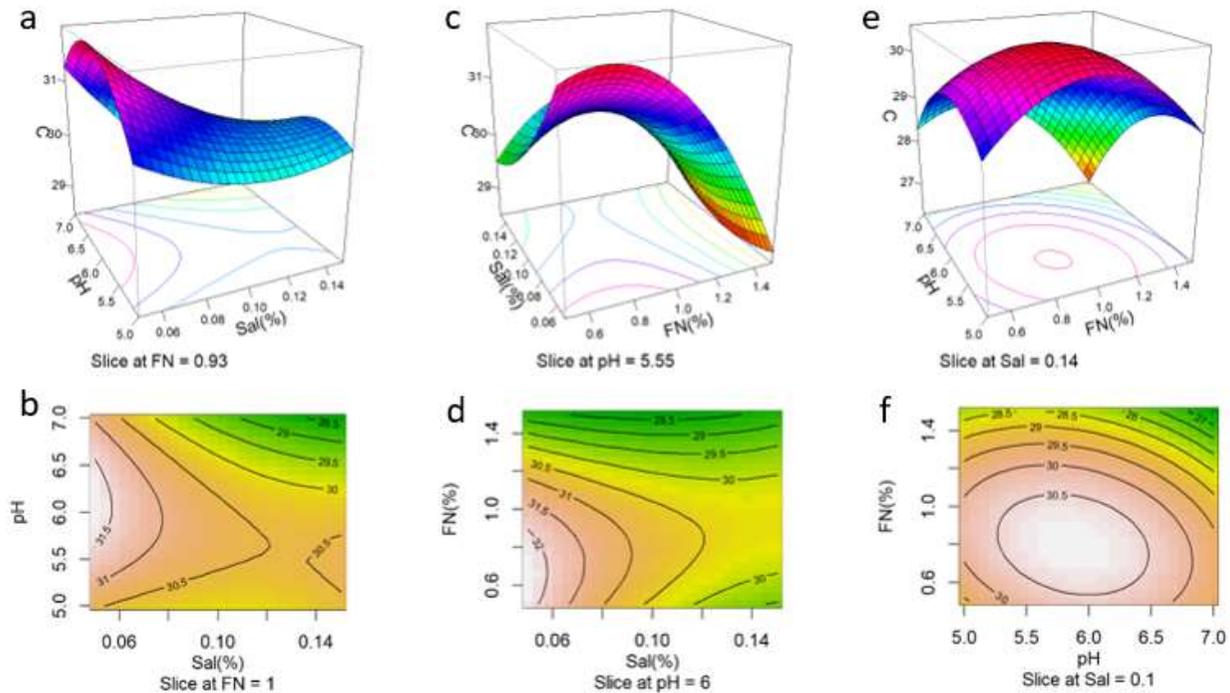


Figura 21: Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación del croma (C^*) en la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*. a) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo FN=0.93% en función de pH y Sal (%), b) Gráfica de contorno cortado en el punto central FN=1% en función de pH y Sal (%), c) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo pH=5.55 en función de FN(%) y Sal (%), d) Gráfica de contorno cortado en el punto central pH=6 en función de FN(%) y Sal (%), e) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo Sal=0.14% en función de pH y FN(%), f) Gráfica de contorno cortado en el punto central Sal=0.1% en función de pH y FN(%)

Los datos obtenidos del análisis del ángulo de tono (h°) se observan en la Tabla 10, los cuales fueron analizados mediante un ANOVA para la creación del modelo final de la ecuación de superficie respuesta en la optimización para la fermentación de una harina roja pigmentada por *M. purpureus*.

El análisis de modelo se observa en el Anexo-13, el modelo creado es un polinomio de segundo orden que presentó un coeficiente de regresión ajustado ($R^2=0.88$), lo que indica que se tienen un 88% de variabilidad, ello se podría explicar por la variable independiente, los términos lineales (pH, NaCl y FN), cuadráticos (pH^2 y $NaCl^2$) y las interacciones (pH:FN y NaCl:FN) lo cual fueron analizados con un $p < 0.05$ del ángulo de tono (h°) de la harina de quinua fermentada por *M. purpureus*, los demás términos fueron eliminados porque no fueron significativos para el modelo.

$$h^\circ = -23.01 + 12.8pH + 120.45NaCl + 17FN - 2.11pH * FN - 23.4NaCl * FN - 0.92pH^2 - 336.6NaCl^2 \dots\dots\dots\text{Ecuación (6)}$$

En la Figura 22, a) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de para el porcentaje del contenido de fuente nitrogenada 0.71%, b) se muestra la gráfica de contorno con el punto central del contenido de fuente nitrogenada al 1% obteniendo un rango para pH de 5.2 a 6.5 y la concentración de sal de 0.11 a 0.15%, c) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de pH de 6.2, d) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de pH de 6 obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 1.2 a 1.5% y la concentración de sal de 0.08 a 0.15% e) se observa la gráfica de superficie respuesta teniendo un punto óptimo de la concentración de sal 0.16%, f) se muestra la gráfica de contorno con el punto central de la concentración de sal de 0.1% obteniendo un rango del contenido de fuente nitrogenada de 1.4 a 1.5% y un pH de 5 a 5.8.

Por lo tanto, las condiciones óptimas se determinaron a 0.71% del contenido de fuente nitrogenada (FN), pH 6.2 y una concentración de sal de 0.16%. En estas condiciones, se puede alcanzar un rendimiento máximo del ángulo de tono (h°) de 31.64.

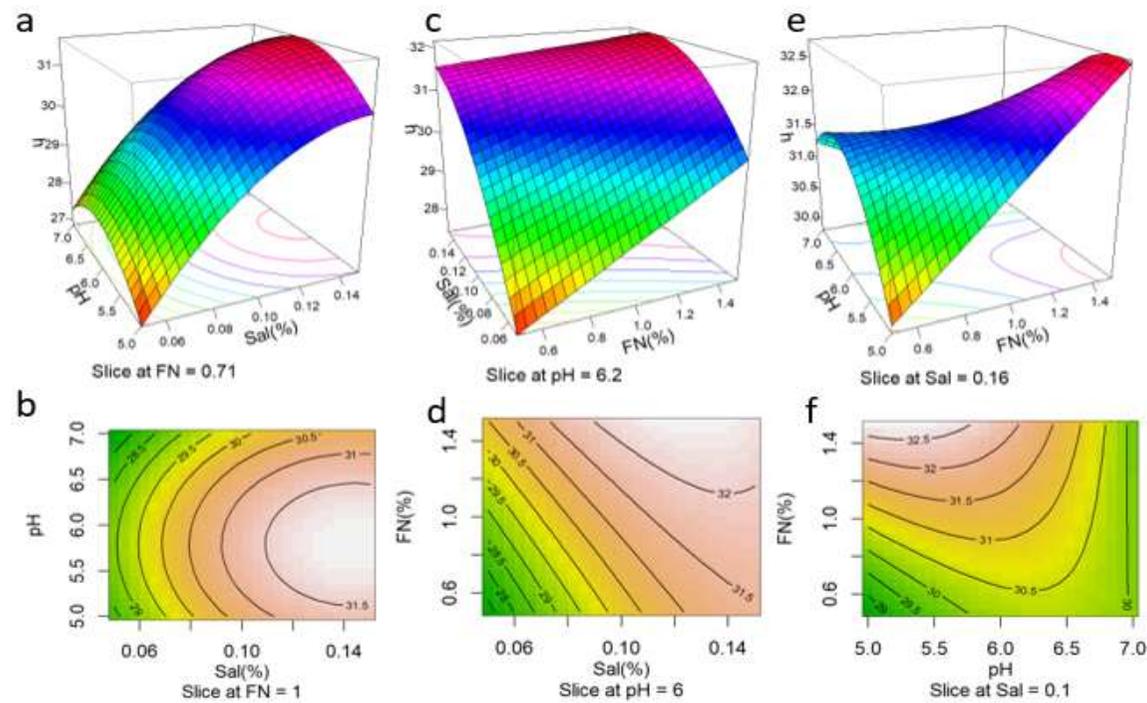


Figura 22: Gráfica de contorno y superficie de respuesta que muestran el efecto del pH, NaCl (%) y FN (%) en la evaluación del ángulo de tono (h°) en la harina de quinua fermentada por *Monascus purpureus*. a) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo FN=0.71% en función de pH y Sal (%), b) Gráfica de contorno cortado en el punto central FN=1% en función de pH y Sal (%), c) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo pH=6.2 en función de FN(%) y Sal (%), d) Gráfica de contorno cortado en el punto central pH=6 en función de FN(%) y Sal (%), e) Superficie de respuesta en el valor máximo óptimo Sal=0.16% en función de pH y FN(%), f) Gráfica de contorno cortado en el punto central Sal=0.1% en función de pH y FN(%)

Las ecuaciones y valores obtenidos anteriormente mediante L^* , a^* , b^* , C^* y h° son producto de la coloración de la harina por la producción de pigmentos de *Monascus purpureus* a medida que va pasando el tiempo, durante la fermentación se van desarrollando los pigmentos amarillos, anaranjados y rojos siendo este último el que tiene mayor relevancia en la investigación.

Determinar los niveles óptimos en la producción de pigmentos dentro de la fermentación de *Monascus* es clave para obtener un ahorro de los medios a utilizar, los materiales y el tiempo en el laboratorio; la optimización ayuda en el ahorro de costos utilizando lo necesario para la fermentación y evitando utilizar componentes que no aporten en la producción de metabolitos de la cepa de interés (Embaby *et al.*, 2018).

Dentro de los factores más importantes es el pH, donde se obtuvieron los valores óptimos: 5.74, 5.39, 5.54, 5.55 y 6.2 para L^* , a^* , b^* , C^* y h° respectivamente obteniéndose un rango de 5.39 a 6.2, los datos mencionados dan una preferencia del hongo a ambientes ácidos, según las investigaciones realizadas por Chen *et al.* (2021) indicaron que *Monascus spp.* requiere de un entorno ácido y por ello el factor más importante es el pH el cual ha demostrado que influye significativamente en la producción de pigmentos.

Por su parte Embaby *et al.* (2018) indicaron que el valor inicial del pH es un factor crucial para el éxito de la producción de pigmentos, en el cual informan que existen numerosas cepas de *Monascus* y con ello diferentes comportamientos a distintos pH iniciales, según la cepa la producción puede cambiar, pero según las investigaciones se ha relacionado un pH óptimo entre 4.5-5 es decir pH ácido en la producción de pigmentos rojos y naranjas.

Pineda *et al.* (2016) demostraron que el género *Monascus* puede crecer en un amplio rango de pH desde 2.5 a 8, aunque existen investigaciones donde se encontró que *Monascus ruber* puede crecer a pH de 1.7 a 2 pero se obtiene una escasa producción de pigmentos a pH muy bajos, por ello recomendaron que la producción de pigmentos debe darse a intervalos de pH de 4 a 7 en donde encontraron una mayor producción de ellos.

Cuando se fermentó con *Monascus* a un sustrato de orujo de papa, se obtuvo que a pH inferiores a 3 se inhibe el crecimiento de la biomasa fúngica, a pH 5 y 6 se obtuvo una concentración de biomasa mayor la cual no presentó diferencias significativas, pero la

concentración de pigmentos sí varió, siendo una mayor producción de pigmentos a pH 5 obteniendo un 16% y 25.6% más que a pH 6 para los pigmentos rojos y amarillos respectivamente (Chen *et al.*, 2021).

Las investigaciones realizadas por Babitha *et al.* (2007b) demostraron que la producción de pigmentos de *Monascus* en semillas de yaca, se dio en un amplio rango de pH, de 4.5 a 7.5, aunque a diferentes pH el rendimiento de producción de pigmentos varió. A pH inferiores a 2.5 no se observó el crecimiento del hongo, siendo a pH 4 la mayor producción de biomasa, pero en la producción de pigmentos hubo un mayor rendimiento desde pH 4.5 hasta 7.5, los investigadores relacionaron este rango de producción a un efecto tampón del sustrato utilizado.

Velmurugan *et al.* (2011) trabajaron una investigación similar con *M. purpureus* en semillas de yaca como sustrato, ellos observaron que la mayor producción de pigmentos amarillos y rojo fueron a pH 6 y 5 respectivamente, la producción de pigmentos se redujo considerablemente a pH 7 y 8, a pH superiores se inhibió por completo la producción.

El pH inicial de la fermentación interactúa con el contenido de fuente nitrogenada del medio donde se fermenta el hongo, Pineda *et al.* (2016) indican que el pH influye significativamente en el consumo de nitrógeno del medio, además de actuar en la exportación de derivados intracelulares ionizables durante el proceso la fermentación.

Cuando se describe la fuente de nitrógeno en el medio se hace referencia a los componentes que tienen nitrógeno como las proteínas, péptidos, ácidos nucleicos o algún tipo de compuesto nitrogenado, donde la fuente puede afectar el crecimiento de los hongos induciendo o inhibiendo la producción de metabolitos secundarios de interés (Hong *et al.*, 2020).

En el factor de porcentaje del contenido de fuente nitrogenada (FN) se obtuvieron los valores óptimos a 1.03, 0.88, 1.10, 0.93 y 0.71 para L*, a*, b*, C* y h° respectivamente obteniendo un rango de 0.71 a 1.1 para el porcentaje de fuente nitrogenada que fue el hidrolizado de pescado.

Las investigaciones realizadas por Fallah *et al.* (2015) demostraron que se puede utilizar el hidrolizado de pescado para preparar un medio de cultivo como una buena fuente de nitrógeno, ellos utilizaron enzimas alcalasa y tripsinasa para la hidrólisis de filete de carpa resultando un medio adecuado para el cultivo de *Staphylococcus aureus* el cual resultó eficiente en comparación con el medio comercial de Caldo soja Tripticaseína (TSB). Esto se debe a que el contenido de fuente nitrogenada proveniente del hidrolizado de pescado contiene una mezcla compleja de aminoácidos libres con pequeños fragmentos de péptido, dipéptidos y tripéptidos que son fácilmente asimilables (Nesse *et al.* 2014).

Dentro de la industria biotecnológica existe una fuerte demanda en la elaboración de medios de cultivos de microorganismos, siendo indispensable en la elaboración de los medios el contenido de fuente nitrogenada que es uno de los ingredientes más costosos en la elaboración, el hidrolizado de pescado es una fuente económica para la elaboración (Fallah *et al.* 2015).

En la producción de pigmentos de *Monascus* es de suma importancia el contenido de fuente nitrogenada ya que se ha observado que los pigmentos tendrán diferentes características dependiendo de la fuente proveniente del nitrógeno. Por ejemplo, cuando se utiliza amonio como contenido de fuente nitrogenada se obtiene una producción mayor de los pigmentos rojos, mientras que cuando se usa una fuente peptonada los pigmentos que se producen son el amarillo y una cantidad menor de pigmentos rojos (Hong *et al.*, 2020).

De Oliveira *et al.* (2022) indicaron que la producción de pigmentos naranja, amarillo y rojo depende en gran medida de los nutrientes sobre todo por la fuente de nitrógeno en el medio de cultivo, pero a su vez resaltó la importancia del pH inicial en el cultivo.

Kim *et al.* (2011) indicaron que en la producción del hongo *Agaricus bisporus* el medio de cultivo que normalmente se utiliza es el medio de papa dextrosa suplementado con extracto de levadura, malta y soya, sin embargo, es costoso lo que dificulta su producción, es por ello que utilizaron otras fuentes de nitrógeno como NaNO_3 para reemplazar la fuente costosa de nitrógeno como la peptona de soya en el medio de cultivo.

Es de importancia tener un equilibrio en el contenido de fuente nitrogenada ya que los pigmentos tienen en su estructura al nitrógeno y la carencia de esa fuente podría disminuir la producción de pigmentos. Por ejemplo, en la investigación de Carvalho *et al.* (2007) investigaron la producción de pigmentos utilizando el bagazo de yuca (bajo en proteína) como medio de sustrato, donde observaron que el medio requería ser suplementado con fuentes de nitrógeno para poder mejorar la producción de pigmentos.

La concentración de cloruro de sodio puede generar un estrés salino, sin embargo, los hongos tienen variedades de adaptaciones para evitar el daño celular, por ejemplo, *Hortea werneckii* y *Wallemia ichthyophaga* en concentraciones altas de sales promueven la producción de pigmentos, sintetizan solutos para regular las células con su entorno, modifican la pared celular, regulan la fluidez de la membrana celular, entre otros (Jiménez-Gómez *et al.*, 2020).

Los valores óptimos del factor cloruro de sodio (NaCl) para cada una de las variables respuestas fueron 0.12, 0.14, 0.15, 0.14 y 0.16 para L*, a*, b*, C* y h° respectivamente obteniendo un rango de datos de 0.12 a 0.16.

Las investigaciones realizadas por Zhen *et al.* (2019) indicaron como influye la adición de NaCl sobre la colonia de *M. purpureus* utilizando el medio caldo papa dextrosa, donde el crecimiento no se vio afectado a concentraciones bajas de NaCl (0.06 y 0.12). Por otro lado, la producción de pigmentos a concentraciones altas de 1.17 y 2.34% fue lenta a diferencia de las concentraciones bajas de 0.06% y 0.12% donde la producción de los pigmentos amarillo, naranja y rojo aumentaron considerablemente.

La producción de pigmentos depende de la cepa de *Monascus*, Dikshit *et al.* (2013) compararon la cepa de *Monascus purpureus* MTCC 410 y *Monascus sanguineus* que son reconocidas internacionalmente por su producción de pigmentos naturales, sus investigaciones fueron realizadas en diferentes condiciones de sal, donde ambas cepas mostraron un aumento de la producción de pigmentos en condiciones de estrés.

En presencia de sal, algunos microorganismos mejoran la producción de pigmentos como respuesta al estrés salino. Mohite *et al.* (2017) investigaron la cepa *Williopsis saturnus* la cual demostró una mayor producción de pigmentos color oscuro en presencia de sal al

4% el pigmento producido fue la melanina que ayuda a proteger a las células fúngicas cuando son sometidas a distintas condiciones de estrés como la osmótica producida por la sal.

Sin embargo, otros microorganismos no son tolerantes a concentraciones de sales, ya que la sal induce al estrés osmótico que genera una contracción en el citoplasma causando daño considerable al microorganismo. En las investigaciones realizadas por Liu *et al.* (2017) observaron que la cepa de *Aspergillus montevideusis* ZYD4 no mostró producción de pigmentos inclusive a condiciones de bajo estrés salino.

Generalmente la fermentación en sustrato sólido es ventajosa en algunos aspectos sobre todo cuando no se requiere separar las biomoléculas producidas, siendo ideal utilizar la matriz sólida como fuente de materia prima para generar nuevos productos, aunque por lo general se utiliza a *Monascus* en fermentación sólida de arroz como sustrato, el cual es utilizado en diferentes aplicaciones en las zonas orientales (Vendruscolo *et al.*, 2016).

4.3. Composición proximal

Las propiedades tecnofuncionales se presentan en la Tabla 11 y sus análisis en los Anexos 14-19, donde se observó un alto contenido de proteínas en la harina fermentada, debido al incremento que ejerce también el hongo en su estructura, siendo para la harina fermentada el valor de 27.99 ± 0.54 (%) y para la harina sin fermentar 12.25 ± 0.09 (%), por su parte Badia-Olmos *et al.* (2023) reportaron la composición proximal 16.2, 14.9 y 11.6 para las harinas de quinua, amaranto y avena respectivamente. La cantidad de ceniza encontrada fue mayor en la harina fermentada con un 4.45 ± 0.43 (%) y para la harina sin fermentar fue 1.75 ± 0.04 (%) obteniéndose un incremento de producto de los componentes formados por el hongo.

Tabla 11: Composición proximal de la harina de quinua fermentada y sin fermentar

Muestra	Proteína	Ceniza	Grasa	Carbohidrat o	Humedad	Materia Seca
Harina fermentada	27.99 ± 0.54 ^a	4.45 ± 0.43 ^a	7.45 ± 1.02 ^a	54.42 ± 1.46 ^a	5.68 ± 0.67 ^a	94.32 ± 0.67 ^a
Harina sin fermentar	12.25 ± 0.09 ^b	1.75 ± 0.04 ^b	4.50 ± 0.26 ^b	78.80 ± 0.14 ^b	2.69 ± 0.49 ^b	97.31 ± 0.49 ^b

Los resultados son expresados como la media ± DS (desviación estándar). Las letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$)

En el caso de la grasa se obtuvo un considerable aumento en la harina fermentada de 7.45 ± 1.02 y 4.50 ± 0.26 para la harina sin fermentar, debido a la grasa proporcionada por la adición del hidrolizado de pescado y el hongo durante la fermentación. Por su parte Badia-Olmos *et al.* (2023) informaron en su composición proximal que obtuvieron 4.6, 4.9 y 5.1 para las harinas de quinua, amaranto y avena respectivamente. En el análisis de carbohidratos de obtuvo una disminución notoria en la harina fermentada obteniéndose 54.42 ± 1.46 y 78.80 ± 0.14 para la harina sin fermentar. Durante la fase logarítmica de la fermentación el hongo está en constante respiración celular utilizando los carbohidratos del medio y liberando CO_2 a la atmosfera, por ende, disminuye la cantidad de carbohidratos. La humedad fue mayor para la harina fermentada obteniéndose un 5.68 ± 0.67 y 2.69 ± 0.49 para la harina no fermentada, la materia seca fue menor para la harina fermentada obteniéndose un 94.32 ± 0.67 y 97.31 ± 0.49 para la harina no fermentada.

4. 4. Propiedades tecnofuncionales

Las propiedades tecnofuncionales se presentan en la Tabla 12 y sus análisis en los Anexos 20-25, donde sus propiedades dependerán del contenido de proteínas, lípidos o hidratos de carbono, además de las interacciones propias que puede tener dentro de la matriz alimentaria, sean compuestos como pectinas, fenoles, etc. Los procesos industriales pueden afectar las propiedades tecnofuncionales, afectando directamente a los almidones, grasas, la desnaturalización de las proteínas. Determinar estas propiedades puede ayudar

en la utilización de las harinas de forma parcial o total en la producción de nuevos productos (Pedrosa *et al.*, 2020; Sotelo-Díaz *et al.*, 2023).

Tabla 12: Propiedades tecnofuncionales

Muestra	CRA (g/g)	CAA (g/g)	AE (%)	EE (%)	CFE (%)	EEp (%)
Harina fermentada	2.39 ±	1.13 ±	60.11 ±	56.47 ±	2 ± 1 ^a	57.44 ±
	0.06 ^a	0.01 ^a	0.56 ^a	1.21 ^a		8.48 ^a
Harina sin fermentar	1.03 ±	1.07 ±	58.22 ±	55.72 ±	13.3 ±	79.05 ±
	0.02 ^b	0.02 ^a	0.11 ^b	1.50 ^b	2.5 ^b	7.61 ^b

Los resultados son expresados como la media ± DS (desviación estándar). Las letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias estadísticas significativas (p < 0.05)

Las proteínas son una fuente nutricional importante, además de ser conocidas al momento de analizar las propiedades tecnofuncionales, que juegan un rol importante en el proceso de elaboración y en mucho de los casos responsable de la estructura final del producto, siendo las investigaciones más resaltantes las de proteína de soja y de guisantes. Por otro lado, los hidratos de carbono (almidón y fibra) y lípidos también afectan las propiedades tecnofuncionales, estos dos componentes principales y sus interacciones determinarán su idoneidad como ingrediente base de nuevos productos, el almidón por ejemplo tiende a gelatinizar cuando es sometido a calentamiento formando parte importante en la determinación de las propiedades reológicas al final del producto (Badia-Olmos, *et al.*, 2023).

4. 4. 1. Capacidad de retención de agua (CRA) y Capacidad de absorción de aceite (CAA)

La capacidad de retención de agua y de absorción de aceite son características importantes en el procesamiento y aplicaciones alimentarias, ambas se encuentran relacionadas con la capacidad de poder absorber y retener agua y aceite respectivamente, afectando la textura, sabor en los productos y la sensación en la boca del producto siendo de uso importante en las panaderías o productos cárnicos (Pellegrini *et al.*, 2018; Vanqa *et al.*, 2022).

La característica propia de la harina que afecta la propiedad de retención de agua es la cantidad de proteínas, que incluye la composición de aminoácidos y la polaridad e hidrofobicidad de la superficie (Vanga *et al.*, 2022).

La capacidad de retención de agua de la harina de quinua fermentada fue 2.39 ± 0.06 (g/g) mientras que para la harina sin fermentar fue 1.03 ± 0.06 (g/g), la retención de agua de la harina fermentada es mayor. Otras investigaciones que analizaron la capacidad de retención de agua fueron realizadas por Badia-Olmos *et al.* (2023) donde obtuvieron 1.43, 1.58 y 1.60 (g/g) para la harina de quinua, amaranto y avena respectivamente.

Pellegrini *et al.* (2018) obtuvieron 1.5, 1.6, 1.44 y 1.49 (g/g) para las harinas de quinua blanca española obtenidas de agricultura ecológica, quinua blanca peruana, quinua roja real boliviana obtenida de agricultura orgánica, quinua negra boliviana real obtenida de agricultura orgánica. Vanga *et al.* (2022) utilizaron la harina proveniente de insectos obteniendo 1.30, 0.11 y 1.46 (g/g) para las harinas hechas a base de *Gonimbrasia belina*, *Hermetia illucens* y *Macrotermes subhylanus* respectivamente.

Con una buena capacidad de retención de agua, la harina se puede utilizar para preparar papillas, ya que la cantidad de agua retenida puede ser utilizada por el almidón y ayudar a la gelatinización del producto (Abd *et al.*, 2005), además Sharma *et al.* (2022) consideraron que los productos con alta absorción de agua pueden ser ingredientes para productos como panadería, sopas, productos lácteos.

La capacidad de retención de aceite de las muestras de harina de quinua fermentada fue 1.13 ± 0.01 (g/g) mientras que para la harina sin fermentar fue 1.07 ± 0.02 (g/g), la capacidad de retención de aceite de harina fermentada es mayor. Otras investigaciones que analizaron la capacidad de retención de aceite fueron realizadas por Badia-Olmos *et al.* (2023) donde obtuvieron un valor de 0.93, 0.85 y 0.97 para la harina de quinua, amaranto y avena.

Pellegrini *et al.* (2018) obtuvieron 1.01, 1.02, 0.96 y 0.89 (g/g) para las harinas de quinoa blanca española obtenida de agricultura ecológica, quinua blanca peruana, quinua roja real boliviana obtenida de agricultura orgánica, quinua negra boliviana real obtenida de agricultura orgánica.

Vanqa *et al.* (2022) obtuvieron 0.89, 1.35 y 1.48 (g/g) para las harinas hechas a base de *Gonimbrasia belina*, *Hermetia illucens*, *Macrotermes subhyllanus* respectivamente. Mientras que Absi *et al.* (2023) obtuvieron los valores de 1.19, 2.25, 2.92 y 3.10 (g/g) para las harinas hechas a base de harina de cáñamo orgánico, harina de cáñamo convencional, concentrado de proteína orgánica y concentración de proteína de cáñamo convencional respectivamente.

La capacidad de retención de aceite se ve afectada por la proteína de la harina la cual puede unirse físicamente a la grasa mediante acciones de capilaridad, siendo de mucha importancia en la fabricación de nuevos alimentos ya que las grasas retienen el sabor y aumentan la capacidad para saborear los alimentos, muy usado en las panaderías o embutidos (Vanqa *et al.*, 2022). Las harinas con una alta capacidad de retención de aceite según Sharma *et al.* (2022) son utilizadas en la fabricación de salchichas para retener por un tiempo más prolongando la sensación del sabor en la boca.

4. 4. 2. Actividad emulsionante (AE) y Estabilidad emulsionante (EE)

La actividad emulsionante (%) de las muestras de harina de quinua fermentada fue 60.11 ± 0.56 (%) mientras que para la harina sin fermentar fue 58.22 ± 0.11 (%), la actividad emulsionante (%) de harina fermentada es mayor. Otras investigaciones que analizaron la actividad emulsionante (%) fueron realizadas por Badia-Olmos *et al.* (2023) donde obtuvieron valores de 13.8, 3.3 y 0.5 (%) para la harina de quinua, amaranto y avena respectivamente, aunque los valores de los autores fueron bajos, es porque en su metodología utilizaron una menor cantidad de muestra aun así en proporción siguen siendo valores inferiores a los obtenidos en la presente investigación.

Pellegrini *et al.* (2018) obtuvieron 33, 39, 36 y 26 (%) para las harinas de quinoa blanca española obtenida de agricultura ecológica, quinua blanca peruana, quinua roja real boliviana obtenida de agricultura orgánica y la quinua negra boliviana real obtenida de agricultura orgánica respectivamente. Vanqa *et al.* (2022) obtuvieron 41.76, 67.33 y 45.44 (%) para las harinas hechas a base de *Gonimbrasia belina*, *Hermetia illucens* y *Macrotermes subhyllanus* respectivamente.

La estabilidad de la emulsión (%) de las muestras de harina de quinua fermentada fue 56.47 ± 1.21 (%) mientras que para la harina sin fermentar fue 79.05 ± 7.61 (%), la estabilidad de la emulsión (%) de harina fermentación es menor. Otras investigaciones realizadas en la estabilidad de la emulsión (%) fueron realizadas por Pellegrini *et al.* (2018) quienes obtuvieron resultados de 100, 58, 49 y 39 (%) para las harinas de quinua blanca española obtenida de agricultura ecológica, quinua blanca peruana, quinua roja real boliviana obtenida de agricultura orgánica y la quinua negra boliviana real obtenida de agricultura orgánica respectivamente. Vanqa *et al.* (2022) obtuvieron 33.75, 42.45 y 32.80 (%) para las harinas hechas a base de *Gonimbrasia belina*, *Hermetia illucens* y *Macrotermes subhylanus* respectivamente.

Los agentes tensioactivos provenientes de la proteína de la harina forman y estabilizan la emulsión creando una repulsión electrostática con la superficie de la gota de aceite, esta actividad se ve afectada por el peso molecular hidrofobicidad, estabilidad de conformación, carga superficial y propiedades fisicoquímicas, como el pH, la fuerza iónica y la temperatura. Los emulsionantes más utilizados son la caseína y el suero de leche. Las propiedades mencionadas son útiles en la fabricación de mayonesa, aderezos para formular salsas y la producción de helados (Abd *et al.*, 2005; Vanqa *et al.*, 2022).

4. 4. 3. Capacidad de formación de espuma (CFE) y Estabilidad de la espuma (EEp)

La Capacidad de formación de espuma (%) de las muestras de harina de quinua fermentada fue 2 ± 1 (%) mientras que para la harina sin fermentar fue 13.3 ± 2.5 (%), la Capacidad de formación de espuma (%) de harina sin fermentada fue mayor. Otras investigaciones analizaron la capacidad de formación de espuma (%) donde Badia-Olmos *et al.* (2023) obtuvieron valores de 34.3, 13.6 y 0 para la harina de quinua, amaranto y avena respectivamente. Vanqa *et al.* (2022) obtuvieron 5.81, 5.69 y 4.71 (%) para las harinas hechas a base de *Gonimbrasia belina*, *Hermetia illucens* y *Macrotermes subhylanus* respectivamente.

En las investigaciones realizadas por Absi *et al.* (2023) utilizaron menos cantidad de muestra en el análisis de su metodología aun así los resultados que obtuvieron fueron altos dando valores de 70.35, 69.81, 110.14 y 85.71 (%) para las harinas hechas a base de harina de cáñamo orgánico, harina de cáñamo convencional, concentrado de proteína orgánica y concentración de proteína de cáñamo convencional respectivamente, estas

harinas tenían una alta cantidad de proteína y con ello una mayor formación y estabilidad de la espuma.

La estabilidad de la formación de espuma de la harina de quinua fermentada fue 57.44 ± 8.48 % mientras que para la harina sin fermentar fue 79.05 ± 7.61 (%), la estabilidad de la formación de espuma de harina sin fermentación es mayor (Tabla 12). Badia-Olmos *et al.* (2023) obtuvieron un valor de 24.1, 4.9 y 0% para la harina de quinua, amaranto y avena respectivamente.

Vanqa *et al.* (2022) obtuvieron 95.32, 97.38, 97.51 (%) para las harinas hechas a base de *Gonimbrasia belina*, *Hermetia illucens* y *Macrotermes subhylanus* respectivamente. Mientras que para Absi *et al.* (2023) los valores fueron de 29.25, 27.04, 44.93 y 39.69 (%) para las harinas hechas a base de harina de cáñamo orgánico, harina de cáñamo convencional, concentrado de proteína orgánica y concentración de proteína de cáñamo convencional respectivamente.

Según Vanga *et al.* (2022) indican que la espuma formada son agrupaciones coloidales que constan de una parte acuosa continua y una gaseosa de forma dispersa, esta formación se rige por el transporte, penetración y reorganización que sufren las moléculas en la interfase de aire-agua. Para considerar las buenas propiedades espumantes de una harina las proteínas deben migrar rápidamente a la interfase aire-agua, desplegarse y reorganizarse dentro de las interfases.

La poca capacidad de la harina fermentada de formar espuma se puede deber a las proteínas globulares altamente ordenadas que generan resistencia a desnaturalizarse cuando llega a las superficies. La baja formación de espuma se ve afectada porque la proteína de la harina de quinua fermentada aumenta la tensión superficial del agua y ello ocasiona la disminución de la formación de espuma frente a la harina de quinua que obtuvo una formación de espuma mayor (Abd *et al.*, 2005).

En otras investigaciones presentaron harinas que no tuvieron formación de espuma, por ejemplo, las investigaciones realizadas por Abd *et al.* (2005) quienes utilizaron la harina de sorgo fermentada y sin fermentar donde las harinas no tuvieron la capacidad de formar espuma.

V. CONCLUSIONES

- Al octavo día se obtuvo el mejor tiempo de fermentación de *Monascus purpureus*, con un L*, a*, b* C* y h° de 44.66 ± 0.532 , 20.27 ± 0.323 , 17.89 ± 1.342 , 27.05 ± 1.100 y 41.39 ± 1.774 respectivamente.
- La optimización fue a un pH de 6.39, concentración de hidrolizado de 0.88% y cloruro de sodio al 0.14%, obteniendo valores para los análisis de L*, a*, b*, C* y h° de 57.75, 26.15, 15.90, 30.49 y 31.48 respetivamente.
- La composición proximal de la harina de quinua fermentada fue mucho mayor en el análisis de proteínas y grasa siendo 27.99 ± 0.54 y 7.45 ± 1.02 respectivamente.
- Las características tecnofuncionales dieron una retención de agua de 2.39 ± 0.06 g/g, capacidad de retención de aceite de 1.13 ± 0.01 g/g, capacidad emulsionante de $60.11 \pm 0.56\%$, estabilidad de la emulsión $56.47 \pm 1.21\%$ capacidad de formación de espuma $2 \pm 1\%$. estabilidad de la formación de espuma de $57.44 \pm 8.48\%$.
- La harina roja producida mediante fermentación de *Monascus purpureus* adicionando cloruro de sodio e hidrolizado de pescado tienen potencial para ser usado en la industria alimentaria.

VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar la optimización con nuevos parámetros ajustando la humedad del medio en diferentes porcentajes, aireación y porcentaje de inóculo.
- Evaluar la optimización de la extracción de los pigmentos producidos por *Monascus purpureus* mediante técnicas cromatográficas y observar si existe la presencia de nuevos metabolitos de interés industrial.
- Evaluar la harina roja utilizando modificaciones físicas o químicas en la mejora de sus propiedades tecnofuncionales y determinar sus posibles aplicaciones.
- Generar un protocolo para la extracción y la determinación de citrinina en la harina roja producida y en los productos de interés.
- Aplicar la harina producida mediante un diseño de mezclas utilizando matrices alimentarias en productos de panadería, cárnicos, embutidos, bebidas, etc. Utilizando como variable respuesta el análisis de las coordenadas cromáticas CIELab*

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd Elmoneim, O. E., Schiffler, B., & Bernhardt, R. (2005). Effect of fermentation on the functional properties of sorghum flour. *Food Chemistry*, 92(1), 1-5.
- Abdel-Raheem, H. E., Alrumman, S. A., Gadow, S. I., El-Sayed, M. H., Hikal, D. M., Hesham, A. E. L., & Ali, M. (2022). Optimization of *Monascus purpureus* for Natural Food Pigments Production on Potato Wastes and Their Application in Ice Lolly. *Frontiers in Microbiology*, 13, 862080.
- Absi, Y., Revilla, I., & Vivar-Quintana, A. M. (2023). Commercial Hemp (*Cannabis sativa* Subsp. *sativa*) Proteins and Flours: Nutritional and Techno-Functional Properties. *Applied Sciences*, 13(18), 10130.
- Admassu, H., Gasmalla, M. A. A., Yang, R., & Zhao, W. (2018). Bioactive peptides derived from seaweed protein and their health benefits: antihypertensive, antioxidant, and antidiabetic properties. *Journal of Food Science*, 83(1), 6-16.
- AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). (1990). Official Methods of Analysis of the AOAC, 15th Edition. *AOAC International*, Gaithersburg, MD.
- Asaduzzaman, A. K. M., & Chun, B. S. (2014). Hydrolyzates produced from mackerel *Scomber japonicus* skin by the pressurized hydrothermal process contain amino acids with antioxidant activities and functionalities. *Fisheries science*, 80(2), 369-380.
- Babitha, S., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2007a). Effect of stress on growth, pigment production and morphology of *Monascus* sp. in solid cultures. *Journal of Basic Microbiology*, 47(2), 118-126.
- Babitha, S., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2007b). Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigments from jackfruit seed. *Bioresource technology*, 98(8), 1554-1560.

- Badia-Olmos, C., Laguna, L., Haros, C. M., & Tárrega, A. (2023). Techno-Functional and Rheological Properties of Alternative Plant-Based Flours. *Foods*, 12(7), 1411.
- Benhabiles, M. S., Abdi, N., Drouiche, N., Lounici, H., Pauss, A., Goosen, M. F. A., & Mameri, N. (2012). Fish protein hydrolysate production from sardine solid waste by crude pepsin enzymatic hydrolysis in a bioreactor coupled to an ultrafiltration unit. *Materials Science and Engineering: C*, 32(4), 922-928.
- Bule, M., Khan, F., & Niaz, K. (2019). Red Yeast Rice (*Monascus purpureus*). In *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements* (pp. 509-515). Academic Press.
- Burke, F. M. (2015). Red yeast rice for the treatment of dyslipidemia. *Current atherosclerosis reports*, 17(4), 22.
- Campos Morales, C. S. (2018). Accesiones de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) ecotipo altiplano en condiciones de costa central.
- Carvalho, J. C., Oishi, B. O., Woiciechowski, A. L., Pandey, A., Babitha, S., & Socco, C. R. (2007). Effect of substrates on the production of *Monascus* biopigments by solid-state fermentation and pigment extraction using different solvents.
- Chamberlain, R., Mangiorou, E., & Fischer, B. (2022). Introducing Fiber-Assisted Colorimetric Measurements as a Quality Control Tool of Hot Melt Extruded Filaments. *Pharmaceutics*, 14(5), 1055.
- Chen, W., He, Y., Zhou, Y., Shao, Y., Feng, Y., Li, M., & Chen, F. (2015). Edible filamentous fungi from the species *Monascus*: early traditional fermentations, modern molecular biology, and future genomics. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5), 555-567
- Chen, X., Yan, J., Chen, J., Gui, R., Wu, Y., & Li, N. (2021). Potato pomace: An efficient resource for *Monascus* pigments production through solid-state fermentation. *Journal of bioscience and bioengineering*, 132(2), 167-173.

- De Carvalho, J. C., Pandey, A., Oishi, B. O., Brand, D., Rodriguez-Léon, J. A., & Soccol, C. R. (2006). Relation between growth, respirometric analysis and biopigments production from *Monascus* by solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 29(3), 262-269.
- De Oliveira, F., Rocha, I. L., Pinto, D. C. G. A., Ventura, S. P., Dos Santos, A. G., Crevelin, E. J., & Ebinuma, V. D. C. S. (2022). Identification of azaphilone derivatives of *Monascus* colorants from *Talaromyces amestolkiae* and their halochromic properties. *Food Chemistry*, 372, 131214.
- Dekkers, E., Raghavan, S., Kristinsson, H. G., & Marshall, M. R. (2011). Oxidative stability of mahi mahi red muscle dipped in tilapia protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 124(2), 640-645.
- Dikshit, R., & Tallapragada, P. (2013). Comparative study of *Monascus sanguineus* and *Monascus purpureus* for red pigment production under stress condition. *International Food Research Journal*, 20(3), 1235.
- Elkhalifa, A. E. O., & Bernhardt, R. (2010). Influence of grain germination on functional properties of sorghum flour. *Food chemistry*, 121(2), 387-392.
- Embaby, A. M., Hussein, M. N., & Hussein, A. (2018). *Monascus* orange and red pigments production by *Monascus purpureus* ATCC16436 through co-solid state fermentation of corn cob and glycerol: An eco-friendly environmental low cost approach. *PLoS One*, 13(12), e0207755.
- Fallah, M., Bahram, S., & Javadian, S. R. (2015). Fish peptone development using enzymatic hydrolysis of silver carp by-products as a nitrogen source in *Staphylococcus aureus* media. *Food Science & Nutrition*, 3(2), 153-157.
- Feng, L. H., Li, Y. Q., Sun, G. J., & Zhao, X. Z. (2019). Antibacterial effect of orange *Monascus* pigment against *Staphylococcus aureus*. *Acta Alimentaria*, 48(2), 169
- Graf, B. L., Rojas-Silva, P., Rojo, L. E., Delatorre-Herrera, J., Baldeón, M. E., & Raskin, I. (2015). Innovations in health value and functional food development of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Comprehensive reviews in food*

science and food safety, 14(4), 431-445.

- Haque, M. A., Kachrimanidou, V., Koutinas, A., & Lin, C. S. K. (2016). Valorization of bakery waste for biocolorant and enzyme production by *Monascus purpureus*. *Journal of biotechnology*, 231, 55-64.
- Harikrishna, N., Mahalakshmi, S., Kiran Kumar, K., & Reddy, G. (2017). Fish scales as potential substrate for production of alkaline protease and amino acid rich aqua hydrolyzate by *Bacillus altitudinis* GVC11. *Indian journal of microbiology*, 57(3), 339-343.
- Higa, Y., Kim, Y. S., Altaf-Ul-Amin, M., Huang, M., Ono, N., & Kanaya, S. (2020). Divergence of metabolites in three phylogenetically close *Monascus* species (*M. pilosus*, *M. ruber*, and *M. purpureus*) based on secondary metabolite biosynthetic gene clusters. *BMC genomics*, 21(1), 1-17.
- Hong, J. L., Wu, L., Lu, J. Q., Zhou, W. B., Cao, Y. J., Lv, W. L., ... & Lv, X. C. (2020). Comparative transcriptomic analysis reveals the regulatory effects of inorganic nitrogen on the biosynthesis of *Monascus* pigments and citrinin. *RSC advances*, 10(9), 5268-5282.
- Hsu, K. C. (2010). Purification of antioxidative peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle by-product. *Food Chemistry*, 122(1), 42-48.
- Husakova, M., Plechata, M., Branska, B., & Patakova, P. (2021). Effect of a *Monascus* sp. Red Yeast Rice Extract on Germination of Bacterial Spores. *Frontiers in Microbiology*, 12, 686100.
- Ihsani, K. (2021). The effect of hydrolyzate on amino acid levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Food Research*, 5(3), 85-89.
- Jarvis, D. E., Ho, Y. S., Lightfoot, D. J., Schmöckel, S. M., Li, B., Borm, T. J., ... & Tester, M. (2017). The genome of *Chenopodium quinoa*. *Nature*, 542(7641), 307-312.
- Jiménez-Gómez, I., Valdés-Muñoz, G., Moreno-Perlin, T., Mouriño-Pérez, R. R., Sánchez-Carbente, M. D. R., Folch-Mallol, J. L., ... & Batista-García, R. A.

- (2020). Haloadaptative responses of *Aspergillus sydowii* to extreme water deprivation: Morphology, compatible solutes, and oxidative stress at NaCl saturation. *Journal of Fungi*, 6(4), 316.
- Ketkaeo, S., Nagano, Y., Baba, S., Kimura, K., Futagami, T., Sanpamongkolchai, W., ... & Goto, M. (2022). Development of *Monascus purpureus* monacolin K-hyperproducing mutant strains by synchrotron light irradiation and their comparative genome analysis. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 133(4), 362-368.
- Kim, K., Choi, B., Lee, I., Lee, H., Kwon, S., Oh, K., & Kim, A. Y. (2011). Bioproduction of mushroom mycelium of *Agaricus bisporus* by commercial submerged fermentation for the production of meat analogue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(9), 1561-1568.
- Kunthakudee, N., Sunsandee, N., Chutvirasakul, B., & Ramakul, P. (2020). Extraction of lycopene from tomato with environmentally benign solvents: Box-Behnken design and optimization. *Chemical Engineering Communications*, 207(4), 574-583.
- Lima, A. G., Dantas, L. A., & Egea, M. B. (2023). Mannitol-Based Media and Static pH Are Efficient Conditions for Red Pigment Production from *Monascus purpureus* ATCC 36928 in Submerged Culture. *Processes*, 11(2), 633.
- Liu, J., Wu, J., Cai, X., Zhang, S., Liang, Y., & Lin, Q. (2021). Regulation of secondary metabolite biosynthesis in *Monascus purpureus* via cofactor metabolic engineering strategies. *Food Microbiology*, 95, 103689.
- Liu, K. H., Ding, X. W., Narsing Rao, M. P., Zhang, B., Zhang, Y. G., Liu, F. H., ... & Li, W. J. (2017). Morphological and transcriptomic analysis reveals the osmoadaptive response of endophytic fungus *Aspergillus montevicensis* ZYD4 to high salt stress. *Frontiers in microbiology*, 8, 1789.
- Ly, B. C. K., Dyer, E. B., Feig, J. L., Chien, A. L., & Del Bino, S. (2020). Research techniques made simple: cutaneous colorimetry: a reliable technique for objective skin color measurement. *Journal of Investigative*

Dermatology, 140(1), 3-12.

- Ma, J., Li, Y., Ye, Q., Li, J., Hua, Y., Ju, D., ... & Chang, M. (2000). Constituents of red yeast rice, a traditional Chinese food and medicine. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(11), 5220-5225.
- Medina, W., Skurtys, O., & Aguilera, J. M. (2010). Study on image analysis application for identification Quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd) geographical provenance. *LWT-Food Science and Technology*, 43(2), 238-246.
- Mohite, P., Kumar, A. R., & Zinjarde, S. (2017). Relationship between salt tolerance and nanoparticle synthesis by *Williopsis saturnus* NCIM 3298. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33, 1-11.
- Monteiro, A. B. P., Prados, C. R. M. G., Silva, M. D. L. R., Silva, E. P., Damiani, C., & Vendruscolo, F. (2021). Production of *Monascus* pigments by solid-state cultivation of wheat grains and application in bread formulations. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 24, 100313.
- Muthezhilan, R., Ragul, R., Pushpam, A. C., Narayanan, R. L., & Hussain, A. J. (2014). Isolation, optimization and extraction of microbial pigments from marine yeast *Rhodotorula* Sp (Amby109) as food colourants. *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, 11, 271-278.
- Nesse, K. O., Nagalakshmi, A. P., Marimuthu, P., Singh, M., Bhetariya, P. J., Ho, M., & Simon, R. R. (2014). Safety evaluation of fish protein hydrolysate supplementation in malnourished children. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 69(1), 1-6.
- Nimnoi, P., & Lumyong, S. (2011). Improving solid-state fermentation of *Monascus purpureus* on agricultural products for pigment production. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 1384-1390.
- Noman, A., Xu, Y., AL-Bukhaiti, W. Q., Abed, S. M., Ali, A. H., Ramadhan, A. H., & Xia, W. (2018). Influence of enzymatic hydrolysis conditions on the degree of hydrolysis and functional properties of protein hydrolysate obtained from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) by using papain enzyme. *Process*

Biochemistry, 67, 19-28.

- Nowak, V., Du, J., & Charrondière, U. R. (2016). Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food chemistry*, 193, 47-54.
- Oosterveer, P. (2008). Governing global fish provisioning: ownership and management of marine resources. *Ocean & Coastal Management*, 51(12), 797-805.
- Pan, T. M., & Hsu, W. H. (2014). *Monascus*-fermented products. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 815-825). *Elsevier Inc.*
- Patakova, P. (2013). *Monascus* secondary metabolites: production and biological activity. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 40(2), 169-181.
- Pedrosa, M. M., Varela, A., Domínguez-Timón, F., Tovar, C. A., Moreno, H. M., Borderías, A. J., & Díaz, M. T. (2020). Comparison of bioactive compounds content and techno-functional properties of pea and bean flours and their protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75, 642-650.
- Pellegrini, M., Lucas-Gonzales, R., Ricci, A., Fontecha, J., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J. A., & Viuda-Martos, M. (2018). Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Industrial crops and products*, 111, 38-46.
- Pereira, E., Encina-Zelada, C., Barros, L., Gonzales-Barron, U., Cadavez, V., & Ferreira, I. C. (2019). Chemical and nutritional characterization of *Chenopodium quinoa* Willd (quinoa) grains: A good alternative to nutritious food. *Food chemistry*, 280, 110-114.
- Pineda, JA; Duarte, AS; Ayala, KB; Soto, CP; Pineda, CA. 2016. Producción de metabolitos por *Monascus* spp.: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(2), 43-52.
- Prego, I., Maldonado, S., & Otegui, M. (1998). Seed structure and localization of

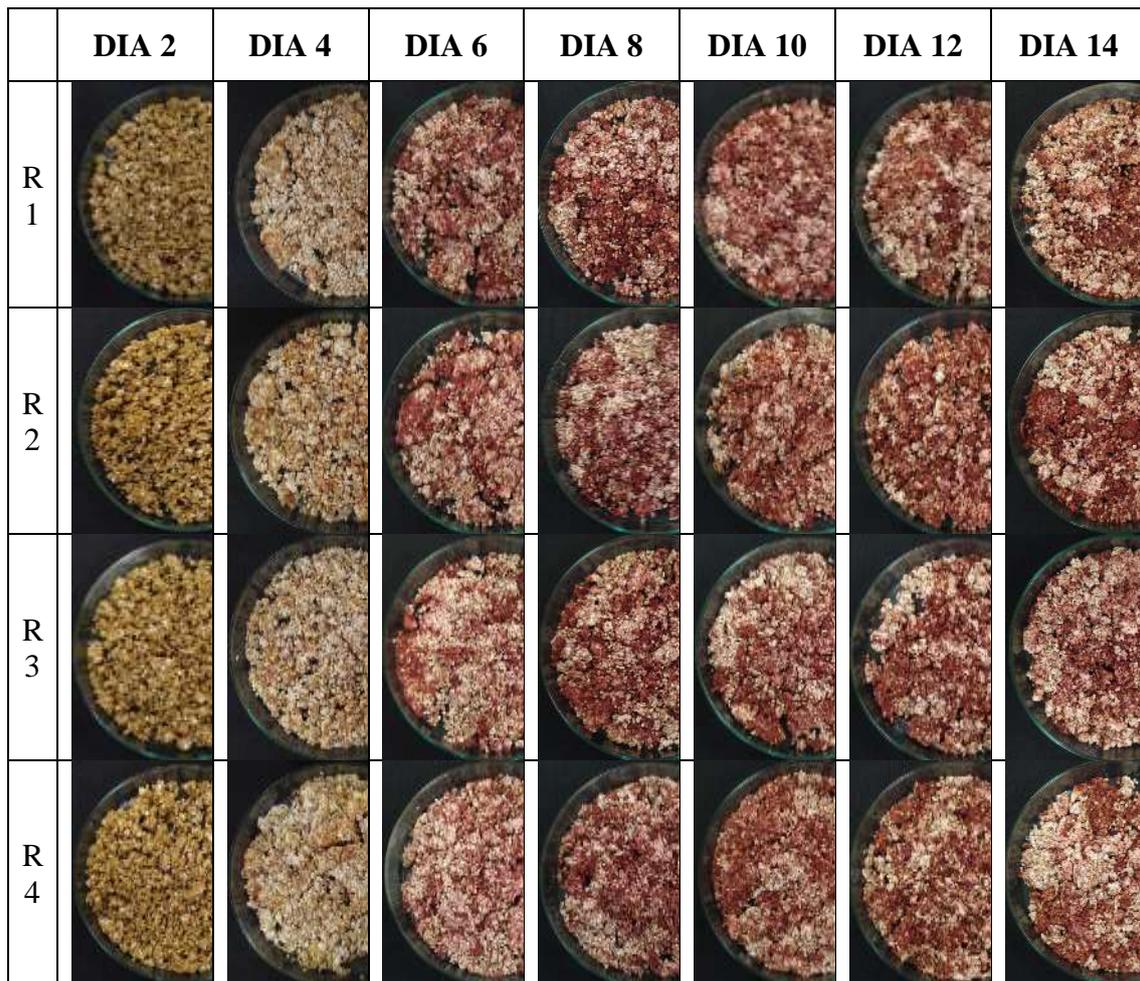
- reserves in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany*, 82(4), 481-488.
- Roslan, J., Yunos, K. F. M., Abdullah, N., & Kamal, S. M. M. (2014). Characterization of fish protein hydrolysate from tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-product. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 312-319
- Ruiz, K. B., Biondi, S., Oses, R., Acuña-Rodríguez, I. S., Antognoni, F., Martínez-Mosqueira, E. A., ... & Molina-Montenegro, M. A. (2014). Quinoa biodiversity and sustainability for food security under climate change. A review. *Agronomy for sustainable development*, 34, 349-359
- Sayyad, S. A., Panda, B. P., Javed, S., & Ali, M. (2007). Optimization of nutrient parameters for lovastatin production by *Monascus purpureus* MTCC 369 under submerged fermentation using response surface methodology. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73, 1054-1058.
- Shao, Y., Lei, M., Mao, Z., Zhou, Y., & Chen, F. (2014). Insights into *Monascus* biology at the genetic level. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(9), 3911-3922.
- Sharma, S., Kataria, A., & Singh, B. (2022). Effect of thermal processing on the bioactive compounds, antioxidative, antinutritional and functional characteristics of quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Lwt*, 160, 113256.
- Slaný, O., Klemková, T., Marcinčák, S., & Čertík, M. (2020). Production of high-value bioproducts enriched with γ -linolenic acid and β -carotene by filamentous fungi *Umbelopsis isabellina* using solid-state fermentations. *Annals of Microbiology*, 70, 1-11.
- Song, Y., Sun, E. T. Z., & Sun, S. C. (1997). Chinese technology in the seventeenth century. Courier Corporation.
- Sotelo-Díaz, L. I., Igual, M., Martínez-Monzó, J., & García-Segovia, P. (2023). Techno-Functional Properties of Corn Flour with Cowpea (*Vigna unguilata*) Powders Obtained by Extrusion. *Foods*, 12(2), 298.
- Srianta, I., Zubaidah, E., Estiasih, T., & Yamada, M. (2016). Comparison of *Monascus*

- purpureus* growth, pigment production and composition on different cereal substrates with solid state fermentation. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 7, 181-186.
- Stikic, R., Glamoclija, D., Demin, M., Vucelic-Radovic, B., Jovanovic, Z., Milojkovic-Opsenica, D., ... & Milovanovic, M. (2012). Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of cereal science*, 55(2), 132-138.
- Takeshita, R., Saigusa, N., & Teramoto, Y. (2016). Production and antioxidant activity of alcoholic beverages made from various cereal grains using *Monascus purpureus* NBRC 5965. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(2), 350-354.
- Tu, C. Y., Chen, Y. P., Yu, M. C., Hwang, E., Wu, D. Y., & Liaw, L. L. (2016). Characterization and expression of the antifungal protein from *Monascus pilosus* and its distribution among various *Monascus* species. *Journal of bioscience and bioengineering*, 122(1), 27-33.
- Tucta-Huillca, F., Quispe-Rivera, E., Silva-Jaimes, M., Cadavez, V., & Gonzales-Barron, U. Optimization of Pigment Extraction from Quinoa Flour Fermented by *Monascus purpureus* Supplemented with Fish Hydrolysate and Sodium Chloride. *In Biology and Life Sciences Forum*. 18(1), 22.
- Vanqa, N., Mshayisa, V. V., & Basitere, M. (2022). Proximate, physicochemical, techno-functional and antioxidant properties of three edible insect (*Gonimbrasia belina*, *Hermetia illucens* and *Macrotermes subhylanus*) flours. *Foods*, 11(7), 976.
- Velázquez Arellano, m. e. (2013). Producción de pigmentos fúngicos (*Monascus purpureus* 2955) en residuos agroindustriales por fermentación sólida (no. sb608. r5. v44 2013.).
- Velázquez, M; Benavente J; Morlett JA; Aguilar C. (2016). Producción de pigmentos por *Monascus* spp. en medio sólido empleando residuos agroindustriales. *Investigación y Ciencia*, 24(69).
- Velmurugan, P., Hur, H., Balachandar, V., Kamala-Kannan, S., Lee, K. J., Lee, S. M.,

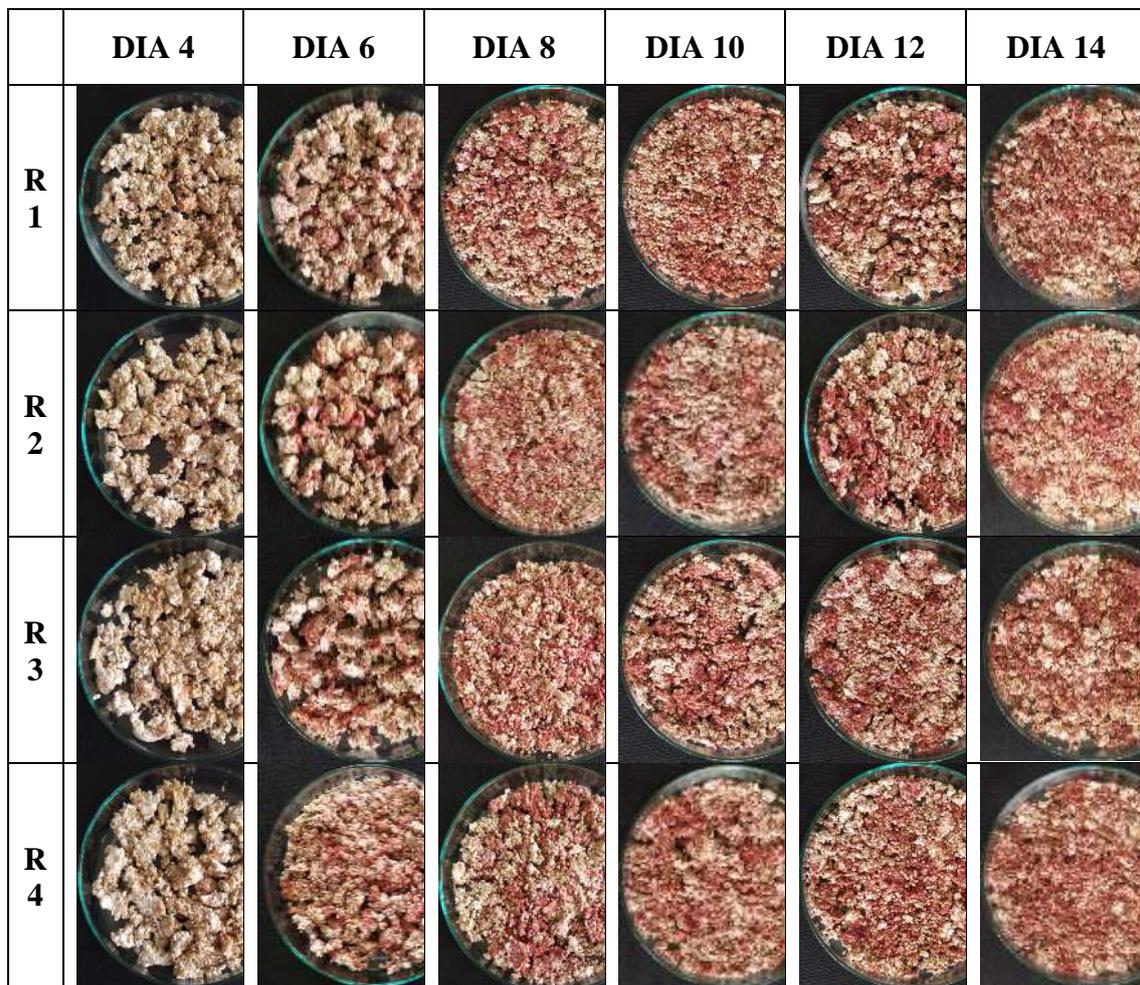
- ... & Oh, B. T. (2011). *Monascus* pigment production by solid-state fermentation with corn cob substrate. *Journal of bioscience and bioengineering*, 112(6), 590-594
- Vendruscolo, F., Bühler, R. M. M., de Carvalho, J. C., de Oliveira, D., Moritz, D. E., Schmidell, W., & Ninow, J. L. (2016). *Monascus*: A Reality on the Production and Application of Microbial Pigments. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(2), 211-223.
- Vilcacundo, R., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Current Opinion in Food Science*, 14, 1-6.
- Wu, H. C., Chen, Y. F., Cheng, M. J., Wu, M. D., Chen, Y. L., & Chang, H. S. (2021). Investigations into Chemical Components from *Monascus purpureus* with Photoprotective and Anti-Melanogenic Activities. *Journal of Fungi*, 7(8), 619.
- Wu, H. C., Cheng, M. J., Wu, M. D., Chen, J. J., Chen, Y. L., & Chang, H. S. (2019). Three new constituents from the fungus of *Monascus purpureus* and their antiinflammatory activity. *Phytochemistry Letters*, 31, 242-248.
- Yang, J., Chen, Q., Wang, W., Hu, J., & Hu, C. (2015). Effect of oxygen supply on *Monascus* pigments and citrinin production in submerged fermentation. *Journal of bioscience and bioengineering*, 119(5), 564-569.
- Yathisha, U. G., Vaidya, S., & Sheshappa, M. B. (2022). Functional Properties of Protein Hydrolyzate from Ribbon Fish (*Lepturacanthus savala*) as Prepared by Enzymatic hydrolysis. *International Journal of Food Properties*, 25(1), 187-203.
- Zhen, Z., Xiong, X., Liu, Y., Zhang, J., Wang, S., Li, L., & Gao, M. (2019). NaCl inhibits citrinin and stimulates *Monascus* pigments and monacolin K production. *Toxins*, 11(2), 118.

VIII. ANEXOS

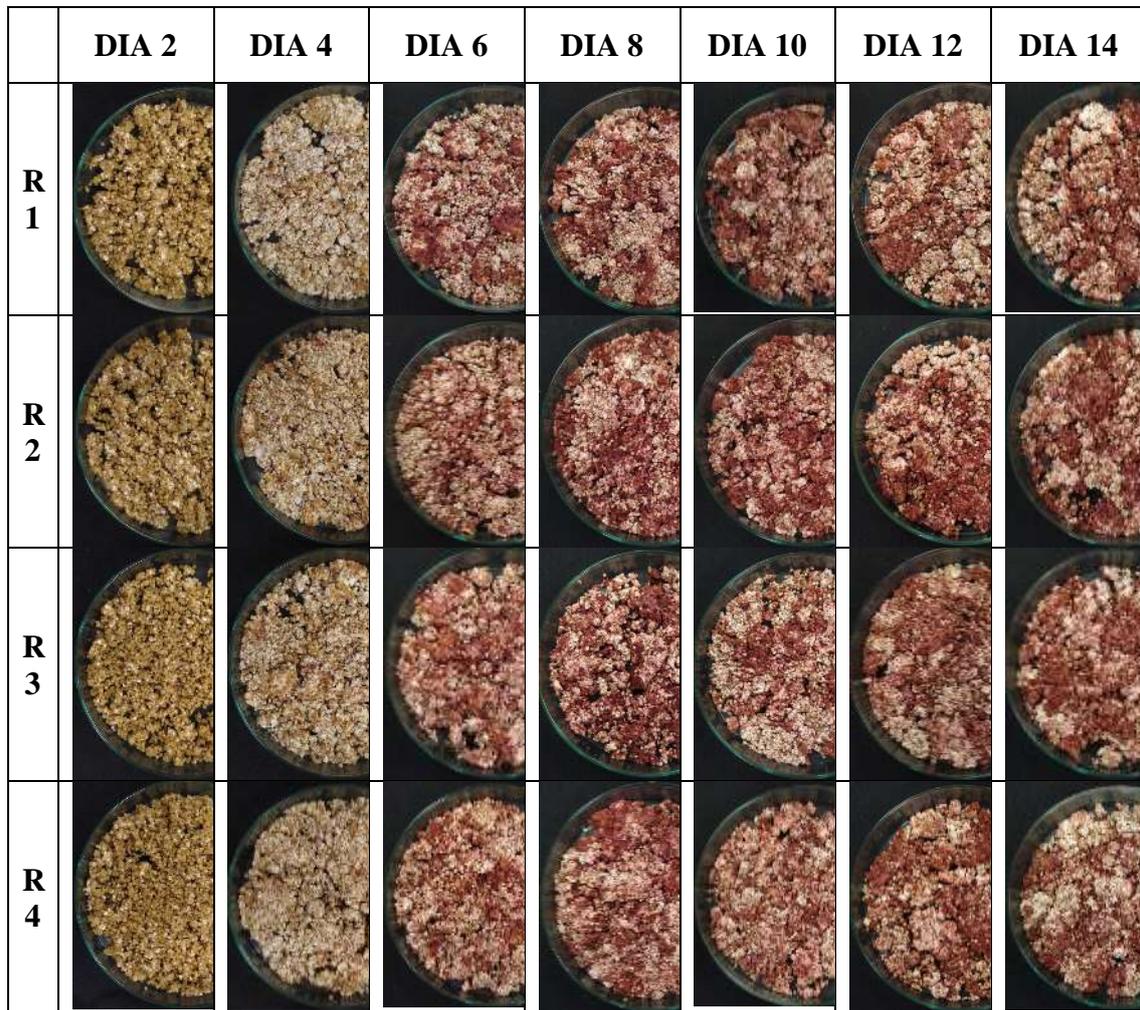
Anexo 1. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua adicionado 0.05% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.



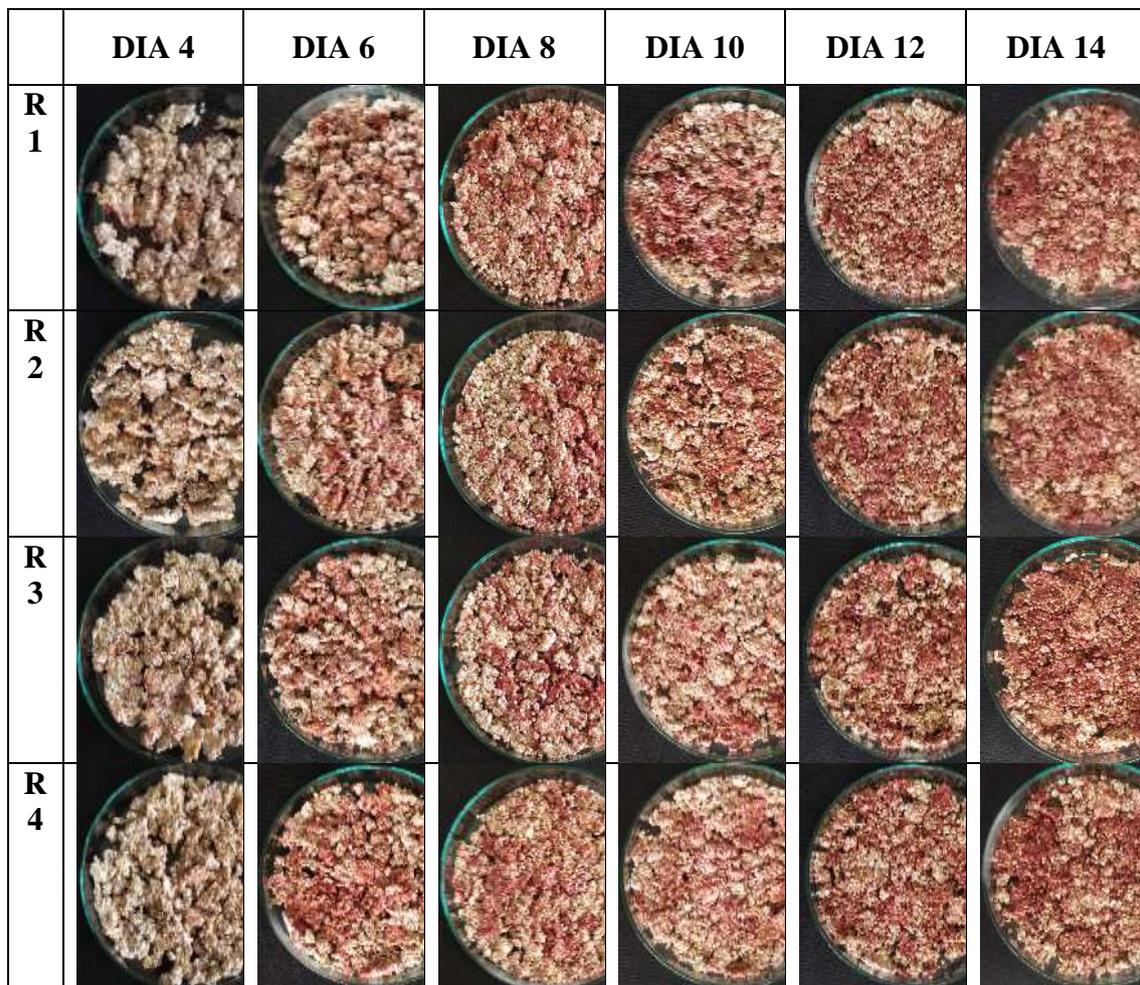
Anexo 2. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua adicionado 0.1% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.



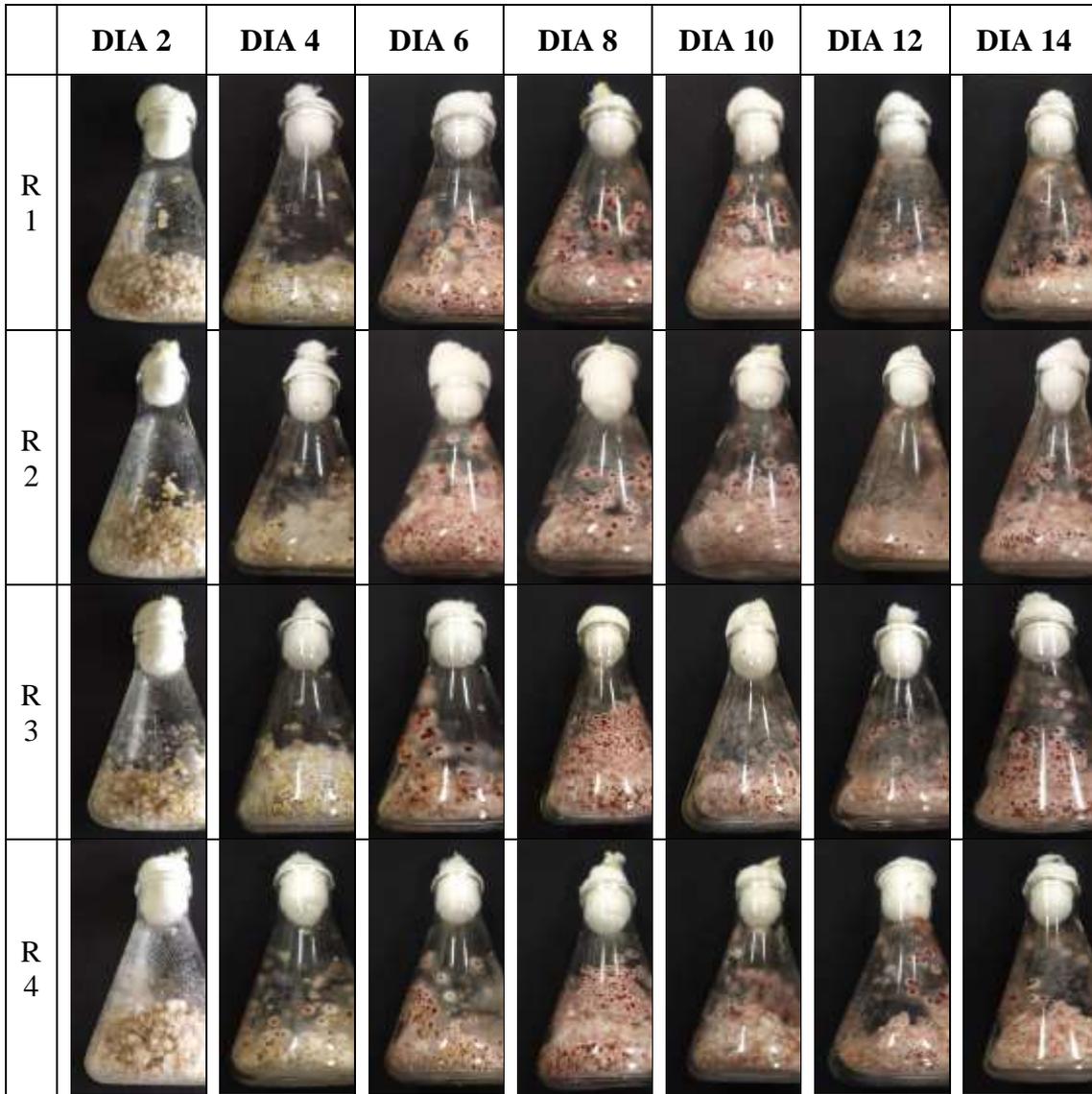
Anexo 3. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua adicionado 0.2% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.



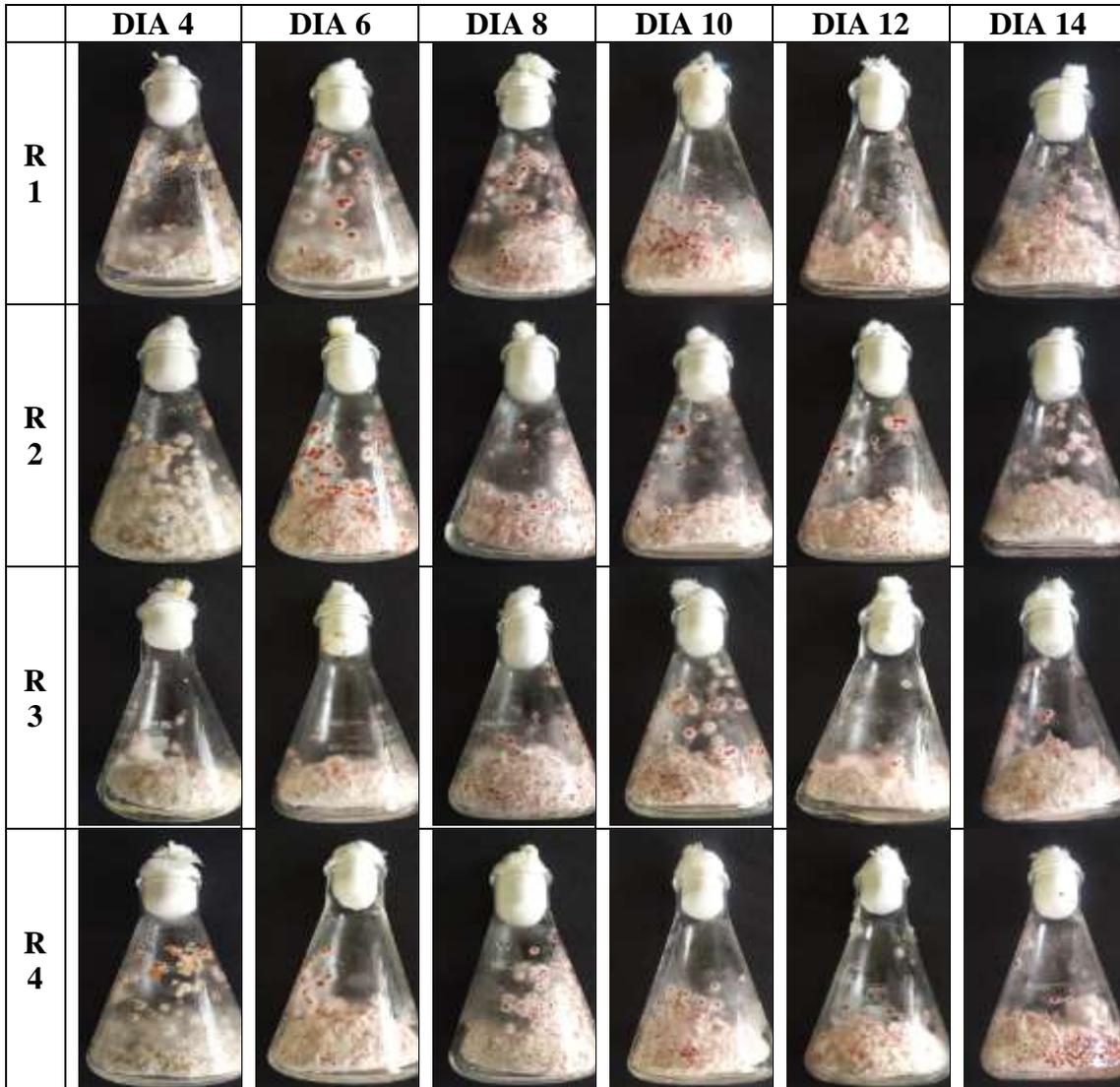
Anexo 4. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua adicionado 0.4% de cloruro de sodio durante un periodo de incubación de 14 días.



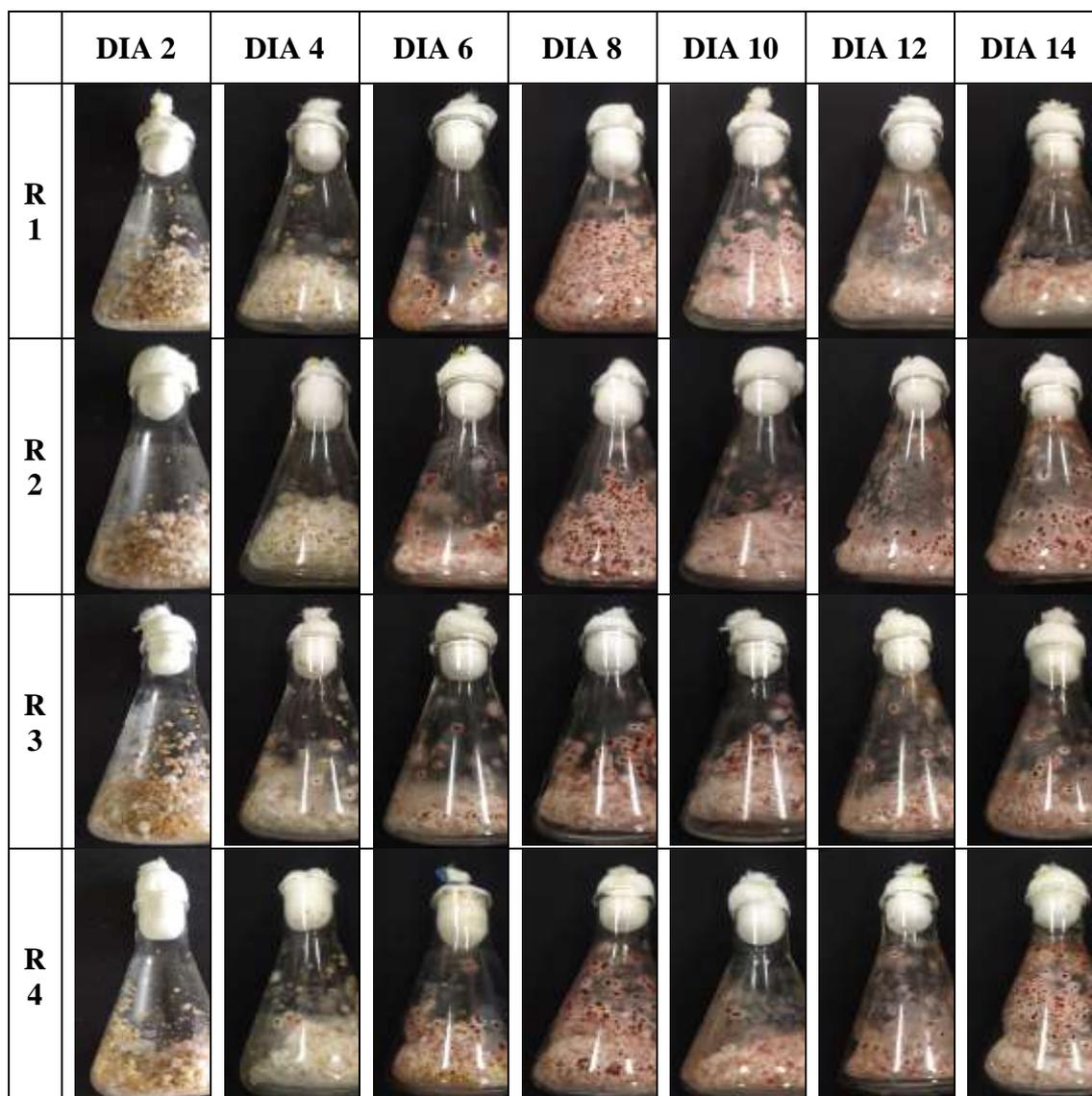
Anexo 5. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.05% en matraces de 250 mL.



Anexo 6. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.1% en matraces de 250 mL.



Anexo 7. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.2% en matraces de 250 mL.



Anexo 8. Fermentación de *Monascus purpureus* en granos de quinua durante un periodo de incubación de 14 días con cloruro de sodio al 0.4% en matraces de 250 mL.

	DIA 4	DIA 6	DIA 8	DIA 10	DIA 12	DIA 14
R 1						
R 2						
R 3						
R 4						

Anexo 9. Análisis estadístico de la optimización de L*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	-51.39	11.82779	-4.3449	0.0001252	***
pH	20.35292	3.67801	5.5337	3.82E-06	***
Sal	507.05833	42.12329	12.0375	1.28E-13	***
FN	34.21667	2.68057	12.7647	2.59E-14	***
I(pH^2)	-1.63833	0.30274	-5.4117	5.47E-06	***
I(Sal^2)	-1433.33333	121.09594	-11.8363	2.02E-13	***
I(FN^2)	-11.73	1.21096	-9.6865	3.57E-11	***
pH:Sal	-12.4	5.41557	-2.2897	0.0285685	*
Sal:FN	-85.43333	10.83115	-7.8877	4.29E-09	***
Multiple R-squared: 0.9442			Adjusted R-squared: 0.9307		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(pH, Sal, FN)	3	256.615	85.538	97.2188	< 2.2e-16
I(pH^2)	1	3.138	3.138	3.5667	0.06776
I(Sal^2)	1	89.81	89.81	102.0739	1.25E-11
I(FN^2)	1	82.556	82.556	93.829	3.57E-11
pH:Sal	1	4.613	4.613	5.2427	0.02857
Sal:FN	1	54.741	54.741	62.2165	4.29E-09
Residuals	33	29.035	0.88		
Lack of fit	4	17.465	4.366	10.9438	1.56E-05
Pure error	29	11.57	0.399		

Anexo 10. Análisis estadístico de la optimización de a*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	2.05044	5.13197	0.3995	0.6919923	
pH	8.42434	1.69832	4.9604	1.93E-05	***
FN	3.80289	1.24324	3.0589	0.0043129	**
I(Sa1^2)	181.5551	46.97772	3.8647	0.0004764	***
I(pH^2)	-0.60789	0.14259	-4.2632	0.0001514	***
I(FN^2)	-4.45822	0.57036	-7.8165	4.26E-09	***
Sa1:pH	-13.94669	1.63404	-8.5351	5.71E-10	***
Sa1:FN	27.76887	4.96288	5.5953	2.89E-06	***
Multiple R-squared: 0.9291			Adjusted R-squared: 0.9145		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(pH, FN)	2	34.445	17.2227	87.0696	4.20E-14
I(Sa1^2)	1	18.959	18.9592	95.8482	2.00E-11
I(pH^2)	1	2.939	2.9387	14.8568	0.0004904
I(FN^2)	1	15.632	15.6322	79.0289	2.17E-10
Sa1:pH	1	10.001	10.0006	50.5581	3.24E-08
Sa1:FN	1	6.193	6.1928	31.3076	2.89E-06
Residuals	34	6.725	0.1978		
Lack of fit	4	1.864	0.4661	2.8767	0.0395849
Pure error	30	4.861	0.162		

Anexo 11. Análisis estadístico de la optimización de b*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	-29.13167	4.38209	-6.6479	1.452e-07	***
pH	12.09708	1.33336	9.0726	1.747e-10	***
Sal	62.28333	14.59979	4.2660	0.0001572	***
FN	12.92750	1.45998	8.8546	3.106e-10	***
I(pH ²)	-0.87792	0.10858	-8.0855	2.483e-09	***
I(Sal ²)	-100.83333	43.43175	-2.3216	0.0265707	*
I(FN ²)	-2.45167	0.43432	-5.6449	2.748e-06	***
pH:Sal	-5.86667	1.94233	-3.0204	0.0048455	**
pH:FN	-1.36167	0.19423	-7.0105	5.101e-08	***
Multiple R-squared: 0.9291		Adjusted R-squared: 0.9145			

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(pH, Sal, FN)	3	6.5786	2.1929	19.3751	2.00E-07
I(pH ²)	1	5.5377	5.5377	48.9288	5.33E-08
I(Sal ²)	1	0.1677	0.1677	1.4817	0.232135
I(FN ²)	1	3.6064	3.6064	31.8646	2.75E-06
pH:Sal	1	1.0325	1.0325	9.123	0.004845
pH:FN	1	5.5624	5.5624	49.147	5.10E-08
Residuals	33	3.7349	0.1132		
Lack of fit	4	1.4461	0.3615	4.5806	0.005455
Pure error	29	2.2888	0.0789		

Anexo 12. Análisis estadístico de la optimización de C*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	-10.90008	5.57937	-1.9536	0.059264	.
pH	13.07011	1.78851	7.3078	2.18E-08	***
FN	10.60258	2.06142	5.1433	1.21E-05	***
I(Sa1^2)	160.80303	48.91646	3.2873	0.002406	**
I(pH^2)	-0.94693	0.14848	-6.3777	3.19E-07	***
I(FN^2)	-4.95773	0.5939	-8.3477	1.21E-09	***
Sa1:pH	-12.16515	1.70147	-7.1498	3.42E-08	***
Sa1:FN	26.94545	5.16769	5.2142	9.81E-06	***
pH:FN	-0.91333	0.26737	-3.4159	0.001703	**
Multiple R-squared: 0.919			Adjusted R-squared: 0.8994		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(pH, FN)	2	30.7106	15.3553	71.597	9.92E-13
I(Sa1^2)	1	8.7582	8.7582	40.837	3.07E-07
I(pH^2)	1	7.1286	7.1286	33.239	1.93E-06
I(FN^2)	1	18.2534	18.2534	85.11	1.17E-10
Sa1:pH	1	7.1569	7.1569	33.371	1.86E-06
Sa1:FN	1	5.8309	5.8309	27.188	9.81E-06
pH:FN	1	2.5025	2.5025	11.669	0.001703
Residuals	33	7.0774	0.2145		
Lack of fit	3	1.7977	0.5992	3.405	0.030206
Pure error	30	5.2797	0.176		

Anexo 13. Análisis estadístico de la optimización de h°

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	-23.01067	7.19673	-3.1974	0.002995	**
pH	12.79758	2.28993	5.5886	2.95E-06	***
FN	17	2.1889	7.7665	4.90E-09	***
Sal	120.445	16.74448	7.1931	2.55E-08	***
I(Sal^2)	-336.6	75.35604	-4.4668	8.34E-05	***
I(pH^2)	-0.92317	0.18839	-4.9003	2.31E-05	***
pH:FN	-2.11	0.34395	-6.1346	5.76E-07	***
FN:Sal	-23.4	6.87903	-3.4016	0.001729	**
Multiple R-squared: 0.9024			Adjusted R-squared: 0.8823		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(pH, FN, Sal)	3	80.673	26.8909	75.769	3.91E-15
I(Sal^2)	1	4.864	4.8636	13.704	0.0007542
I(pH^2)	1	8.522	8.5224	24.013	2.31E-05
pH:FN	1	13.356	13.3563	37.633	5.76E-07
FN:Sal	1	4.107	4.1067	11.571	0.0017288
Residuals	34	12.067	0.3549		
Lack of fit	5	5.051	1.0101	4.175	0.0055861
Pure error	29	7.016	0.2419		

Anexo 14. Análisis estadístico de la proteína de la harina fermentada y no fermentada

Tabla ANOVA para Proteína por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	371.906	1	371.906	2504.14	0.0000
Intra grupos	0.594067	4	0.148517		
Total (Corr.)	372.5	5			

Con un $p < 0.05$, inca que las medias de las Proteínas son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	12.2511	a
Harina fermentada	3	27.9972	B

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	15.746	0.87364

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 15. Análisis estadístico de la ceniza de la harina fermentada y no fermentada

Tabla ANOVA para Ceniza por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	10.9193	1	10.9193	117.43	0.0004
Intra grupos	0.371933	4	0.0929832		
Total (Corr.)	11.2913	5			

Con un $p < 0.05$, inca que las medias de las Ceniza son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para Ceniza por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	1.75287	a
Harina fermentada	3	4.45093	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	2.69807	0.691269

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 16. Análisis estadístico de la grasa de la harina fermentada y no fermentada

Tabla ANOVA para Grasa por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	13.0387	1	13.0387	23.38	0.0084
Intra grupos	2.23027	4	0.557568		
Total (Corr.)	15.269	5			

Con un $p < 0.05$, inca que las medias de las Grasa son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para Grasa por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	4.5025	a
Harina fermentada	3	7.4508	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	2.9483	1.69275

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 17. Análisis estadístico de carbohidratos de la harina fermentada y no fermentada

Tabla ANOVA para Carbohidrato por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	891.511	1	891.511	825.20	0.0000
Intra grupos	4.32144	4	1.08036		
Total (Corr.)	895.832	5			

Con un $p < 0.05$, inca que las medias de las Carbohidrato son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para Carbohidrato por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina fermentada	3	54.4216	a
Harina sin fermentar	3	78.8007	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-24.3791	2.35629

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 18. Análisis estadístico de la humedad de la harina fermentada y no fermentada

Resumen Estadístico para Humedad

<i>Muestra</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>
Harina fermentada	3	5.6795	0.667129	11.7463%	5.0385
Harina sin fermentar	3	2.69283	0.494551	18.3655%	2.1547
Total	6	4.18617	1.71811	41.0426%	2.1547

<i>Muestra</i>	<i>Máximo</i>	<i>Rango</i>	<i>Sesgo Estandarizado</i>	<i>Curtosis Estandarizada</i>
Harina fermentada	6.37	1.3315	0.234799	
Harina sin fermentar	3.1274	0.9727	-0.637133	
Total	6.37	4.2153	0.105844	-1.1313

Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	2.69283	a
Harina fermentada	3	5.6795	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	2.98667	1.33119

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 19. Análisis estadístico de la materia seca de la harina fermentada y no fermentada

Tabla ANOVA para Materia Seca por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	13.3803	1	13.3803	38.80	0.0034
Intra grupos	1.37928	4	0.344821		
Total (Corr.)	14.7595	5			

Con un $p < 0.05$, inica que las medias de las Materia Seca son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para Materia Seca por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina fermentada	3	94.3205	a
Harina sin fermentar	3	97.3072	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-2.98667	1.33119

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 20. Análisis estadístico de la capacidad de retención de agua (CRA) para la harina fermentada y no fermentada

ANOVA de la CRA (g/g) por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2.7744	1	2.7744	1387.20	0.0000
Intra grupos	0.008	4	0.002		
Total (Corr.)	2.7824	5			

Con un $p < 0.05$, inica que las medias de las CRA (g/g) son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para CRA (g/g) por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	1.03	a
Harina fermentada	3	2.39	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	1.36	0.101382

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 21. Análisis estadístico de la capacidad de absorción de aceite (CAA) para la harina fermentada y no fermentada

ANOVA de la CAA (g/g) por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.00426667	1	0.00426667	12.80	0.0232
Intra grupos	0.00133333	4	0.000333333		
Total (Corr.)	0.0056	5			

Con un $p < 0.05$, inica que las medias de las CAA (g/g) son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para CAA (g/g) por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	1.07333	a
Harina fermentada	3	1.12667	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	0.0533333	0.0413889

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 22. Análisis estadístico de la actividad emulsionante (AE) de aceite para la harina fermentada y no fermentada

ANOVA de la AE (%) por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	5.35815	1	5.35815	32.90	0.0046
Intra grupos	0.6514	4	0.16285		
Total (Corr.)	6.00955	5			

Con un $p < 0.05$, inica que las medias de las AE son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para AE (%) por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	58.22	a
Harina fermentada	3	60.11	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	1.89	0.914826

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 23. Análisis estadístico de la estabilidad emulsionante (EE) de aceite para la harina fermentada y no fermentada

ANOVA de la EE (%) por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0.851267	1	0.851267	0.46	0.5359
Intra grupos	7.44227	4	1.86057		
Total (Corr.)	8.29353	5			

Con un $p < 0.05$, inca que las medias de las EE (%) son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para EE (%) por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina sin fermentar	3	55.72	a
Harina fermentada	3	56.4733	a

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar		0.753333	3.0922

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 24. Análisis estadístico de la capacidad de formación de espuma (CFE) de aceite para la harina fermentada y no fermentada

ANOVA de la CFE (%) por Muestra

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	192.667	1	192.667	52.55	0.0019
Intra grupos	14.6667	4	3.66667		
Total (Corr.)	207.333	5			

Con un $p < 0.05$, inca que las medias de las CFE son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para CFE (%) por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina fermentada	3	2.0	a
Harina sin fermentar	3	13.3333	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-11.3333	4.34091

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa

Anexo 25. Análisis estadístico de la estabilidad de la espuma (EEp) de aceite para la harina fermentada y no fermentada

Resumen Estadístico para EEp (%)

<i>Muestra</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coefficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>
Harina fermentada	3	57.4367	8.47899	14.7623%	50.0
Harina sin fermentar	3	79.05	7.61189	9.62921%	72.73
Total	6	68.2433	13.8591	20.3083%	50.0

<i>Muestra</i>	<i>Máximo</i>	<i>Rango</i>	<i>Sesgo Estandarizado</i>	<i>Curtosis Estandarizada</i>
Harina fermentada	66.67	16.67	0.643976	
Harina sin fermentar	87.5	14.77	0.820678	
Total	87.5	37.5	-0.0217859	-0.472569

El StatAdvisor

Con un $p < 0.05$, inca que las medias de las EEp son estadísticamente significativas. Con 95% de confianza

Pruebas de Múltiple Rangos para EEp (%) por Muestra

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Tratamiento</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina fermentada	3	57.4367	a
Harina sin fermentar	3	79.05	b

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-21.6133	18.2652

El (*) está indicando la existencia de diferencia significativa